

ELIF ULU

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ İSTANBUL-2020

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MEME KANSERİNDE PI3KCA GEN VARYASYONUNUN
VE PI3K SERUM DÜZEYİNİN İNCELENMESİ**

ELİF ULU

**DANIŞMAN
DOÇ.DR.CANAN CACINA**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİMDALİ
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

ELİF ULU



İTHAF

Kıymetli merhum dedem ALİ ÇETİN ULU'ya ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde danışmanlığımı üstlenen ve benden desteğini, tecrübesini ve değerli zamanını esirgemeyen, deneysel çalışmalarımı yapabilmem için gereken tüm laboratuvar olanaklarını sağlayan, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Moleküler Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın hocam Doç. Dr. Canan Cacına'ya,

Tezim için ihtiyaç duyulan örneklerin toplanmasındaki katkılarından dolayı Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İlhan Yaylım'a, tezimdeki örneklerin sağlanması ile klinik değerlendirmelerindeki destek ve katkılarından dolayı Doç. Dr. Soykan Arıkan'a ve tüm Moleküler Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine ve çalışanlarına,

Çalışmam boyunca fikirlerine danıştığım ve her daim yardımcı olan arkadaşlarım Ülgen Sever ve Şeyma Yılmaz Küpoğlu'na,

Öğrenim hayatım süresince maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen ve yardımcı olan ailemin biricik üyelerine başta canım annem ve babam olmak üzere kardeşlerime can-ı gönülden teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-35782

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	Xİ
ABSTRACT	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanser	3
2.2. Meme Kanseri ve Epidemiyolojisi.....	3
2.2.1. Etiyolojisi	5
2.2.1.1. Genetik risk faktörleri	5
2.2.1.2. Genetik olmayan risk faktörleri.....	8
2.2.2. Evreleme ve Sınıflandırılması.....	10
2.2.3. Moleküler ve Genetik Mekanizmalar.....	14
2.3. PI3K	14
2.3.1. PI3K Sınıfları	16
2.3.1.1. PI3K Sınıf I	16
2.3.1.2. PI3K Sınıf II	18
2.3.1.3. PI3K Sınıf III.....	18
2.3.2. PI3K Sinyali	19
2.3.3. Meme Kanserinde PI3K Arttırıcı Mekanizmalar	21
2.3.3.1. PIK3CA Mutasyonları.....	21
2.3.3.2. PIK3CA Amplifikasyonu	22
2.3.3.3. PIK3R1 Mutasyonu/Düşük Ekspresyonu.....	22
2.3.3.4. HER2 Amplifikasyonu	22
2.3.3.5. PTEN Kaybı veya İnaktivasyonu	23

2.3.3.6. AKT1 Mutasyonu.....	23
2.4. PIK3CA (C>A; rs6443624) Gen Polimorfizmi	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı	24
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	24
3.3. Kullanılan Gereçler	25
3.4. Kullanılan Çözeltiler	25
3.4.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler	25
3.4.1.1. 0,5 M Disodyum Etilendiaminteraasetat (EDTA) (pH 8,0)	25
3.4.1.2. 1 M Tris Tamponu (Stok).....	26
3.4.1.3. 4 M Sodyum Klorür (NaCl)	26
3.4.1.4. 9,5 M Amonyum Asetat	26
3.4.1.5. %10'luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS).....	26
3.4.1.6. Eritrosit Parçalama Tamponu (Lysis Buffer)	26
3.4.1.7. Lökositleri Parçalama Tamponu (White Blood Cell Buffer-WBL)	27
3.4.1.8. Proteinaz K (20 mg/ml)	27
3.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonunda (Polymerase Chain Reaction-PCR) Kullanılan Kimyasal Maddeler	27
3.4.2.1. DNA Taq polimeraz enzimi (5U/µl) (i-Taq DNA Polymerase).....	27
3.4.2.2. İleri ve Geri Primer Stok Hazırlanışı.....	27
3.4.3. Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Çözeltiler	27
3.4.3.1. 1X Tris-Asetat-Etilendiamintetraasetat (TAE) Tamponu	27
3.4.3.2. %2'lik Agaroz Jel Hazırlanması.....	27
3.4.3.3. Etidyum Bromür (10 mg/ml).....	28
3.4.3.4. Yükleme Tamponu (Loading Buffer) (6X)	28
3.5. Kullanılan Yöntemler	28
3.5.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	28
3.5.1.1. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini	28
3.5.2. PIK3CA Gen Polimorfizminin Tespit Edilmesi.....	29
3.5.2.1. PIK3CA (C>A) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Primer Dizileri	29
3.5.2.2. PZR Karışımının Hazırlanışı	29
3.5.2.3. PZR Şartları.....	30

3.5.2.4. PZR Ürünlerinin %2'lik Jele Yüklenmesi.....	30
3.5.2.5. PZR Ürünlerinin Kontrolü.....	30
3.5.3. PIK3CA (C>A) Gen Polimorfizmi Enzim Kesimi	31
3.5.3.1. PIK3CA (C>A) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler	31
3.5.3.2. PIK3CA (C>A) Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi ve Kontrolü	31
3.5.3.3. PIK3CA (C>A) Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi.....	31
3.5.4. Serum PI3K Düzeyinin ELISA Yöntemi İle Tayini	32
3.5.4.1. Reaktif Hazırlama ve Depolama	33
3.5.4.2. Yöntemin Uygulanışı	34
3.5.4.3. Standart Sonuçlarının Değerlendirilmesi	35
3.5.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. PIK3CA (C>A) PZR Ürünlerine Ait Bulgular.....	36
4.2. PIK3CA (C>A) Kesim Ürünlerine Ait Bulgular	36
4.3. İstatiksel Analiz Sonrasında Elde Edilen Bulgular	37
5. TARTIŞMA	44
KAYNAKLAR	49
HAM VERİLER	60
FORMLAR	76
ETİK KURUL KARARI	80
PATENT HAKKI İZİNİ	82
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	83
ÖZGEÇMİŞ	84

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: AJCC 7.evreleme sistemi.....	11
Tablo 2-2: PI3K alt sınıflarının isimlendirilmesi.....	16
Tablo 3-1: Deneyde kullanılan kimyasal maddeler.....	24
Tablo 3-2: Deneyde kullanılan gereçler.....	25
Tablo 3-3: PZR karışımının hazırlanması.....	29
Tablo 3-4: PIK3CA (C>A) gen polimorfizmi PZR koşulları.....	30
Tablo 3-5: PIK3CA (C>A) gen polimorfizmi kesiminde kullanılan malzemeler.....	31
Tablo 3-6: Sağlanan reaktifler.....	32
Tablo 3-7: Standartların seyreltilmesi.....	33
Tablo 3-8: Standartların optik yoğunluk değerleri.....	35
Tablo 4-1: Çalışma gruplarına ait veriler.....	37
Tablo 4-2: Meme kanserli hastalarda PIK3CA (C>A) gen polimorfizmlerine ait genotip ve allel dağılımları.....	37
Tablo 4-3: PIK3CA C>A gen polimorfizmi ile hastaların klinik, prognostik parametrelerinin değerlendirilmesi.....	38
Tablo 4-4: PIK3CA C>A gen polimorfizmi ve genotip dağılımlarının hastaların klinik, prognostik parametreleri ile değerlendirilmesi.....	40
Tablo 4-5: Meme kanserli hasta ve kontrol gruplarında PIK3CA C>A polimorfizmi allel dağılımı ve hastaların klinik, prognostik parametrelerinin değerlendirilmesi.....	42
Tablo 4-6: Meme kanserli hasta ve kontrol grubunda serum PI3K düzeyleri (ng/ml)...	43
Tablo 4-7: Meme kanserli hasta ve kontrol gruplarında PIK3CA C>A polimorfizmi allel dağılımı ve serum PI3K düzeyleri (ng/ml)	43

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Meme kanserinin anatomik ve histolojik kökenleri.....	4
Şekil 2-2: Dünyadaki ilk 10 kanserin insidansı ve ölüm oranları.....	5
Şekil 2-3: Meme kanserinden sorumlu bazı yolaklar.....	14
Şekil 2-4: PI3K/AKT/mTOR yolunun şematik gösterimi.....	15
Şekil 2-5: Fosfoinozitol 3-kinaz (PI3K) ailesinin üyeleri.....	19
Şekil 2-6: PI3K sinyal yolağı.....	20
Şekil 2-7: Normal ve kanser hücrelerinde p110 α ve p110 β proteinlerinin lokalizasyonunun gösterimi.....	22
Şekil 4-1: PIK3CA (C>A) PZR ürün bulgularının %2'lik agaroz jel görüntüleri.....	36
Şekil 4-2: PIK3CA (C>A) kesimlerine ait bulguların %2'lik agaroz jel görüntüleri.....	36

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- AKT: Protein kinaz B (Serin/treonin kinaz)
- AKT1: Serin/treonin kinaz 1
- AR: Androjen reseptör
- BRK: Meme tümör kinaz
- CCND1: Siklin D1
- CDK: Siklin bağımlı kinaz
- CDK4: Siklin bağımlı kinaz 4
- CDK6: Siklin bağımlı kinaz 6
- CHEK2: Kontrol noktası kinaz 2
- CI: Güvenirlilik aralığı
- EGF: Epidermal büyüme faktörü
- ELISA: Enzim bağı immunosorbent assay
- ER: Östrojen reseptörü
- ER+: Östrojen reseptör pozitif
- ESR1: Östrojen reseptör 1
- GPCR: G proteinine bağı reseptör
- HER2: İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2
- hTERT: İnsan telomeraz revers transkriptaz
- IGF1R: İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 reseptörü
- IKBKB: Nüklear faktör kappa B kinaz alt birim beta inhibitörü
- JNK: C-Jun N-terminal kinaz
- MAPK: Mitojenle aktifleştirilen protein kinaz
- MTA1: Metastazla ilişkili protein 1
- mTOR: Memeli rapamisin hedefi

mTORC1: mTOR/Raptor kompleksi 1
mTORC2: mTOR/Rictor kompleksi 2
NF κ B1: Nüklear faktör kappa B 1
NF κ B1A: Nüklear faktör kappa B 1 A
OR: Risk kat sayısı
PDK1: 3-fosfoinositid bağımlı protein kinaz 1
PDK2: 3-fosfoinositid bağımlı protein kinaz 2
PEG10: Paternal ifade edilen gen 10
PGR: Progesteron reseptör
PI3K: Fosfoinozitol 3-kinaz
PIK3CA: Fosfoinozitol 3-kinaz katalitik alt birim alfa
PRKAA1: 5'-AMP ile aktive edilen protein kinaz katalitik alt birim alfa 1
PRKAG2: 5'-AMP ile aktive edilen protein kinaz alt birim gamma 2
PTEN: Kromozom 10'dan silinen fosfataz ve tensin homoloğu
PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu
RB1: Retinoblastoma 1
RPS6KA2: Ribozomal protein S6 kinaz alfa 2
RTK: Reseptör tirozin kinaz
SHH: Sonic Hedgehog yolu
STK11: Serin/treonin kinaz 11
TGF-a/TGF- α : Dönüştürücü büyüme faktörü alfa
TSC1: TSC kompleks alt ünite 1
TSC2: TSC kompleks alt ünite 2

ÖZET

Ulu E. Meme Kanserinde PIK3CA Gen Varyasyonunun ve PI3K Serum Düzeyinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2020.

Meme kanseri, kadınlar arasında yaygın görülen bir kanser türü olup genetik, çevresel veya hormonal çeşitli etkilerin sonucu olarak gelişmektedir. Meme kanserinde önemli rol oynayan pek çok sinyal yolağı vardır. Bunlardan insan malignitelerinde yoğun bir şekilde araştırılan PI3K (Fosfatidilinozitol 3-kinaz) sinyal yolağı; hücre çoğalması ve anjiyogenezi tetikleyerek tümör oluşumu ve kanser gelişiminde önemli bir role sahiptir. PI3K ailesi alt sınıfından p110 α 'yı üreten PIK3CA, diğer izoformlara göre kanserde daha fazla mutasyona uğramaktadır. İnsan popülasyonlarında sıklıkla görülen tek nükleotid polimorfizmler (SNP'ler) ise, protein yapısını veya fonksiyonunu değiştirerek kansere ve birçok hastalığa karşı yatkınlığı etkileyebilmektedir. Çalışmamızda, PIK3CA; C>A gen varyasyonu ve PI3K serum düzeyleri ile meme kanseri riski ve klinik, prognostik parametrelerle olası ilişkilerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Araştırmamız sonucunda, meme kanserli hastalar ile sağlıklı bireyler arasında ilgili polimorfizmde genotip ve allel dağılımları açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,005$). PIK3CA; C>A gen varyasyonu genotip ve allel dağılımlarına göre; klinik ve prognostik ile birlikte değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir veri saptanmamıştır. PI3K serum düzeyleri meme kanserli hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek oranda gözlenmiş olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,033$). Ancak PI3K serum düzeyleri ile PIK3CA; C>A genotip ve allel dağılımları, klinik ve prognostik parametreler açısından anlamlı bir bulguya rastlanmamıştır. Çalışmamız sonucunda serum PI3K seviyelerinin meme kanseri riskinde rol oynayabileceği ve PIK3CA; C>A gen polimorfizminin daha geniş örneklem grupları arasında incelenmesi gerekliliği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, PIK3CA, Polimorfizm

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-35782

ABSTRACT

Ulu E. Investigation of PIK3CA Gene Variation and PI3K Serum Level in Breast Cancer. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Molecular Medicine. Master thesis. İstanbul. 2020.

Breast cancer is a common type of malignancy among woman that develops as a result of various genetic, environmental or hormonal factors. Several signaling pathways induce breast cancer pathogenesis. The PI3K (Phosphatidylinositol 3-kinase) signaling pathway has been extensively studied in human malignancies also play important roles in tumorigenesis and cancer development by triggering cell proliferation and angiogenesis. p110 α a subclass of the PI3K family is produced by PIK3CA, frequently mutated in cancer than other isoforms. Single nucleotide polymorphisms (SNPs), which are observed common in populations can affect the susceptibility to cancer and many diseases by changing protein structure or function. In our study; we aimed to evaluate the possible relationships between PIK3CA; C>A gene variation and PI3K serum levels in breast cancer risk and also by the regard of clinical, prognostic parameters. According to our study, there were no significant association between PIK3CA; C>A genotype and allele distributions in breast cancer patients and healthy individuals ($p > 0,005$). We performed stratification analyses by regarding tumor characteristics and other demographic variables but we did not detect any significant correlation between the genotypes distribution and these prognostic parameters. PI3K serum levels were observed higher in breast cancer patients compared to the control group, and the difference was statistically significant ($p = 0,033$). However, there were no significant association between genotype and allele distributions, clinical and prognostic parameters in terms of PI3K serum levels. In conclusion we suggest that serum PI3K levels may play role in breast cancer risk and larger patient groups may have clinical value in assessment of the genetic risk and tumor progression of breast cancer.

Key Words: Breast cancer, PIK3CA, Polymorphism

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. TYL-35782

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri, kadınlar arasında en sık görülen ve ölüme yol açan malign tümördür. Hormon ve çevresel etkenlerin genetik yapı ile etkileşiminin bir sonucu olan meme kanseri riskinin; çevresel kimyasallar, dışarıdan östrojen alımı, geç menopoza, ilk doğumun geç yaşlarda gerçekleşmesi, meme kanseri ile ilgili aile hikâyesi, artmış vücut-kitle indeksi, menopoza sonrası obezite, iyonize radyasyona maruz kalma ve sigara/alkol kullanımı gibi birden çok faktör varlığında arttığı belirtilmiştir. Bununla birlikte genel kanı kanser başlangıcında, çevresel karsinojenlere maruz kalma sonrasında kazanılan mutasyonların yanı sıra, germline mutasyonların kalıtılması sonucu oluşan genetik hasarların protoonkogenlerin aktivasyonuna ya da tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna yol açarak, apoptoz mekanizmasının bozulması ve/veya kontrolsüz hücre proliferasyonu sonucunda meme kanseri gelişiminin başladığı yönündedir (1).

Çeşitli büyüme faktörleri ve ilişkili reseptörlerinde oluşabilecek bozuklukların kontrolsüz hücre çoğalmasına neden olarak, insan meme kanserinde oldukça önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu kimyasal ve fiziksel değişimler migrasyon, proliferasyon, hücre farklılaşması ve hücre ölümünü tetikleyebilmektedir. Bazı sinyal yolları bu sürecin koordinasyon ve işleyişinde önemli rol oynamaktadır. Sinyal iletimi hücrede basit hücresel aktiviteleri organize eden ve cevabı düzenleyen hücre içindeki kompleks haberleşme sisteminin önemli bir parçasıdır. Hücre bilgi akışındaki hatalar başta kanser, diyabet ve otoimmünite ile ilişkili hastalıkların önemli nedenleri arasındadır. Sinyal iletimi ile ilgili metabolik fonksiyonlar, genetik mutasyonlar ve tümör hücrelerinin dış etmenlerden etkilenmelerinden dolayı kanser biyolojisinin en önemli konusu haline gelmiştir (2,3).

Meme kanseri patogenezinin sorumlu birden fazla sinyal yolağı vardır. Örneğin; hormonal sistemlerle ilişkili yollar (ESR1, PGR ve AR), PI3K/AKT/mTOR yolu (AKT1, *PIK3CA* ve PTEN), reseptör tirozin kinaz/büyüme faktörü sinyal yolu (ERBB2/HER2) ve DNA hasarına sebep olan hücre döngüsü ve kontrolünden sorumlu moleküler mekanizmalar (CCND1, CDK4, CDK6, RB1 ve TP53) hastalığın risk ve prognozunda önemli rol oynamaktadır (4). Fosfatidilinozitol 3-kinaz (PI3K) yolağının aktivasyonu; hücre çoğalması ve göçünü, glukoz taşınımı ve katabolizmasını, hücre içi aktivasyon ve haberleşmeyi, anjiyogenezi tetikleyerek tümör gelişiminde etkilidir (5).

PIK3CA (Fosfoinozitol 3-kinaz katalitik alt birim alfa) geni; 3q26.3 kromozom bölgesinde bulunur, 20 ekzon içerir, 1068 amino asidi kodlar (6). Meme kansinomlarında PI3K yolağı bileşenlerinde görülen spesifik genetik değişikliklerin sıklığı moleküler alt tiplere göre değişiklik gösterir. Bu saptamalar hastalığın tanı ve tedavisinin doğru şekilde düzenlenmesinde büyük önem taşımaktadır (7). p110 α 'yı kodlayan gen olan *PIK3CA*, kanserde sıklıkla mutasyona uğrayan kısımdır (8). ER-pozitif ve HER2-pozitif meme kanserlerinde daha sık görülür (7). Ayrıca endometriyum, mesane, kolorektal kansinom ve baş-boyun skuamöz hücreli kansinom dâhil olmak üzere farklı insan tümörlerinde çeşitli araştırmalar rapor edilmiştir (9).

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), insan genomunun en sık görülen varyasyon tipini temsil eder. Bazı durumlarda protein yapısını ve fonksiyonunu değiştirerek kanser de dâhil olmak üzere çeşitli hastalıklara yatkınlığı etkileyebilmektedir (10). Genetik faktörlerin ve polimorfizmlerin meme kanserinde önemli olduğunun bildirilmesine karşın, patogenezinin altında yatan moleküler mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir (1). Araştırmayı planladığımız PI3K sinyal yolağı, onkogen görevi gören ve insan malignitelerinde en sık etkilenen merkezi yolaklardan biri olarak kanser genetiği çalışmalarında yoğun bir araştırma konusudur (11). Farklı kanser tiplerinde incelemeyi hedeflediğimiz polimorfizmi taşıyan bireylerde farklı etkilere sahip olduğu gözlenmiştir. Ayrıca *PIK3CA* intron bölgesinde yer alan C>A varyasyonu, özgün nitelikte olup literatürde konuyla ilgili çok az çalışmaya rastlanmıştır. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda, polimeraz zincir reaksiyonu ve Enzim bağı immunosorbent assay (Elisa) yöntemleri kullanılarak Türk popülasyonunda PI3K sinyal yolağında yer alan *PIK3CA* (rs6443624) genetik varyasyonu ve serum ifadesinin meme kanserinde klinik ve prognostik parametrelerle olan ilişkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

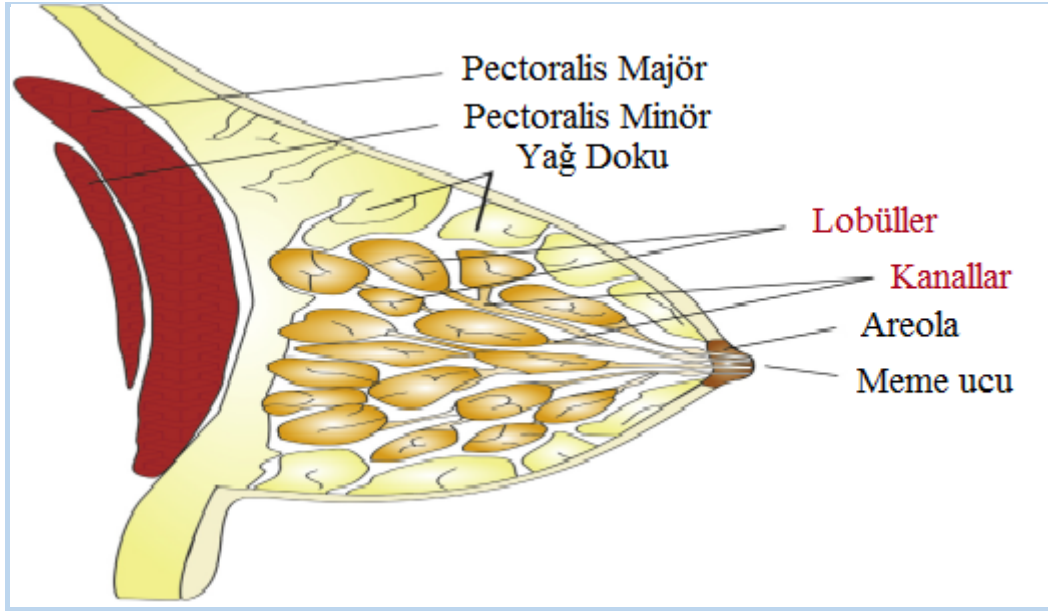
2.1. Kanser

Kanser gelişimi, uygunsuz proliferasyonu baskılayan ve hızlı şekilde çoğalan hücrelerin hayatta kalmasını engelleyen homeostatik kontrol mekanizmalarının bozulmasıyla ardışık genetik ve epigenetik değişiklikleri içerir. Çoğu kanser; akciğer, deri, meme, karaciğer ve pankreas gibi organlarda karsinom olarak ortaya çıkan epitel hücrelerinde meydana gelir. Sarkomlar ise fibroblastlarda, miyositlerde, adipositlerde ve osteoblastlarda meydana gelen mezenkimal dokulardan kaynaklanır. Epitelyal olmayan tümörler de sinir sistemi hücrelerinde (gliomalar, nöroblastomlar ve medulloblastomlar) ve hematopoietik dokularda (lösemi ve lenfoma) gelişebilir (12). Tümör hücreleri, normal sınırlarının ötesinde dokuyu istila etme, dolaşıma girme ve malignitenin tanımlayıcı özelliği olan metastazı yani yeni tümörler tohumlama yeteneğini geliştirebilir (12,13). PI3K sinyal yolağı tüm bu süreçlerde çok önemli bir rol oynamaktadır (14).

2.2. Meme Kanseri ve Epidemiyolojisi

Meme kanseri, kadınlarda görülen en yaygın kanserdir (15). Diğer kanser türlerine nazaran sağ kalım oranları yüksek olmasına rağmen ameliyatlardan kaynaklanan zihinsel ve duygusal rahatsızlıkların yanı sıra nüksetme veya metastaz nedeniyle hala kritik bir öneme sahiptir. Tedavide mastektomi (memenin alınması) ve kemoterapi ve tedavi sonrası psikolojik etkiyi en aza indirmek için cerrahi prosedürlerin daha zarif formları uygulanmaktadır. Bununla birlikte, altta yatan mekanizma ve patogenezi tam olarak anlamadan önleme ve tedavinin etkinliği her zaman sınırlı olacaktır (16).

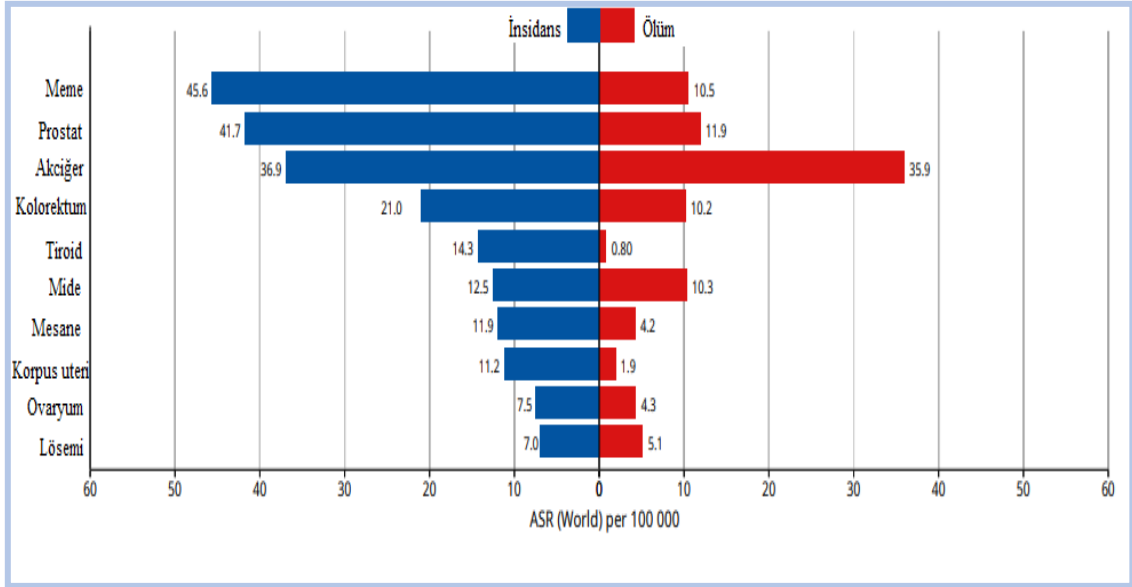
İnsan meme bezi gelişimi embriyonik yaşam boyunca başlayan ilerleyici bir süreçtir. Meme, steroid hormonu ve büyüme faktörü reseptör sinyaline yanıt olarak ergenlik, hamilelik ve emzirme ile ilişkili olarak boyut, şekil ve işlevde dramatik değişikliklere uğrar (5). Memenin benzersiz özelliği, meme epitelinin lokal ve sistemik sinyallere karşı oldukça duyarlı olması ve ergenlik ve hamilelik sırasında duktal ağacın önemli morfolojik değişimler göstermesidir (17).



Şekil 2-1: Meme kanserinin anatomik ve histolojik kökenleri (16)

Meme kanseri genellikle sessiz gelişir. Çoğu hastada rutin taramalar sırasında hastalık tespit edilir. Erken tanı ile sağkalım oranı artar. Tümör lenfatik ve hematolojik olarak uzak metastaz ve kötü prognoza yol açma eğilimindedir. Bu da, meme kanseri tarama programlarının önemini açıklamaktadır (18).

Dünyada kadınlar arasında kanserden ölümün en yaygın nedeni meme kanseridir, insidansı en fazladır; ancak akciğer ve prostat kanserinden sonra 3. sırada öldürücüdür (Şekil 2-2). Türk toplumunda ise kadınların %24,4'ünde görülmektedir. Ülkemizde 2018 yılında her iki cinsiyette yeni vaka sayısı yaklaşık olarak (210,537) ve ölüm sayısı da (116,710) belirtilmiştir (19).



Şekil 2-2: Dünyadaki ilk 10 kanserin insidansı ve ölüm oranları (19)

2.2.1. Etiyolojisi

Meme kanseriyle ilişkili faktörlerin belirlenmesi, kadınlar için genel sağlık taramasında önemlidir. Meme kanseri için bazı önemli risk faktörleri bireyin kontrolü dışındadır ve bunlar genetik faktörlerdir, bazıları ise genetik olmayan faktörlerdir (18).

2.2.1.1. Genetik risk faktörleri

Meme kanseri ve diğer kanserlerde BRCA genlerinin genetik varyasyonlarının yaygınlığı bilinmektedir (20). Meme kanseri ile ilişkili (BRCA1 ve BRCA2) genler, risk açısından önemli anti-onkojenlerdir ve tümörü baskılayan proteinleri kodlarlar (21). BRCA1 eksikliği; hücre döngüsü kontrol noktasının düzensizleşmesine, genetik instabiliteye ve nihayetinde apoptoza yol açar (21). BRCA2 proteini, DNA çift sarmalında meydana gelen kopma ve kırıkların rekombinasyonel onarımını düzenler (22,23). BRCA1 veya BRCA2 genlerinde zararlı mutasyonların kalıtımı meme kanseri riskini büyük ölçüde artırabilir. Bütün olarak, kalıtsal meme kanserlerinin yaklaşık %20-25'i ve tüm meme kanserlerinin %5-10'u BRCA1/2 mutasyonlarından kaynaklanır (1). Yapılan bazı meta analiz çalışmalarında, BRCA1 veya BRCA2 mutasyonları taşıyan 70 yaşından büyük kadınlarda meme kanseri risk oranının sırasıyla %57 ve %49 olduğunu göstermiştir (24).

İnsanlarda aynı zamanda c-erbB-1 veya Her1 olarak da bilinen EGFR (epidermal büyüme faktörü reseptörü), tirozin kinaz ailesinin hücre yüzeyi glikoproteinidir ve EGF, TGF- α , amphiregulin, betacellulin ve benzer genlere bağlanarak aktive edilir (25,26). PI3K, Ras-Raf-MAPK ve JNK dahil olmak üzere EGFR'nin hücre proliferasyonunu, hücre istilasını, anjiyogenezi desteklemek ve hücreleri apoptoza karşı korumak için tetiklenir (1,27). EGFR'nin artışı, çok agresif meme kanseri alt tipi olan inflamatuvar meme kanseri (IBC) vakalarının %30'unda görülür (28). EGFR-pozitif IBC'li hastalar, EGFR-negatif tümörleri olanlardan daha kötü prognoza sahiptir (1). ER ve PR ekspresyonu eksikliği ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2)'nin amplifikasyonu veya aşırı ekspresyonu olmaması ile belirlenir (29). HER2, c-erbB-2 olarak da bilinir ve tirozin kinaz ailesindedir. Her3 ve Her4 gibi diğer ligand bağlı EGFR ailesi üyeleriyle heterodimerler oluşturur böylece çeşitli sinyal yollarını aktive eder ve meme kanserinde önemli bir onkogendir. Primer meme kanserlerinin yaklaşık %20'sinde tespit edilen HER2'nin aşırı ekspresyonu, PTEN/Akt/mTORC1 sinyalleme ile kanser kök hücre sayısını artırır ve kötü klinik sonuçlar gösterir (30,31).

c-Myc geni, transkripsiyon faktörü olan Myc proteinini kodlar (1). Çeşitli çalışmalarda bazı genlerin Myc proteini tarafından (CACGTG) eklenen konsensus ve histon asetiltransferazların (HAT) veya DNA metiltransferazların aktivasyonu yoluyla düzenlendiğini gösterir (32,33). MTA1, hTERT ve PEG10 gibi Myc tarafından düzenlenen genler, meme kanseri başlangıcında ve ilerlemesinde hayati rol oynar (1). c-Myc'in aşırı ekspresyonu, ağırlıklı olarak meme karsinomlarının yüksek dereceli, invaziv evresinde gözlenir (1,34).

Önemli onkogenlerden biri olan Ras gen ailesinde H-ras, K-ras ve N-ras olmak üzere üç üye vardır (35). Bu genler tarafından kodlanan proteinler son derece homologtur ve guanozin trifosfat (GTP) bağlayıcı protein (G proteini) süper familyasına aittirler (36). Nokta mutasyonları genellikle Ras genlerinin aşırı ekspresyonu ile ilişkilidir ve çoğu GTP bağlanması için kodlama alanında yer alan yanlış anlamlı mutasyonlarıdır (1). Ras proteinlerinin mutasyonları meme kanserinde (<%5) nadiren görülmesine rağmen, Ras sinyal iletim yolunun anormalliği hem iyi huylu hem de kötü huylu meme dokularında gözlenir (1,37). H-ras, meme kanseri hücrelerinde proliferasyonu, invazyonu aktiflemek ve apoptozu inhibe etmek amacıyla çeşitli viral genomlara bağlanabilir (38). H-ras aşırı

ekspresyonu hem primer hem de ileri meme kanseri hastalarında tespit edilir ve kötü prognozu tetikler (39,40).

Yukarıda bahsedilen genlerin mutasyonları dışında birkaç meme kanseri duyarlılık geni tanımlanmıştır ve tüm kalıtsal meme kanserlerinin %1'inden daha azını oluşturabilir. Bu gen mutasyonları çok daha az yaygındır ve bu gen grubunu temsil edenler aşağıda gösterilmiştir (16):

ATM ve ataksi telenjektazi: ATM gen ürünü, hasarlı DNA onarımına katılır. Çoğu ataksi telenjektazi hastası, genellikle meme kanserinin meydana geldiği yaşa kadar hayatta kalmaz ve bu hastalığı taşıyanların, meme kanseri geliştirme riskinin 50 yaşına göre %11 ve 70 yaşına göre %30 olduğu tahmin edilmektedir (41).

CDH1: CDH1, E-kaderin proteinini kodlar. CDH1 germline mutasyonlarından etkilenen kişiler, nadir görülen mide kanseri türü geliştirirken invaziv lobüler meme kanseri ikinci en sık görülen neoplazi türüdür (16).

CHEK2: Kontrol noktası kinaz 2 (CHEK2), DNA hasarı üzerine aktive olan ve başlangıçtaki hasara yanıt olarak DNA onarımı, hücre döngüsünü durdurulması veya apoptozun uyarılmasında önemli rol oynayan serin/treonin kinazdır (42). Mutasyondan dolayı oluşan kinaz fonksiyon kaybı, meme kanseri ile ilişkilidir (43).

PALB2: PALB2 (BRCA2'nin Ortağı ve Lokalizörü), başlangıçta BRCA2 ile etkileşen protein olarak tanımlanmıştır ancak daha sonra BRCA1 ile etkileşime girdiği de gösterilmiştir (44,45). PALB2'deki (FANCN olarak da bilinir) biallelik germline fonksiyon kaybı mutasyonları Fanconi anemisine neden olurken monoallelik fonksiyon kaybı mutasyonları meme kanseri ve pankreas kanseri riskinde artış ile ilişkilidir (46).

PTEN ve Cowden sendromu: Cowden sendromu; hamartom ve iyi tümörlerin gelişimi ile karakterize, otozomal dominant bir hastalıktır (47). PTEN (kromozom 10'dan silinen fosfataz ve tensin homologu) genindeki mutasyonlar, Cowden sendromu olan ailelerinin %80'inde mevcuttur (48). Cowden sendromlu ailelerde PTEN mutasyonlarının kaybı kadınlarda %25-50 oranında meme kanseri riskine neden olur (49). Sporadik meme kanseri hastalarında, PTEN genindeki germline ve somatik mutasyonlar nadirdir (50,51).

TP53 ve Li-Fraumeni sendromu: TP53 (tümör protein 53) genindeki inaktive edici mutasyonlara, birçok kanser tipinde rastlanır ve meme kanserlerinin yaklaşık %40'ında görülür (52). Otozomal dominant bir hastalık olan Li-Fraumeni sendromu ise, TP53 genindeki germline mutasyonlarının neden olduğu osteosarkom, lösemi, beyin tümörleri, adrenokortikal karsinomlar ve meme kanseri riskini artırır (49).

2.2.1.2. Genetik olmayan risk faktörleri

a) Yaş: Cinsiyetin yanı sıra, yaşlanma meme kanserinin en önemli risk faktörlerinden biridir (1). Çünkü meme kanseri insidansı, 55 yaş ve üstü kadınlarda artış gösterir (16).

b) Aile meme kanseri öyküsü: Meme kanseri vakalarının yaklaşık dörtte biri aile öyküsü ile ilgilidir (1). Örneğin, meme kanserli birinci derece bir akrabaya (anne, kız kardeş veya kızı) sahip olmak, kadının meme kanseri riskini neredeyse iki katına çıkarırken hastalığa sahip iki tane birinci derece akrabaya sahip olmak, yaklaşık 3 kat artırır. Ayrıca meme kanseri olan baba veya erkek kardeşi olan kadınların da meme kanseri riski daha yüksektir. Bireysel bağlamda, bir memede kanserin olması diğer memede veya aynı memenin başka bölümünde yeni kanser geliştirme riskini artırmaktadır (16,53).

c) Irk ve etnik köken: 45 yaşın altındaki Afrikalı-Amerikalı kadınlarda meme kanseri daha yaygın olmasına rağmen, Kafkas kökenli kadınların Afrikalı-Amerikalı kadınlara göre meme kanseri geliştirme olasılığı daha yüksektir. Ayrıca, Afrikalı-Amerikalı kadınların her yaşta meme kanserinden ölme olasılığı daha yüksek iken Asyalı, İspanyol ve Kızılderili-Amerikalı kadınlar gibi diğer ırkların meme kanseri gelişme ve ölüm riski daha düşüktür (16,54).

d) Meme kanserinde yaşam tarzı ve kişisel davranışlar ile ilgili risk faktörleri: Meme kanserlerinin büyük çoğunluğu (yaklaşık %85'i), ailede meme kanseri öyküsü olmayan kadınlarda görülür. Bu kanserler, kalıtsal mutasyonlardan çok yaşlanma süreci ve yaşam tarzı ile ilişkili risk faktörlerinin sonucu olarak ortaya çıkan genetik mutasyonlardan kaynaklanabilir (16).

- **Aşırı alkol tüketimi:** Alkol tüketimi, kandaki östrojene bağlı hormonların seviyesini yükseltebilir ve östrojen reseptör yollarını tetikleyebilir (1). Meme kanseri riskinin artmasıyla bağlantılıdır ve bu faktörün neden olduğu risk artışı, tüketilen alkol miktarıyla ilişkilidir (16).
 - **Diyet:** Modern batı diyeti, çok fazla yağ içerir ve meme kanseri hastalarında aşırı miktarda yağ alımı (özellikle doymuş yağ) mortalite ve kötü prognoz ile ilişkilidir (55).
 - **Fiziksel aktivite eksikliği:** Araştırmalar kadınlarda özellikle menopoza öncesi düzenli fiziksel aktivitenin meme kanseri riskini azaltabileceğini göstermektedir. Bu durum tam olarak açık değildir, ancak aktivite seviyelerinin vücut ağırlığını, inflamasyonu, hormonları ve enerji dengesini etkilemesinden dolayı olabilmektedir (16).
 - **Aşırı kilolu veya obez olmak:** Menopozdan önce kadın yumurtalıkları vücudun östrojeninin çoğunu üretirken yağ dokusu sadece küçük bir miktar üretir. Yumurtalıklar menopozdan sonra östrojen üretimini bıraktığında, kadının östrojeninin çoğu yağ dokusundan gelir. Bu nedenle, menopozdan sonra daha fazla yağ dokusuna sahip olmak östrojen seviyelerini yükseltir ve meme kanseri riskini artırır. Ayrıca aşırı kilolu olmak, kan insülin seviyelerinin yükselmesine yol açma eğilimindedir ve bu da meme kanseri de dâhil olmak üzere belirli kanserlerle bağlantılıdır. Bununla beraber, vücut ağırlığı ve meme kanseri riski arasındaki bağlantı karmaşıktır ve tam olarak anlaşılması gerekmektedir (16).
 - **Sigara:** Hem sigara içen hem de alkol tüketen kadınlarda meme kanseri riski artmaktadır (RR=1,54) (56). Özellikle erken yaşlarda sigara içmenin, meme kanseri oluşumu üzerinde daha yüksek risk taşıdığını göstermektedir (1,57).
- e) **Doğum kontrolü ve kontraseptifler:** Oral kontraseptif kullanan kadınların meme kanseri riski, onları hiç kullanmayan kadınlardan biraz daha yüksektir. Doğum kontrol implantları, intrauterin cihazlar (RİA), cilt yamaları ve vajinal halkalarda da genellikle hormon kullanılır ve bu nedenle teoride meme kanseri riskini arttırabilmektedir (16).

f) Menopozdan sonra hormon replasman tedavisi (HRT): Menopoz semptomlarını hafifletmek ve osteoporozu önlemek için östrojen hormonu (genellikle progesteron ile birleştirilir) kullanılmaktadır. Bununla birlikte, östrojen tedavisinin uzun süreli kullanımının (örneğin >15 yıl) yumurtalık ve meme kanseri riskini artırdığı bildirilmiştir (16).

g) Çocuk sahibi olmamak veya emzirmemek: Çocuğu olmayan veya 30 yaşından sonra ilk çocuğu olan kadınların meme kanseri riski biraz daha yüksektir. Ancak meme kanseri riskini, çoğul gebeliklere sahip olmak ve/veya erken yaşta hamile kalmak azaltır. Bununla birlikte, hamileliğin farklı meme kanseri türleri üzerinde farklı etkileri olduğu ve hamileliğin üçlü negatif meme kanseri riskini artırdığı da görülmektedir. Emzirmenin, özellikle 1,5–2 yıl devam etmesi halinde meme kanseri riskini azaltabileceği öne sürülmüştür (16).

h) Menstrüasyona erken başlamak veya 55 yaşından sonra menopoza durdurmak: Erken adet görmeye başlayan kadınlar, (özellikle 12 yaşından önce) daha fazla döngüye sahip olup bu nedenle östrojen ve progesteron hormonlarına daha uzun ömürlü maruz kalmaktadır. Benzer şekilde kadınlar menopoz döneminin gecikmesi halinde daha uzun süreli östrojen ve progesterona maruz kaldıklarından meme kanseri riski artmaktadır (16).

2.2.2. Evreleme ve Sınıflandırılması

Evreleme, hastaların prognozunu yansıtır. Değerlendirme; tümör boyutu, bölgesel lenf nodu tutulumu ve histolojik derecelendirme sistemi ile uzak metastaza dayanan Amerikan Kanseri Ortak Komitesi (AJCC) sistemine dayanmaktadır (Tablo 2-1) (52).

Tablo 2-1: AJCC 7. evreleme sistemi (52)

Anatomik evre		Prognostik gruplar	
0	Tis	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T0	N1mi	M0
	T1	N1mi	M0
IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
IIIB	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
IIIC	Herhangi bir T	N3	M0
IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

Histolojik alt tipler, patolojik özellikler ve invaziv karektere dayanarak yaygın meme kanserleri invaziv olmayan (veya in situ), invaziv ve metastatik meme kanserleri olmak üzere üç ana grupta sınıflandırılabilir (16):

Duktal karsinom in situ (DCIS; intraduktal karsinom olarak da bilinir): Önceden var olan normal kanalların içinde gelişen DCIS, pre-invaziv veya invaziv olmayan en yaygın meme kanseri türlerinden biridir (16).

İnvaziv veya infiltratif meme kanseri: İnvaziv meme kanserlerinde; normal meme lobları ve kanallarının dışına yayılan, çevredeki meme stromal dokusuna doğru büyüyen kanser hücreleri vardır. İnvaziv meme kanseri tanısı koyulan kadınların, yaklaşık üçte ikisi 55 yaş ve üzerindedir. İnvaziv karsinomlar, lenf düğümleri veya diğer organlar gibi vücudun diğer bölgelerine yayılarak metastaz oluşturma potansiyeline sahiptir. İnvaziv meme kanserleri, doku ve hücre tiplerine dayanarak aşağıdaki iki türe ayrılır:

İnvaziv Duktal Karsinom (IDC): Meme kanseri türleri arasında, en yaygın görülenidir. IDC sınıflandırması memenin kribriform karsinomu, memenin müsinöz karsinomu, memenin medüller karsinomu, memenin tübüler karsinomu, memenin papiller karsinomu gibi birkaç alt tipten oluşmaktadır.

İnvaziv Lobüler Karsinom (ILC): ILC, en yaygın ikinci meme kanseri türüdür. İleri yaştaki kadınlarda daha sık görülür.

İnvaziv alt kategoriler, birlikte tüm meme kanseri vakalarının %90-95'ini kapsamaktadır. Duktal ve lobüler karsinomlar, her biri farklı patolojik özellikler gösterdiğinden; farklı prognozlara ve tedavi seçeneklerine sahip olabilirler ve bu nedenle birbirlerinden ayırt etmek önemlidir (16).

Metastatik meme kanserleri: Vücuttaki diğer organlara yayılır ve meme kanserinin IV veya ileri evresi olarak bilinirler. Meme kanserinde metastazlar; koltuk altındaki lenf düğümlerinde ve/veya kemik, akciğer, karaciğer ve beyin gibi uzak bölgelerde de bulunabilir. Primer tümör çıkarıldıktan sonra bile mikroskopik tümör hücreleri veya mikro-metastazlar vücutta kalabilir. Bu durum, kanserin nüksetmesine ve yayılmasına neden olur (16).

Meme Kanserinin Moleküler veya İntrensik Alt Tipleri

Meme kanseri, heterojen ve fenotipik olarak tedaviye farklı davranışları ve yanıtları olan birkaç biyolojik alt tipten oluşur. Gen ifadesi profillemeye teknikleri bu alt tipleri farklılaştıran listede; ER, PR ve HER2 gibi belirli genlerin ekspresyon modeline dayanır ve intrinsik veya moleküler alt tiplerine ayrılır (16,58):

Lüminal A meme kanseri: ER ve/veya PR pozitif, HER2 negatif ve düşük Ki-67 seviyeleri görülür, tüm meme kanserlerinin yaklaşık %40'ını oluşturur. Düşük derecelidir, yavaş büyür ve en iyi prognoza sahip olma eğilimindedir (16).

Lüminal B meme kanseri: Tüm meme kanserlerinin %20'sinden azını oluşturur. ER ve/veya PR pozitifdir, ya da HER2 pozitif veya negatifdir ve yüksek Ki-67 seviyeleri vardır. Lüminal B kanserleri, lüminal A kanserlerinden biraz daha hızlı büyür ve prognozu biraz daha kötüdür (16,59).

HER2-zengin meme kanseri: Bu alt tip, meme kanserlerinin %10-15'ini oluşturur. ER ve PR ekspresyonunun olmaması, HER2 ve proliferasyon gen kümelerinin yüksek ekspresyonu ve lüminal ve bazal kümelerin düşük ekspresyonu ile karakterizedir. HER2 ile zenginleştirilmiş kanserler, lüminal kanserlerinden daha hızlı büyür ve genellikle daha kötü prognoza sahiptir (16).

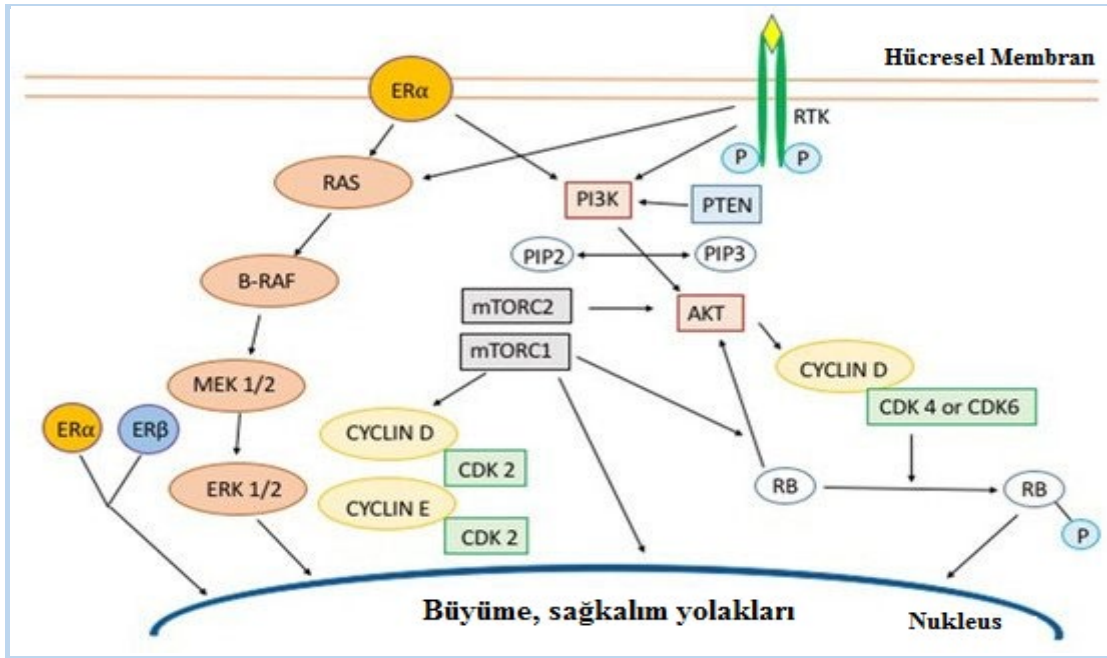
Üçlü negatif/Bazal benzeri meme kanseri (TNBC): TNBC alt tipi, tüm meme kanserlerinin yaklaşık %20'sini kapsar; ER, PR ve HER2 negatif yani üçlü negatif olarak karakterize edilir. TNBC, BRCA1 gen mutasyonları olan kadınlarda olduğu gibi 40 yaşından küçük kadınlarda ve Afrikalı-Amerikalı kadınlarda daha yaygındır. TNBC genellikle diğer meme kanseri türlerinden daha agresif davranır ve bu da onu yüksek dereceli meme kanseri yapar. TNBC'de görülen en yaygın histoloji duktal karsinomun infiltrasyonudur, ancak nadir histolojik alt tip olan medüller karsinom da genellikle üçlü negatifdir (16).

Normal benzeri meme kanseri: Lüminal A hastalığına benzer ve ER ve/veya PR-pozitif, HER2 negatifdir ve düşük seviyelerde Ki-67 proteinine sahiptir. Normal benzeri meme kanseri iyi bir prognoza sahip olsa da, lüminal A kanserinin prognozundan biraz daha kötüdür (16).

Klaudin düşük meme kanseri: Klaudin-düşük tümörlerde ER, PR ve HER2'nin ekspresyonları düşüktür ya da yoktur ve invaziv duktal karsinomlardır (60).

2.2.3. Moleküler ve Genetik Mekanizmalar

Birçok sinyal yolu ve bunların etkileşimi, normal meme gelişiminin düzenlenmesinde ve düzensiz oldukları takdirde meme kanseri gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Sinyal yollarının çoğu, kanser hücreleri ve kanser kök hücreleri tarafından düzensiz hale gelir. Meydana gelen değişikliklerin çoğu; hücre proliferasyonu ve bölünmesini, hücre ölümünü, hücre farklılaşması ve kaderini ve hücre hareketliliğini yöneten sinyal yollarıyla eşleşir (12). Meme kanserinde, moleküler mekanizmaların düzenlenmesinde görev alan sinyal yolları; ER, HER2, Notch, kanonikal Wnt/ β -katenin, SHH, CDK'ler, BRK ve PI3K/AKT/mTOR'u içermektedir (Şekil 2-3) (16). Proto-onkogenlerin mutasyonlarının aktive edilmesi bu sinyal yollarının hiperaktivasyonuna neden olurken tümör baskılayıcılarının etkisiz hale getirilmesi sinyalin kritik negatif regülatörlerini ortadan kaldırır (12).



Şekil 2-3: Meme kanserinden sorumlu bazı yollar (61)

2.3. PI3K

1988 yılında aktif hücre yüzeyi büyüme faktörü reseptörlerinin fonksiyonlarının düzenlenmesinde sinyal dönüştürücü olarak keşfedilmiştir (9). Lipit kinaz ailesinin fosfoinozitol 3-kinaz (PI3K'ler) olarak isimlendirilen grubu; protein sentezi, hücrenin hayatta kalması, çoğalması, farklılaşması, anjiyogenez ve apoptoz dahil olmak üzere birçok hücresel süreçte kilit düzenleyici rol oynar (62,63). PI3K bazlı yol, bir dizi hormona ve büyüme faktörüne cevap veren hücre içi sinyalidir (64). PI3K'ler,

2.3.1. PI3K Sınıfları

PI3K'ler, gliserofosfolipid fosfatidilinozitolün (PtdIns) inozitol halkası üzerindeki 3' hidroksil grubunu fosforile eden lipid kinazlar veya türevleri olan polifosfolinozitolitlerdir (74). Yapılarında; C2, sarmal ve katalitik (kinaz) alanı bulunur. Bu aile yapılarına ve substrat özelliklerine göre üç ana sınıfa ayrılır: sınıf I, II ve III (Tablo 2-2) (75).

Tablo 2-2: PI3K alt sınıflarının isimlendirilmesi (74)

Alt ünite	Protein	Gen adı (İnsan)
Sınıf I		
Katalitik	p110 α	<i>PIK3CA</i>
	p110 β	<i>PIK3CB</i>
	p110 δ	<i>PIK3CD</i>
	p110 γ	<i>PIK3CG</i>
Düzenleyici	p85 α , p55 α , p50 α	<i>PIK3R1</i>
	p85 β	<i>PIK3R2</i>
	p55 γ	<i>PIK3R3</i>
	p101	<i>PIK3R5</i>
	p84, p87	<i>PIK3R6</i>
Sınıf II		
Katalitik	PI3KC2 α	<i>PIK3C2A</i>
	PI3KC2 β	<i>PIK3C2B</i>
	PI3KC2 γ	<i>PIK3C2G</i>
Sınıf III		
Katalitik	Vps34	<i>PIK3C3</i>
Düzenleyici	Vps15	<i>PIK3R4</i>

2.3.1.1. PI3K Sınıf I

Sınıf I PI3K'ler kanserle ilişkili en önde gelen ve en önemli sınıflardır. Metabolizma, proliferasyon, otofaji, sağkalım, kemotaksis, hücre büyümesi ve büyük elementlerin fagositozu gibi önemli hücre içi roller sınıf I PI3K üyeleri aracılığıyla kontrol edilir (76). IA ve IB olarak iki alt gruba ayrılan sınıf I PI3K'ler, katalitik ve düzenleyici bir alt birimden oluşan heterodimerlerdir (66).

a) Sınıf IA

IA Sınıf PI3K'ler, p110 α / β / δ katalitik alt birim (sırasıyla *PIK3CA*, *PIK3CB* ve *PIK3CD* genlerinden kodlanırlar) ve p85 α , p55 α , p50 α , p85 β , p55 γ düzenleyici alt birimlerden (sırasıyla *PIK3R1*, *PIK3R2* ve *PIK3R3* genleri tarafından kodlanırlar) oluşan heterodimerik enzimlerdir ve doğrudan RTK'ler tarafından aktive edilirler (77). p110 alt birimleri p85 ailesi üyelerine bağlanan ABD (adaptör bağlama alanı) adlı N (amino)-terminal alanı, Ras bağlama alanı (RBD), hücresel zarlara bağlanan C2 alanı, işlevi bilinmeyen sarmal alan ve kinaz katalitik olmak üzere beş alandan oluşur. Düzenleyici p85 alt birimi de: N-terminal SH3 alanı, Rho-GAP alanı, katalitik alt birime bağlanmadan sorumlu iSH2 alanı ve iSH2 tarafından ayrılmış iki Src homoloji 2 (SH2) alanları (daha fazla N-terminal (nSH2) ve C (karboksi)-terminali (cSH2)) olarak tespit edilen beş alan içerir. Temelde p85 düzenleyici alt birimleri, p110 katalitik alt birimlerine bağlanır ve onları engeller. Uygun hücresel uyarımlarla nSH2 ve cSH2 alanları, aktive edilmiş reseptörler ve adaptör proteinlerindeki fosforile tirozinleri bağlar. Böylece fosfotirozin bağlanmasıyla, p110 katalitik alt birimleri etkinleştirilir (78). p110 δ immün hücrelerden sadece lökositlerde üretilirken p110 α ve p110 β her yerde üretilir (79). p110 α ; glikoz homeostazında, RAS aracılı sinyalizasyon ve hücre proliferasyonunda, meme kanseri oluşumunda etkilidir (80). p110 β , trombosit biyolojisinde rol oynar ve tromboz tedavisinde araştırılmaktadır (81). PI3K δ , hematopoietik soy hücrelerinde üretilir ve sitokin reseptörleri, antijen reseptörleri, büyüme faktörü reseptörleri ve kostimülatör reseptörler tarafından aktive edilir. Ayrıca, T ve B lenfositlerinin gelişimi ve aktivasyonunda önemlidir (82).

b) Sınıf IB

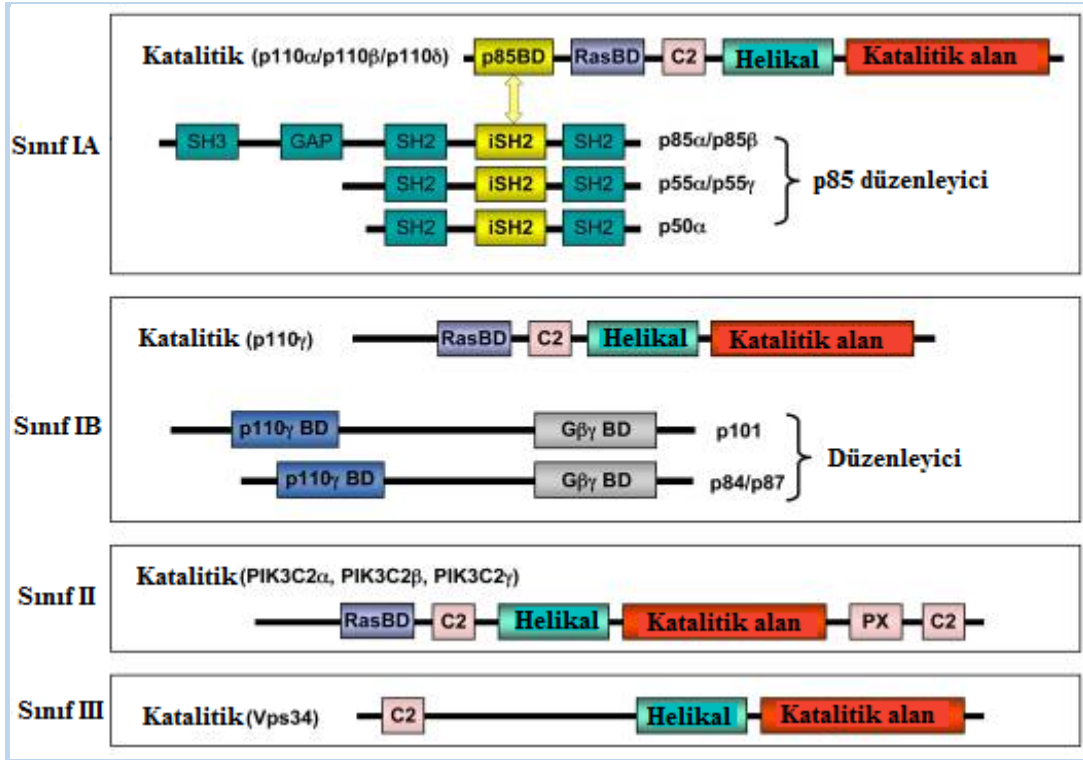
Katalitik alt birim p110 γ (*PIK3CG* tarafından kodlanan) PI3K, IB Sınıfının tek üyesidir ve p84/p87 veya p101 düzenleyici alt birimlerle heterodimer oluşturur (83). Heterotrimerik G-protein bağlı reseptörler ile etkinleştirilirler (84). p110 γ , kristalize edilen ilk PI3K'dir (85). PI3K γ , tümör mikro ortamında önemli rollere sahiptir ve doku hipoksisine yanıt olarak miyeloid hücrelerde PI3K γ sinyali aktif hale getirilir (86,87). Ayrıca nötrofil ve makrofajlardaki kemotaksise katkıda bulunur (88).

2.3.1.2. PI3K Sınıf II

RTK'ler, sitokin reseptörleri ve integrinler tarafından aktive edilebilen sırasıyla *PIK3C2A*, *PIK3C2B* ve *PIK3C2G* tarafından kodlanan PI3K sınıf II'nin üç izoformu; *PI3KC2α*, *PI3KC2β* ve *PI3KC2γ* vardır (66). Bu PI3K'ler arasında en çok araştırılan *PI3K-C2α*'dır ve *PI3KC2β* gibi her yerde eksprese edilirken *PI3K-C2γ* karaciğere özgüdür (89). Sınıf II PI3K'ler, uzun N- ve C-terminal alanları ile yüksek moleküler kütleyle sahip monomerlerdir (90). Sınıf II PI3K'ler; Ras-bağlama, C2, sarmal ve katalitik alanlara sahiptir, ancak düzenleyici alt birim bağlama alanları yoktur. N terminal uzantıları, sınıf II izoformlarını birbirinden ayırır ve bu sayede özel fonksiyonlara sahip olurlar. Örneğin *PI3K-C2α*'nın spesifik olarak kltrin bağlayıcı bölgesi bulunuyorken *PI3K-C2β* prolince zengin dizilere sahiptir (91). Substrat olarak PI(4)P (fosfatidilinozitol-4-fosfat)'yi kullanırlar (92). Sınıf II PI3K'ler; hücre göçünde, glikoz taşınmasında, insülin sinyallerinde, kanal düzenlemesinde, endositoz ve ekzositozdaki farklı rolleriyle hücre korteksinde işlev görebilmektedir (93).

2.3.1.3. PI3K Sınıf III

PI3K Sınıf III; insülin sinyali, endositoz ve fosfatidilinozitol-3-fosfatın üretilmesi yoluyla birçok adımda hücre içi veziküler taşınmayı düzenler (94,95). Sınıf III PI3K'ler, bir düzenleyici alt birim (*PIK3R4* tarafından kodlanan) ve bir katalitik alt birimden oluşan heterodimerik yapıya sahiptir (75). C2, sarmal ve lipid kinaz alanlarını içeren, tüm ökaryotik organizmalarda ifade edilen PI3K'dir (84,96). Katalitik alt birimi endo-lizozomal sistemde veziküler trafiğin düzenlenmesinde rol alır (97). Ayrıca memeli hücrelerinde mTOR yolağında hücre içi fonksiyonlarda görev alır ve otofaji ile de ilgilidir (98).

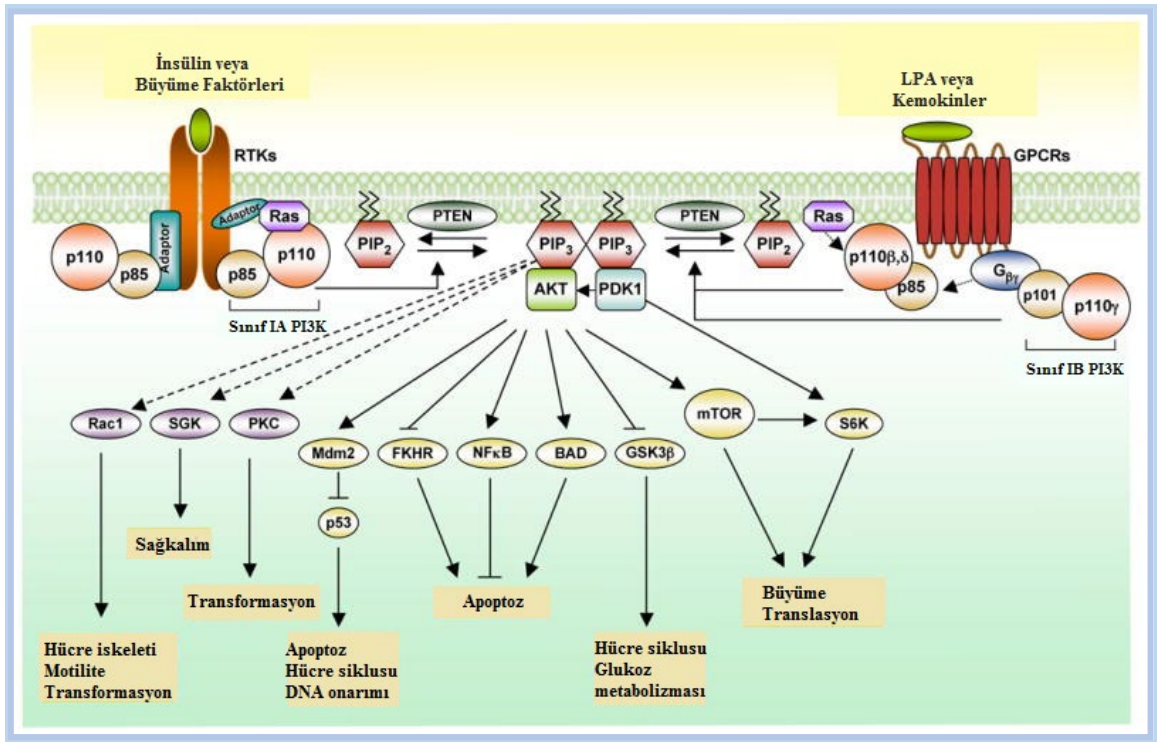


Şekil 2-5: Fosfoinozitol 3-kinaz (PI3K) ailesinin üyeleri (66)

2.3.2. PI3K Sinyali

PI3K; HER2, EGFR veya insülin benzeri büyüme faktörü 1 reseptörü (IGF1R) gibi RTK'ler vasıtasıyla çeşitli hücre dışı sinyallere yanıt olarak aktifleştirilir (99). RTK'lere ek olarak MAPK yollarını tetikleyen RAS, doğrudan PI3K'ye bağlanabilir ve aktive edebilir (100). Bunun sonucunda PI3K oluşur ve PI3K membrana bağlanır (66). Serin/treonin kinaz AKT (protein kinaz B), yolağın düzenlenmesinde görev yapan çok fonksiyonlu bir kinazdır (101). Gelen sinyallerle p110, fosfatidilinozitol(3,4,5)-trisfosfat (PIP3) oluşturmak üzere fosfatidilinozitol(3,4)-bifosfatı (PIP2) fosforile eder. AKT'nin PIP3'e bağlanması, AKT'nin sitoplazmadan plazma membranına yer değiştirmesine yol açar ve burada 3-fosfoinositid bağımlı protein kinaz 1 (PDK1) ve AKT'nin ortak lokalizasyonu, PDK1 tarafından AKT'nin treonin 308 kalıntılarının fosforillenmesini başlatır. AKT'nin tam aktivasyonu, AKT'nin mTOR/Rictor kompleksi 2 (mTORC2) tarafından serin 473 kalıntılarının (pAKT-S473 veya pAKT) fosforile edilmesini gerektirir. Bu durumda AKT, mTOR/Raptor kompleksi 1 (mTORC1)'in aktivitesini düzenleyerek hücre büyümesini ve protein sentezini düzenleyen çok sayıda molekülün fosforilasyonuna ve sinyal kaskadının aktiflenmesine neden olur. pAKT, GSK-3 β (glikojen sentaz kinaz-3 β) ve tau proteinleri sayesinde, mikrotübül dinamiklerini ve

organizasyonunu düzenleyerek hücre proliferasyonuna ve hücre döngüsü ilerlemesine katkıda bulunur. pAKT, proapoptotik proteinlerin fosforilasyonunu tetikleyerek bunların doğrudan inaktivasyonuna neden olur veya proapoptotik proteinlerin ekspresyonunun azalmasına neden olan Forkhead transkripsiyon faktörlerinin (FOX) inhibisyonu yoluyla hücre ölümünü baskılar (99). PI3K/AKT yolağının negatif düzenleyicisi olan PTEN, PI3K etkisinin antagonisti olarak görev yapar (102). Bu nedenle PTEN'deki fonksiyon kaybı, PI3K yolunun aşırı aktivasyonuna ve sonuç olarak hücre proliferasyonunun tetiklenmesine neden olabilir (7).



Şekil 2-6: PI3K sinyal yolağı (66)

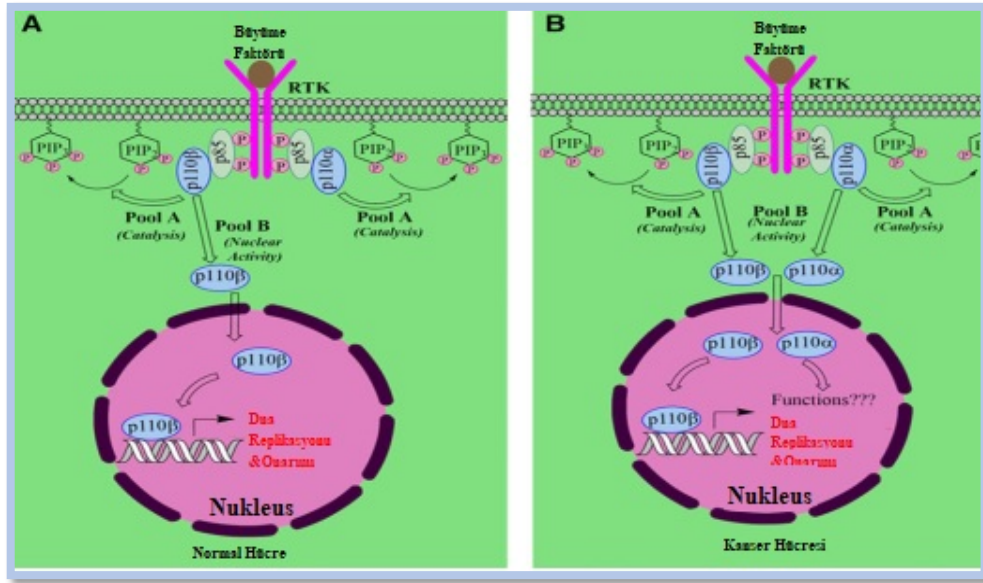
PI3K sinyali çeşitli insan kanserlerinde: *PIK3CA* ve AKT1 (serin/treonin kinaz 1)'in somatik mutasyonları PTEN'in silinmesi, AKT1 ve *PIK3CA*'nın amplifikasyonu ile yolun çeşitli bileşenlerinde genetik değişiklikleri içermesi bakımından önemlidir. Bazı araştırmalarda *PIK3CA* mutasyonları ile *PIK3CA* ve PTEN kaybı ve PTEN mutasyonlarının kopya sayısı kazanımlarının bir arada olduğu, bazılarında ise *PIK3CA*, PTEN, AKT1 ve *PIK3R1* mutasyonların tekli şekilde görüldüğü bildirilmiştir (16). Bununla birlikte meme kanserinin farklı alt tipleri arasında, PI3K yolu düzensizliklerinin sıklığı ve türü değişebilmekte farklı klinik belirtilere ve terapötik etkilere neden olabilmektedir (103).

2.3.3. Meme Kanserinde PI3K Arttırıcı Mekanizmalar

A. PI3K Değişimleri

2.3.3.1. PIK3CA Mutasyonları

PIK3CA'nın somatik mutasyonları ilk olarak 2004'te çeşitli malignitelerde bildirilmiştir (104). p110 izoformları arasında en çok mutasyona uğrayan *PIK3CA* geni tarafından kodlanan p110 α 'dır (8). PI3K kompleksinde görülen düzensizlikler, AKT ve MAPK aracılığıyla büyüme sinyalinin aktivasyonunu tetikler (105). Yapılan araştırmalarda *PIK3CA* somatik mutasyonlarının %56'sı ekzon 9'daki E542K veya E545K'de ve %36'sı ekzon 20'deki H1047R veya H1047L bölgelerinde tespit edilmiştir (106). Her iki mutasyon tipinin fonksiyon kazancına sebep olan mutasyonlar oldukları bildirilmiştir. Ekzon 9'daki p110 α 'nın, Src-homoloji 2 (SH2) domaini yoluyla p85'in inhibe edici etkisinden korunmasına yol açan mutasyonlar olduğu görülmüştür. Ekzon 20 mutasyonları ise kinaz alanındaki aktivasyon döngüsünün yakınında bulunur ve yapısal PI3K sinyalini destekleyen mekanizmalar ile ilişkisi tam olarak aydınlatılamamıştır (107). *PIK3CA* genindeki onkojenik mutasyonlara daha çok meme ve endometriyal kanserlerde rastlanırken servikal, mesane, kolorektal, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom gibi farklı kanser tiplerinde de bulunmuştur (108). *PIK3CA*, meme kanserlerinde sıklıkla mutasyona uğrayan genidir ve meme tümörlerinde %18-40 arasında görülürken ER+ meme kanserlerinin yaklaşık %40'ında gözlenir (65,109). Onkojenik *PIK3CA* mutasyonları lüminal veya bazal meme progenitör hücrelerinin farklılaşmasına neden olmaktadır (110). *PIK3CA* mutasyonları, büyük olasılıkla lüminal tip (HR+/HER2) tümörlerde daha az agresif tümör özelliklerini gösteren belirteçlere sahiptir (107). Bahsedilen mutasyonlara ek olarak C2 alanındaki delesyonların; p85 α 'nın p110 α 'ya bağlanamamasına, artmış p110 α aktivitesine ve hücrel transformasyona neden olan genetik değişiklikler olduğu tespit edilmiştir (111).



Şekil 2-7: Normal ve kanser hücrelerinde p110 α ve p110 β proteinlerinin lokalizasyonunun gösterimi (112)

2.3.3.2. PIK3CA Amplifikasyonu

PIK3CA mutasyonlarının keşfedilmesinden önce, meme kanseri vakalarının yaklaşık %10'u dahil olmak üzere çeşitli malignitelerde *PIK3CA*'nın gen amplifikasyonu rapor edilmiştir (107). *PIK3CA* amplifikasyonu yaygın olarak görülmesi de *PIK3CA* mutasyonları gibi, PI3K aktivitesinin artmasına neden olduğu gösterilmiştir (113).

2.3.3.3. PIK3R1 Mutasyonu/Düşük Ekspresyonu

PIK3R1'deki mutasyonlar; p85'in p110 ile temas eden protein bölgesinde kümelenir ve tümör baskılayıcı rol oynar (114). PIK3R1 ekspresyonunun azalmasının, birçok kanserde agresif rol oynadığı tespit edilmiştir (115).

B. Diğer PI3K-arttırıcı Mekanizmalar

2.3.3.4. HER2 Amplifikasyonu

PI3K, adaptör proteinleri yoluyla RTK'ler ile doğrudan veya dolaylı olarak bağlanarak aktive edilir. Amplifiye HER2, meme kanseri tümör oluşumu bakımından önemli bir RTK'dir (107).

2.3.3.5. PTEN Kaybı veya İnaktivasyonu

PTEN düzensizliği, çeşitli kanserlere neden olur. PTEN antagonist görevini yerine getiremediğinde PI3K yolunun sınırsız bir şekilde sinyalleşmesine yol açar. Ayrıca PTEN eksikliği görülen kanserlerde, PTEN lipid fosfataz fonksiyon kaybından kaynaklanan AKT'nin aşırı aktivasyonu önemli onkojenik güçtür (69).

2.3.3.6. AKT1 Mutasyonu

AKT1, AKT ailesinin bir üyesidir, büyümeyi ve sağkalımı teşvik eder (92). AKT1'in, pleckstrin homoloji alanında (PH) görülen aktive edici mutasyonlar (E17K) meme kanserlerinde %1,4-8 olarak bulunmuştur (116). Meme tümörlerinden özellikle ER ve PR'nin her ikisinde ifade edilirken ayrıca yumurtalık, melanoma ve kolorektal tümörlerde tespit edilmiştir (66,116).

2.4. PIK3CA (C>A; rs6443624) Gen Polimorfizmi

p110 α , sınıf IA PI3K'nin üyesidir ve *PIK3CA* geni aracılığıyla kodlanır. 1068 amino asidi kodlayan bu gen 34 kb uzunluğundadır ve 3q26.3 kromozom bölgesinde yer alır, 20 ekzondur (6). p110 α dizisi boyunca somatik yanlış anlamlı mutasyonlar tanımlanmıştır ve diğer izoformlarda yaygın değildir, ancak aşırı ekspresyonları kanserle bağlantılıdır. *PIK3CA* geninde veya protein aşırı ekspresyonundaki gen amplifikasyonları, silmeleri, bir ya da daha çok baz çiftinin eklenmesi (insersiyon) ve somatik yanlış mutasyonlar beyin, meme, akciğer, karaciğer, mide, kolon, endometriyum, serviks ve yumurtalıklar dahil olmak üzere çeşitli kanser tiplerinde rapor edilmiştir (115).

PIK3CA intron bölgesinde yer alan rs6443624 C>A gen varyasyonu hakkında literatürde az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Meme kanserlerinde PI3K yolağında görülen genetik değişimlerin sıklığı moleküler alt tiplere göre farklılık göstereceğinden hastalığın tanı ve tedavisinde düzenlenmelerin özenli bir şekilde incelenmesi büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızda *PIK3CA* (rs6443624) genetik varyasyonu ve PI3K serum ifadesinin meme kanseri riskinin, klinik ve prognostik parametrelerle olan ilişkilerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı

Çalışmada iki örnek grubu incelenmiştir. Birinci grup, 101 kişiden oluşmakta malignite bulgusu ve ailede kanser hikayesi bulunmayan sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubudur. İkinci grup ise, İstanbul Eğitim Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği tarafından meme kanseri tanısı konulmuş 61 hastadan oluşmaktadır. Projeye dahil edilen meme kanseri tanısı konmuş hastaların; klinik ve histopatolojik değerlendirmeleri, örnek alımları yukarıda belirtilen klinik tarafından gerçekleştirilmiştir.

Polimorfizm çalışmamızda; sağlıklı ve meme kanserli bireylerin kan örnekleri EDTA'lı tüpe alınarak DNA izolasyonu, PIK3CA gen polimorfizmi ve serum PI3K düzeyi analizleri sırasıyla yapılmıştır. Meme kanserli hastalar ve normal bireylerin kan örneklerinin kullanıldığı DNA izolasyonu, amonyum asetat ve proteinaz K ile tuz çöktürme yönteminden elde edilmiştir (117).

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda kullanılan kimyasal maddeler Tablo 3-1'de gösterilmiştir:

Tablo 3-1: Deneide kullanılan kimyasal maddeler

Kullanılan kimyasal madde	Kullanılan kimyasal maddenin markası
Agaroz	Sigma
Amonyum asetat	Sigma A-8920
Amonyum klorür	Sigma A-5666
Asetik asit	Merck K-04134156
Bromfenol mavisi	Sigma B-6896
DNA işaretleyici	GeneRuler 50 bp
EDTA (Etilendiamintetraasetat)	Merck K-90602121
Etanol	%99 Tekel
Etidyum Bromid	Sigma E-8751
Hidroklorik asit	%37 Merck K-13190114
İzopropanol	
Potasyum bikarbonat	Merck K-126223552
Potasyum hidroksit	Sigma P1767
Primerler	İnvitrogen
Proteinaz K	Stratagene 300-141

Sodyum dodesil (lauryl) sülfat	Sigma L-5750
Sodyum hidroksit	Merck C754962
Sodyum klorür	Carlo Erba 368257
Tris baz	Sigma T-1503
Taq polimeraz	i-Taq DNA Polymerase

3.3. Kullanılan Gereçler

Tablo 3-2’de deneyimizde kullanılan gereçler belirtilmiştir:

Tablo 3-2: Deneyde kullanılan gereçler

Kullanılan gereç	Kullanılan gerecin markası
Elektroforez güç kaynağı	Titan Plus Helena Laboratories
Elektroforez sistemi	LKB 2013 Miniphor Electrophoresis, LKB 2012 Maxiphor Electrophoresis
Hassas terazi	Mettler
Isıticılı manyetik karıştırıcı	Elektromag
Mikrodalga fırın	Philco
Mikrosantrifüj	TDX
PZR cihazı	Bio-Rad T100 Thermal Cycler
pHmetre	Hanna
Pipet takımı	Brand
Santrifüj	Hereaus
Spektrofotometre	Thermo Electron Multiskan Spectrum
Su banyosu	Elektromag
UV transillüminatör	Stratagene UV/White Light Transilluminator
Vorteks	Nuve mix
Nanodrop	ND-1000 Spectrophotometer

3.4. Çözeltiler ve Kimyasal Maddeler

3.4.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler

3.4.1.1. 0,5 M Disodyum Etilendiaminteraasetat (EDTA) (pH 8,0)

186,1 gram Etilendiamintetraasetat (EDTA) tartıldı ve beher içine alındı. Üzerine 800 mililitre distile su eklendi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla çözdürüldü. pH’sı

NaOH çözeltisi ile 8,0'a ayarlandıktan sonra distile su ile 1 litreye tamamlandı ve 120°C'de 15 dakika otoklavlama işlemi yapılarak sterilize edildi.

3.4.1.2. 1 M Tris Tamponu (Stok)

121,1 gram Tris baz tartıldı ve bir behere aktarıldı. Ardından 42 µl Hidroklorik asit (HCl) ile yaklaşık 800 mililitre distile su eklendi ve manyetik karıştırıcı yardımıyla çözdürüldü. Çözelti balon jöjeye aktarıldı. Daha sonra distile su 1 litreye tamamlandı ve 120°C'de 15 dakika otoklavlama işlemiyle sterilize edildi.

3.4.1.3. 4 M Sodyum Klorür (NaCl)

233,6 gram NaCl tartıldıktan sonra erlene alındı ve 800 mililitre distile su ilave edildi. Daha sonra manyetik karıştırıcı ile çözdürüldü. Çözelti balon jöjeye aktarıldı ve distile su eklenerek 1 litreye tamamlandı. Sterilizasyonun sağlanması için 120°C'de 15 dakika otoklavlama gerçekleştirildi.

3.4.1.4. 9,5 M Amonyum Asetat

73,22 gram Amonyum asetat tartılarak beher içine koyuldu. 80 mililitre distile su eklendikten sonra manyetik karıştırıcıda çözdürüldü ve balon jöjeye aktarıldı. Distile su katılarak 100 mililitreye tamamlandı. 0,22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi. +4°C'de saklandı.

3.4.1.5. %10'luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)

10 gram Sodyum dodesil sülfat tartıldıktan sonra beher içine alındı. Üzerine 80 mililitre steril distile su eklendi ve manyetik karıştırıcı aracılığıyla çözdürüldü. pH'sı 7,2'ye ayarlandı. 0,22 mikronluk filtreden geçirildi ve sterilize edildi. Oda ısısında saklandı.

3.4.1.6. Eritrosit Parçalama Tamponu (Lysis Buffer)

8,74 gram Amonyum klorür, 1 gram Potasyum bikarbonat, 200 µl 0,5 Molar EDTA tartılarak erlen içine alındı ve üzerine 900 mililitre steril distile su eklendi. Çözelti pH'sı 1N NaOH ile 7,4'e ayarlandı ve balon jöje içinde 1 litreye tamamlandı. Daha sonra ısıya dayanıklı cam şişelere aktarıldı. 120°C'de 15 dakika otoklavlandıktan sonra +4°C'de saklandı.

3.4.1.7. Lökositleri Parçalama Tamponu (White Blood Cell Buffer-WBL)

25 mililitre 4 Molar NaCl, 50 mililitre 0,5 M EDTA balon jöjeye konuldu. Daha sonra steril distile su eklenerek 1 litreye tamamlandı. 120°C’de 15 dakika otoklavlama ile sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

3.4.1.8. Proteinaz K (20 mg/ml)

20 miligram Proteinaz K tartıldıktan sonra steril bir tüp içine alındı. Steril distile su ile 1 mililitreye tamamlanarak -20 °C’de muhafaza edildi.

3.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonunda (Polymerase Chain Reaction-PCR) Kullanılan Kimyasal Maddeler

3.4.2.1. DNA Taq polimeraz enzimi (5U/µl) (i-Taq DNA Polymerase)

Enzim, 25 µl’lik PZR reaksiyonuna son konsantrasyon 1 unite olacak şekilde eklendi.

3.4.2.2. İleri ve Geri Primer Stok Hazırlanması

İleri ve geri primerler 0,5 mililitrelik tüpe 2 ayrı stok olarak hazırlandı.

3.4.3. Agaroz Jel Elektrofrezinde Kullanılan Çözeltiler

3.4.3.1. 1X Tris-Asetat-Etilendiamintetraasetat (TAE) Tamponu

50X TAE solüsyonundan alınan 20 mililitre üzerine steril distile su eklenerek 1 litreye tamamlandı ve 1X TAE tamponu hazırlandı. 1X TAE tamponu; 40 mM Tris, 20 mM asetik asit ve 1 mM EDTA içermektedir.

3.4.3.2. %2’lik Agaroz Jel Hazırlanması

4 gram Agaroz tartılarak erlen içine konuldu ve son hacim 200 ml olacak şekilde 1X TAE tamponu eklendi, mikrodalga fırında kaynatılarak çözdürüldü. Erlenin sıcaklığı el ile tutulabilecek sıcaklığa geldiğinde (50-55°C) çözülmüş agaroz jel içine 4,5 µl etidyum bromür (10 mg/ml) koyuldu. Hazırlanan jel, yatay jel yatağı içine döküldü. Yükleme kuyucuklarının oluşması amacıyla tarak yerleştirildi ve donmaya bırakıldı. Jel donduktan 15-20 dakika sonra tarak dikkatlice çıkarıldı. Böylece jel örnek yüklemesi için hazır duruma getirildi.

3.4.3.3. Etidyum Bromür (10 mg/ml)

1 gram Etidyum bromür tartıldı ve 1,5 mililitrelik tüpe koyuldu. Steril distile su eklenerek 10 mililitreye tamamlandı.

3.4.3.4. Yükleme Tamponu (Loading Buffer) (6X)

Yükleme tamponu (loading buffer) için; %0,25'lik bromfenol mavisi ve %40'luk sükröz karışımı hazırlandı.

3.5. Kullanılan Yöntemler

3.5.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

10 mililitre periferik kan steril EDTA'lı tüplere alındı. Çalışmada kullanılmak üzere falkon tüpüne aktarıldı. Tüpe 1:3 oranında (30 mililitre) eritrosit parçalama çözeltisi eklendikten sonra karıştırıldı. +4°C'de 15 dakika bekletildi. Örnekler +4°C'den çıkarıldıktan sonra 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısımları atıldı. Pelletleri tamamen süspanse edildi ve üzerlerine yeniden 15-20 mililitre eritrosit parçalama çözeltisi eklendi. Örnekler +4°C'de 15 dakika bekletildi ve daha sonra 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatantları atılarak süspanse edildi. Süspanse pellet üzerine sırasıyla 500 µl %10'luk SDS, 75 µl proteinaz K (20 mg/ml), 9,4 mililitre lökosit parçalama çözeltisi (WBL) eklendi. 56°C'ye ayarlanmış su banyosunda 1 gece inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında her 1 mililitre örnek başına 0,37 mililitre olacak şekilde 9,5 Molarlık Amonyum asetat çözeltisi eklendi ve yavaşça karıştırıldı. 3000 rpm'de 25 dakika santrifüj edildi ve proteinler çöktürüldü.

3.5.1.1. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini

DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu, 260 nm ve 280 nm dalga boylarında yapılan ölçümlerle spektrofotometrik olarak belirlendi. 50 µg/ml çift iplikçikli DNA içeriğinin 260 nm dalga boyunda 1 optik densite (OD) verdiği kabul edildiğinden bu dalga boyunda elde edilen değer aşağıdaki formülde uygulandı. Böylece DNA konsantrasyonu hesaplandı.

$$\text{DNA Konsantrasyonu: } OD_{260} \times 50 \mu\text{g/ml}$$

DNA örneklerinin saflığı, OD_{260}/OD_{280} oranıyla belirlendi ve iyi saflıktaki DNA'nın OD_{260}/OD_{280} değeri 1,8 olarak kabul edildi. Ortamda protein veya fenol bulunuyorsa bu oran 1,8'den küçük; ancak OD_{260}/OD_{280} değeri 2'den büyükse ortamda RNA bulunuyor anlamına gelmektedir.

3.5.2. PIK3CA Gen Polimorfizminin Tespit Edilmesi

3.5.2.1. PIK3CA (C>A) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Primer Dizileri

PIK3CA gen bölgesinin çoğaltımında kullanılan primerlerin nükleotid dizisi uluslararası yayında doğrulanmıştır ve aşağıdaki tabloda belirtildiği gibidir (118).

İleri primer	5'-TAAGATGTGCAGAGTTCGTTGTATG-3'
Geri primer	5'-TTGCCTTTGTAAATATGCTCCATAATC-3'

3.5.2.2. PZR Karışımının Hazırlanışı

Reaksiyonun toplam hacmi 25 μ l olarak hazırlandı. Tablo 3-3'de belirtilen bileşenler sırayla 0,2 ml'lik steril tüpe koyuldu ve Taq polimeraz en son eklendi. 10 örnek çalışılacak ise pozitif ve negatif kontrol için birer tane reaksiyon karışımı hazırlandı. Aynı zamanda pipetleme hataları için bir tane olacak şekilde toplamda 13 reaksiyon üzerinden karışım hazırlandı. PZR karışımı hazırlama işlemlerinin tümü soğuk blok üzerinde ve steril kabin içerisinde yapıldı.

Tablo 3-3 : PZR karışımının hazırlanması

Malzemeler	Kullanılan hacim	10 + 3'lük reaksiyon
<i>Distile su</i>	12,9 μ l	167,7 μ l
<i>10X PZR Tamponu</i>	3 μ l	39 μ l
<i>Mg²⁺</i>	1,2 μ l	15,6 μ l
<i>dNTP</i>	3 μ l	39 μ l
<i>İleri primer</i>	1,2 μ l	15,6 μ l
<i>Geri primer</i>	1,2 μ l	15,6 μ l
<i>Taq polimeraz</i>	0,5 μ l	6,5 μ l
<i>DNA</i>	2 μ l	-

0,2 ml'lik tüplere, numune sayısı kadar 23 µl reaksiyon karışımı dağıtıldı. Ardından vakit kaybetmeden her tüpe 2 µl DNA eklenerek tüp içerisine konan bileşenlerin iyice karışabilmesi amacıyla pipetleme işlemi yapıldı. Önceden 95°C sıcaklığa getirilmiş PZR cihazına (Bio-Rad T100 Thermal Cycler) numuneler yerleştirildi ve böylece PZR işlemi başlatıldı.

3.5.2.3. PZR Şartları

PIK3CA (C>A) gen polimorfizmini tespit amacıyla kullanılan ileri ve geri primerlerin bağlanma (annealing) sıcaklığı olarak 60°C kullanıldı (Tablo 3-4).

Tablo 3-4 : *PIK3CA* (C>A) gen polimorfizmi PZR koşulları

Ön denatürasyon	95°C	5 dakika	
Denatürasyon	94°C	45 saniye	} 35 döngü
Bağlanma	60°C	45 saniye	
Uzama	72°C	45 saniye	
Son uzama	72°C	5 dakika	

3.5.2.4. PZR Ürünlerinin %2'lik Jele Yüklenmesi

Hazırlanan %2'lik jel, jel tankı içine uygun şekilde konuldu. 1X TAE tamponu, 2-3 mililitre agaroz jelin üzerini geçecek şekilde ilave edildi. 7 µl PZR ürünü üzerine 3 µl yükleme tamponu (6X) eklenip pipetleme yapıldı ve daha sonra 10 µl'lik örnek karışımları sırasıyla kuyucuklara yüklendi. En son DNA işaretleyicisi (GeneRuler 50 bp) ilk kuyuya koyuldu.

Yükleme işlemi tamamlandıktan sonra jel tankının kapağı kapatılarak güç kaynağı (E-Capparatus Corporation, E-C4000P) 250 miliamper 120 volt elektrik gücüne ayarlandı ve elektroforezde yürütme gerçekleştirildi.

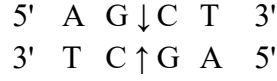
3.5.2.5. PZR Ürünlerinin Kontrolü

PIK3CA (C>A) gen bölgeleri ile ilgili PZR ürünlerinin oluşumunu kontrol etmek için yürütme işleminden sonra jel UV ışık altında (304 nm dalga boyunda) incelendi. Daha sonra UV transillüminatörde PZR ürünlerinin fotoğrafı çekilerek kaydedildi.

3.5.3. PIK3CA (C>A) Gen Polimorfizmi Enzim Kesimi

3.5.3.1. PIK3CA (C>A) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

AluI kesim enzimi, 10X Buffer ile birlikte *PIK3CA* gen polimorfizminin belirlenmesi için kullanıldı:



Amplifiye PZR ürünleri, AluI enzimi ile 37°C'de 16 saatte kesilmiştir. Kesim işleminde her bir örnek için kimyasal maddeler Tablo 3-5'de belirtildiği şekilde kullanılmıştır.

Tablo 3-5: PIK3CA (C>A) gen polimorfizmi kesiminde kullanılan malzemeler

	İlk konsantrasyon	Son konsantrasyon	Eklenen hacim
Distile su			9 µl
10X Buffer R Tamponu	10X	0,8X	1 µl
AluI enzimi	10 U/µl	5 U/µl	0,5 µl
PZR ürünü			10 µl
Toplam hacim:			20,5 µl

3.5.3.2. PIK3CA (C>A) Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi ve Kontrolü

Hazırlanan %2'lik agaroz jeli ilgili kesim enzimleri ile kesilen PZR ürünlerinden 8 µl, yükleme tamponundan 2 µl alınarak karıştırıldı. %2'lik agaroz jeldeki kuyulara sırasıyla yükleme yapıldı. Kesimden elde edilen ürünler, 4 µl DNA moleküler işaretleyicisi (GeneRuler 50 bp) ile birlikte yürütüldü. Yürütme tamamlandıktan sonra jel üzerindeki bantlar, UV ışık (304 nm) altında incelendi.

3.5.3.3. PIK3CA (C>A) Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi

355 bç'lik PZR ürünleri AluI enzimi ile uygun koşullar altında kesildi. Uygulanan işlem sonrasında görüntülenen kesim ürünleri AA genotipinde 355 bç (baz çifti); CC genotipinde 262 ve 93 bç; CA genotipi ise heterozigot formda 355 bç olarak değerlendirilmiştir.

3.5.4. Serum PI3K Düzeyinin ELISA Yöntemi İle Tayini

Örnek serumlar için deneyde kullandığımız PI3K (ELISA) kitinde, kuyular daha önceden insana özgü poliklonal antikor PI3K ile kaplanmıştır. Kontrol numuneleri, örnekler (bilinen insan PI3K içeriği standartları dahil) ve bilinmeyenler bu kuyulara pipetlendikten sonra inkübasyona bırakılır. Bu işlemle birlikte PI3K antijeni, tek bir bölgeden sabit antikorlara bağlanır ve yıkamadan sonra PI3K'ye özgü biyotinile monoklonal antikorlar eklenir. Bu antikorlar, ikinci inkübasyon sırasında ilk inkübasyondan gelen sabit PI3K'lere bağlanır.

Yabancı antikorların ortamdaki uzaklaştırılmasıyla Streptavidin-HRP enzimi eklenir. Bu enzim, biyotinile antikora sandviçin dördüncü üyesini tamamlamak amacıyla bağlanır. Üçüncü inkübasyon ve bağlanmamış enzimleri uzaklaştırabilmek için yapılan yıkamadan hemen sonra substrat solüsyonu eklenir. Bu solüsyonla, bağ enzimi üzerinden renk üretilir. Enzim ve substrat kompleksinden oluşan renkli ürünün yoğunluğu ortamda bulunan PI3K konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

ELISA deneyinde kullanılacak reaktifler Tablo 3-6'da gösterilmiştir:

Tablo 3-6: Sağlanan reaktifler

Reaktifler	96'lık Test Kiti
<i>PI3K Standardı (80 ng/ml). Her şişe 0,5 mililitre.</i>	1 şişe
<i>Standart Seyreltici Tampon. Her şişede 3 mililitre.</i>	1 şişe
<i>Antikor kaplı kuyular. 12x8 kuyulu şerit.</i>	1 plate
<i>Streptavidin-HRP-Konjugat reaktifi. Her şişede 6 mililitre.</i>	1 şişe
<i>Yıkama Tamponu Konsantrasyonu (30X). Her şişede 20 mililitre.</i>	1 şişe
<i>Biotin-(PI3K) antikor. Her şişede 1 mililitre.</i>	1 şişe
<i>Kromojen Solüsyonu A. Her şişede 6 mililitre.</i>	1 şişe
<i>Kromojen Solüsyonu B. Her şişede 6 mililitre.</i>	1 şişe
<i>Durdurma Solüsyonu. Her şişede 6 mililitre.</i>	1 şişe
<i>Kapalı torba.</i>	1 tane
<i>Plate Kapakları. Yapışkan bantlar.</i>	2 tane

3.5.4.1. Reaktif Hazırlama ve Depolama

A. İnsan PI3K Standardının Sulandırılması ve Seyreltilmesi

1. Yönergeler için kit prosedürleri dikkate alındı. Standardlar, Standart Seyreltme Tamponuyla sulandırıldı ve döndürülerek hafifçe karıştırıldı. Tam sulandırmanın sağlanması için 10 dakika beklendi. Sulandırılma işleminden sonra 1 saat içinde kullanıldı.

2. 120 µl orijinal standarda, 120 µl Standart Seyreltme Tamponu eklendi. Böylece 40 ng/ml'lik standart hazırlandı, sonra karıştırıldı.

3. 20, 10, 5 ve 2,5 ng/ml Hu PI3K etiketli her 4 tüpe 120 µl Standart Seyreltme Tamponu eklendi.

4. Standartların seri seyreltmeleri aşağıdaki seyreltme tablosunda belirtildiği gibi oluşturuldu ve adımlar arasında iyice karıştırıldı (Tablo 3-7).

Tablo 3-7: Standartların seyreltilmesi

Standart	Ekle:
40 ng/ml	120 µl Orijinal Standart + 120 µl Seyreltme Solüsyonundan
20 ng/ml	120 µl 40 ng/ml Standardından + 120 µl Seyreltme Solüsyonundan
10 ng/ml	120 µl 20 ng/ml Std.dan + 120 µl Seyreltme Solüsyonundan
5 ng/ml	120 µl 10 ng/ml Std.dan + 120 µl Seyreltme Solüsyonundan
2,5 ng/ml	120 µl 5 ng/ml Std.dan + 120 µl Seyreltme Solüsyonundan

B. Yıkama Tamponunun Seyreltilmesi

Yıkama Tamponu (30X) oda sıcaklığına geldikten sonra çöken tuzların eridiğinden emin olabilmek için çalkalandı. 435 mililitre deiyonize su, 15 mililitre Yıkama Tamponu konsantresi (30X) ile 500 mililitrelik cam şişede seyreltildi. Seyreltilen yıkama tamponu buzdolabında saklanmak üzere kaldırıldı.

3.5.4.2. Yöntemin Uygulanışı

1. Testte kullanılacak 8-kuyulu şerit sayısı hazırlandı.
2. Serum örnekleri oda sıcaklığında 10-20 dakika bekletildi. 2000-3000 rpm hızında 20 dakika santrifüjden sonra süpernatant atıldı. Çökelme görüldüğünde santrifüj tekrarlandı.
3. Kontrol kuyularına 50 µl Standart ve 50 µl Str-HRP konjugat reaktifi eklendi. Test kuyularına 40 µl Örnek, üzerine 10 µl PI3K-antikör ve 50 µl Str-HRP konjugat reaktifi eklendi. Plate yapışkan bantla kapatıldı, karışmanın sağlanması için plate'in bir tarafından hafifçe vuruldu. 37°C'de 1 saat inkübe edildi.
4. Plate içinde bulunan solüsyon kuyulardan boşaltıldı ve aspire edildi. Kuyular 3 defa 0,35 mililitre Yıkama çözeltisi ile 1-2 dakika bekletilerek yıkandı. Gerekli takdirde bu işlem tekrarlandı.
5. Her kuyucuğa 50 µl Kromojen çözeltisi A, daha sonra 50 µl Kromojen çözeltisi B eklendi. Yavaşça karıştırıldı ve ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe edildi.
6. Her kuyucuğa reaksiyonu durdurmak için 50 µl Durdurucu Solüsyon eklendi ve plate'in bir tarafından karıştırmak için hafifçe vuruldu. Böylece kuyulardaki sıvının rengi maviye dönecektir. Asitin etkisiyle de renk sarı olacaktır. Sonucunda renk yoğunluğu ve örneğin Hu PI3K konsantrasyonu pozitif korelasyon göstermelidir.
7. Durdurucu solüsyonu ekledikten sonra 15 dakika içerisinde "Thermo Electron Multiskan Spectrum" cihazı ile 450 nm dalga boyunda her kuyunun absorbansı ölçüldü.
8. Standartların konsantrasyonuna ve karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal denklemi hesaplandı. Ardından karşılık gelen örneğin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerleri regresyon denklemine uygulandı. Standart konsantrasyon yatay, OD değeri dikey olarak alındı.
9. Standart eğri grafik kağıdına çizilir. Örnek OD değerine karşılık gelen yoğunluk, örnek eğrisine göre bulunur (sonuç örnek yoğunluğudur) veya standart eğrinin düz çizgi regresyon denklemi standart yoğunluk ve örnek yoğunluğu bulunarak denklemdeki örnek OD değeri ile hesaplandı.

3.5.4.3. Standart Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Aşağıdaki veri 0,25-70 ng/ml Hu PI3K analiz aralığındaki çeşitli standartlardan elde edildi (Tablo 3-8).

Tablo 3-8 : Standartların optik yoğunluk değerleri

Standart PI3K (ng/ml)	Optik yoğunluk (450 nm)
40	2,348
	2,299
20	1,470
	1,440
10	0,763
	0,808
5	0,325
	0,288
2,5	0,200
	0,197

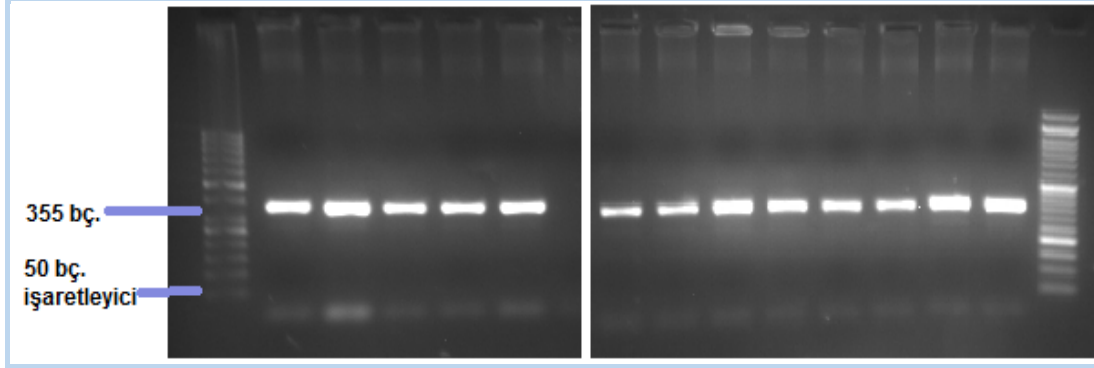
3.5.5. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmanın istatistiksel analizlerini belirlemek amacıyla 20.0 SPSS paket programı kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak alındı. Genotip ve allelerin görülme sıklığının, gruplar arası farklılıkların, genotipler ile klinik parametreler arasındaki olası ilişkinin belirlenmesinde de Ki kare (χ^2) testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. PIK3CA (C>A) PZR Ürünlerine Ait Bulgular

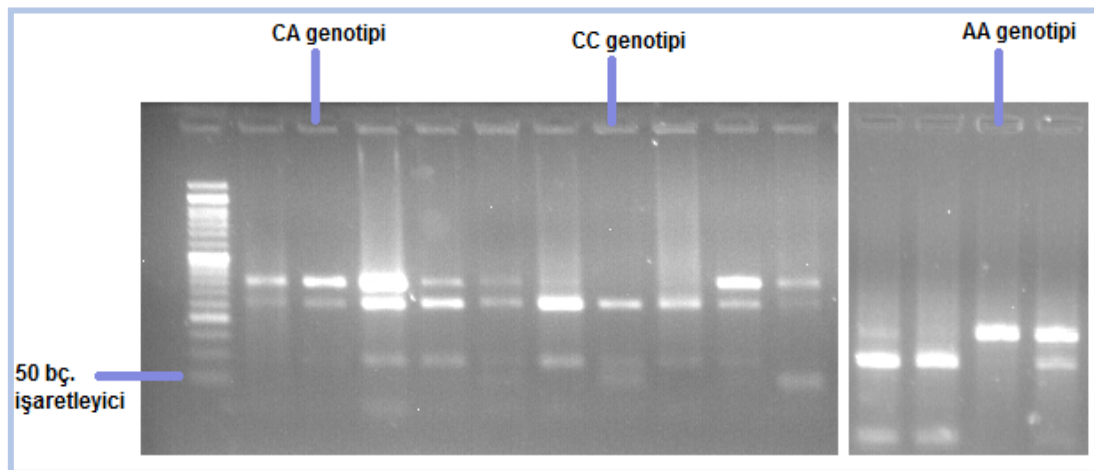
PIK3CA gen bölgesine ait polimorfizmin PZR ürünleri hazırlanan %2'lik agaroz jel üzerinde yürütüldü. İlgili polimorfizmin agaroz jel görüntüsünde 355 bç'lik özgül PZR ürününün bantları elde edilmiştir (Şekil 4-1).



Şekil 4-1: PIK3CA (C>A) PZR ürün bulgularının %2'lik agaroz jel görüntüleri

4.2. PIK3CA (C>A) Kesim Ürünlerine Ait Bulgular

PIK3CA gen varyantı PZR ürününün %2'lik agaroz jelde kontrolü sağlandıktan sonra AluI enzimi ile kesimi 16 saatte tamamlanmıştır. Kesim sonucu elde edilen ürünler, %2'lik agaroz jel elektroforez yöntemiyle jel görüntüleri elde edilmiş ve incelenmiştir. Homozigot CC genotipinde 262, 93 bç olmak üzere iki bant, heterozigot CA genotipinde 355, 262, 93 bç olmak üzere üç bant gözlenirken; AA genotipinde ise 355 bç'de tek bant gözlenmiştir (Şekil 4-2).



Şekil 4-2: PIK3CA (C>A) kesimlerine ait bulguların %2'lik agaroz jel görüntüleri

4.3. İstatistiksel Analiz Sonrasında Elde Edilen Bulgular

Çalışmaya dahil edilen meme kanserli hasta ve kontrol grubu arasında yaş, sigara, alkol kullanımı ve kanser hikayesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Tablo 4-1).

Tablo 4-1: Çalışma gruplarına ait veriler

	<i>Hasta</i>	<i>Kontrol</i>	<i>p değeri</i>
<i>Yaş</i>	47,53±12,56	44±9,49	0,183
<i>Sigara içen (%)</i>	%8,3	%0	1,00
<i>Sigara içmeyen (%)</i>	%91,7	%100	
<i>Ailede kanser var</i>	%33,3	%0	1,00
<i>Ailede kanser yok</i>	%66,7	%100	

n: birey sayısı; tablodaki değerler X±SE olarak verilmiştir; gruplar arası analiz student t testi ve Kikare (χ^2) ile gerçekleştirilmiştir.

PIK3CA rs6443624 gen varyantı sonuçları incelendiğinde CC, CA ve AA genotip frekansları kontrol grubunda sırasıyla %47,5, %45,5 ve %6,9; hasta grubunda ise %59, %39,3 ve %1,6 oranında saptanmıştır. Genotip dağılımı açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: Meme kanserli hastalarda *PIK3CA* (C>A) gen polimorfizmlerine ait genotip ve allel dağılımları

	<i>Hasta (n; %)</i>	<i>Kontrol (n; %)</i>	<i>p değeri</i>
CC	(24) %59	(48) %47,5	0,129
CA	(36) %39,3	(46) %45,5	
AA	(1) %1,6	(7) %6,9	
C Alleli	(84) %68,85	(142) %70,29	$\chi^2 = 0,075$ $p=0,783$
A Alleli	(38) %31,14	(60) %29,70	

n: birey sayısı; gruplar arası farklılık Kikare (χ^2) ile incelenmiştir. *: $p < 0,05$

PIK3CA gen varyantı için seçilen meme kanserli hastalarda ailede kanser hikayesi düşük oranda (%33,3) tespit edilmiştir. Tümör tipi açısından bir değerlendirme yapıldığında meme kanserli hastalarda invaziv duktal karsinomlar (%82,6) oranında diğer sınıflamalar ise (%17,3) oranında gözlenmiştir. Meme kanserli hastaların %29,2'sinin T1, %41,7'sinin T2, %12,5'sinin T3 ve %16,7'sinin T4 tümör evresinde olduğu tespit edilmiştir. Lenf nodu tutulumu açısından incelendiğinde; hastaların %42,9'unda lenf tutulumu saptanmamış olup %57,1'inde lenf nodu tutulumu pozitif olarak gözlenmiştir. Ayrıca meme kanserli hastaların %63,6'sının premenopoz, %36,4'nün postmenopoz döneminde oldukları belirlenmiştir (Tablo 4-3).

Tablo 4-3: PIK3CA C>A gen polimorfizmi ile hastaların klinik, prognostik parametrelerinin değerlendirilmesi

<i>Histopatolojik özellikler</i>		n (%)	
<i>Ailede kanser hikayesi</i>	<i>Var</i>	9 (33,3)	
	<i>Yok</i>	18 (66,7)	
<i>Tümör tipi</i>	<i>İnvaziv duktal</i>	19 (82,6)	
	<i>İn situ duktal</i>	3 (4,3)	
	<i>Müsinöz</i>	1 (13,0)	
<i>Tümör derecesi</i>	<i>T1 ve T2</i>	17 (70,8)	
	<i>T3 ve T4</i>	7 (29,2)	
<i>Lenf nodu metastazı</i>	<i>N0</i>	15 (42,9)	
	<i>N+</i>	20 (57,1)	
<i>İnvazyon</i>	<i>Anjiyolenfatik</i>	<i>(-)</i>	16 (66,7)
		<i>(+)</i>	8 (33,3)
	<i>Kapsüler</i>	<i>Var</i>	6 (26,1)
		<i>Yok</i>	17 (73,9)

	<i>Lenfovasküler</i>	<i>Var</i>	15 (51,7)
		<i>Yok</i>	14 (48,3)
	<i>Perinödal</i>	<i>Var</i>	7 (38,9)
		<i>Yok</i>	11 (61,1)
<i>Komodo</i>	<i>Var</i>		3 (13,0)
	<i>Yok</i>		20 (87,0)
<i>Menopoz durumu</i>	<i>Premenopoz</i>		14 (63,6)
	<i>Postmenopoz</i>		8 (36,4)
<i>Multi Sentrisite</i>	<i>Var</i>		3 (13,0)
	<i>Yok</i>		20 (87,0)
<i>Multi Fokalite</i>	<i>Var</i>		4 (17,4)
	<i>Yok</i>		19 (82,6)
<i>Progesteron Reseptörü</i>	(-)		6 (22,2)
	(+))		21 (77,8)
<i>Östrojen Reseptörü</i>	(-)		3 (9,1)
	(+))		30 (90,9)
<i>cerb B</i>	(-)		21 (72,4)
	(+++)		8 (27,6)
<i>Tümör nekrozu</i>	<i>Var</i>		7 (30,4)
	<i>Yok</i>		15 (69,6)
<i>Uzak metastaz</i>	<i>Var</i>		10 (27,0)
	<i>Yok</i>		27 (73,0)

PIK3CA C>A meme kanserli hastalarda, genotip ve allel dağılımları hastaların histopatolojik bulgularına göre değerlendirildiğinde tümör evresi, uzak metastaz, nod metastaz varlığı, östrojen reseptörü, progesteron reseptörü gibi prognostik verilerle genotip ve allel frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bulguya rastlanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4-4), (Tablo 4-5).

Tablo 4-4 : *PIK3CA* C>A gen polimorfizmi ve genotip dağılımlarının hastaların klinik, prognostik parametreleri ile değerlendirilmesi

<i>Histopatolojik özellikleri</i>		<i>PIK3CA C>A genotipleri</i>			
		<i>n (%100)</i>			
		CC	CA	AA	
<i>Ailede meme kanseri</i>	<i>Var</i>	2 (33,3)	4 (66,7)	0 (0,0)	
	<i>Yok</i>	8 (38,1)	12 (57,1)	1 (4,8)	
<i>Ailede kanser hikayesi</i>	<i>Var</i>	3 (33,3)	6 (66,7)	0 (0,0)	
	<i>Yok</i>	7 (38,9)	10 (55,6)	1 (5,6)	
<i>Tümör tipi</i>	<i>İnvaziv duktal</i>	8 (42,1)	10 (52,6)	1 (5,3)	
	<i>İn situ duktal</i>	0 (0,0)	3 (100,0)	0 (0,0)	
	<i>Müsinöz</i>	0 (0,0)	1 (100,0)	0 (0,0)	
<i>Tümör derecesi</i>	<i>T1 ve T2</i>	6 (35,3)	10 (58,8)	1 (5,9)	
	<i>T3 ve T4</i>	2 (28,6)	5 (71,4)	0 (0,0)	
<i>Lenf nodu metastazı</i>	<i>N0</i>	6 (40,0)	8 (53,3)	1 (6,7)	
	<i>N+</i>	9 (45,0)	11 (55,0)	0 (0,0)	
<i>İnvazyon</i>	<i>Kapsüler</i>	<i>Var</i>	2 (33,3)	4 (66,7)	0 (100,0)
		<i>Yok</i>	6 (35,3)	10 (58,8)	1 (5,9)
		<i>(-)</i>	6 (37,5)	9 (56,3)	1 (6,3)
		<i>(+)</i>	3 (42,9)	4 (57,1)	0 (0,0)
	<i>Lenfovasküler</i>	<i>Var</i>	6 (40,0)	8 (53,3)	1 (6,7)
		<i>Yok</i>	6 (42,9)	8 (57,1)	0 (0,0)

	<i>Perinödal</i>	<i>Var</i>	3 (42,9)	4 (57,1)	0 (0,0)
		<i>Yok</i>	3 (27,3)	7 (63,6)	1 (9,1)
Komedo		<i>Var</i>	1 (33,3)	2 (66,7)	0 (0,0)
		<i>Yok</i>	6 (30,0)	13 (65,0)	1 (5,0)
Menopoz durumu		<i>Premenopoz</i>	4 (28,6)	10 (71,4)	0 (0,0)
		<i>Postmenopoz</i>	5 (62,5)	2 (25,0)	1 (12,5)
Multi Sentrisite		<i>Var</i>	0 (0,0)	3 (100,0)	0 (0,0)
		<i>Yok</i>	7 (35,0)	12 (60,0)	1 (5,0)
Multi Fokalite		<i>Var</i>	1 (25,0)	3 (75,0)	0 (0,0)
		<i>Yok</i>	6 (31,6)	12 (63,2)	1 (5,3)
Progesteron Reseptörü		(-)	5 (83,3)	1 (16,7)	0 (0,0)
		(+)	9 (42,9)	11 (52,4)	1 (4,8)
Östrojen Reseptörü		(-)	2 (66,7)	1 (33,3)	
		(+)	12 (40,0)	18 (60,0)	
ERPR		<i>ER+PR+</i>	2 (20,0)	7 (70,0)	1 (10,0)
		<i>Diğerleri</i>	1 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
		<i>ER-PR-</i>	1 (100,0)	0 (0,0)	
		<i>Diğerleri</i>	2 (40,0)	3 (60,00)	
cerb B		(-)	5 (23,8)	15 (71,4)	1 (4,8)
		(+++)	5 (62,5)	3 (37,5)	0 (0,0)
Tümör nekrozu		<i>Var</i>	3 (42,9)	4 (57,1)	0 (0,0)
		<i>Yok</i>	3 (20,0)	11 (73,3)	1 (6,7)
Uzak metastaz		(-)	10 (37,0)	16 (59,3)	1 (3,7)
		(+)	7 (70,0)	3 (30,0)	0 (0,0)

n: birey sayısı; gruplar arası farklılık Kikare (χ^2) ile incelenmiştir. *: $p < 0,05$

Tablo 4-5: Meme kanserli hasta ve kontrol gruplarında PIK3CA C>A polimorfizmi allel dağılımı ve hastaların klinik, prognostik parametrelerinin değerlendirilmesi

Histopatolojik özellikler		C alleli n (%)			A alleli n (%)		
		CC+CA	AA	p değeri	AA+CA	CC	p değeri
Tümör derecesi	T1 ve T2	16 (94,1)	1 (5,9)	1,00	11 (64,7)	6 (35,3)	1,00
	T3 ve T4	7 (100)	-		5 (71,4)	2 (28,6)	
Uzak metastaz	(-)	26 (96,3)	1 (3,7)	1,00	17 (63,0)	10 (37,0)	0,136
	(+)	10 (100)	-		3 (30,0)	7 (70,0)	
Lenf nodu metastazı	N0	14 (93,3)	1 (6,7)	0,429	9 (60,0)	6 (40,0)	0,767
	N+	20 (100)	-		11 (55,0)	9 (45,0)	
Progesteron Reseptörü	(-)	6 (100)	-	1,00	1 (16,7)	5 (83,3)	0,165
	(+)	20 (95,2)	1 (4,8)		12 (57,1)	9 (42,9)	
Östrojen Reseptörü	(-)	3 (100)	-	-	1 (33,3)	2 (66,7)	0,561
	(+)	30 (100)	-		18 (60,0)	12 (40,0)	
Tümör nekrozu	Var	7 (100)	-	1,00	4 (57,1)	3 (42,9)	0,626
	Yok	14 (93,3)	1 (6,7)		12 (80,0)	3 (20,0)	

n:birey sayısı; gruplar arası analiz student t testi ve Kikare (χ^2) testi ile gerçekleştirilmiştir.

Meme kanserli hastalarda, serum PI3K düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında meme kanserli hastaların PI3K serum düzeyleri ($1,188\pm 0,743$) kontrol grubuna göre ($0,910\pm 0,574$) daha yüksek oranda saptanmış olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,033$) (Tablo 4-6). Ancak çalışmamız sonucunda PIK3CA C>A allel frekansları ve serum PI3K düzeyleri arasında anlamlı bir bulguya rastlanmamıştır (Tablo 4-7).

Tablo 4-6: Meme kanserli hasta ve kontrol grubunda serum PI3K düzeyleri (ng/ml)

Grup	n	Ortalama değer	
		Standart sapma (ng/ml)	p değeri
Meme kanserli hasta	43	1,188±0,743	0,033
Kontrol	62	0,910±0,574	

Tablodaki değerler $X \pm SE$ (Standard Hata) olarak verilmiştir.

Çalışma grupları arasında düzey karşılaştırılması Mann-Whitney U analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4-7: Meme kanserli hasta ve kontrol gruplarında PIK3CA C>A polimorfizmi allel dağılımı ve serum PI3K düzeyleri (ng/ml)

GENOTİP/ ALLEL	HASTA			KONTROL		
	n	Serum düzeyi (ng/ml)	p değeri	n	Serum düzeyi (ng/ml)	p değeri
AA				3	0,801±0,072	0,739
CA+CC	43	1,18±0,74		59	0,91±0,588	
CC	22	1,22±0,94	0,736	34	0,858±0,55	0,440
CA+AA	21	1,14±0,46		28	0,97±0,60	

Tablodaki değerler $X \pm SE$ (Standard Hata) olarak verilmiştir.

Meme kanserli hastalarda *PIK3CA*; C ve A allelleri ve serum PI3K düzeyleri hastalık parametreleri ile birlikte değerlendirildiğinde tümör evresi, uzak metastaz, nod metastaz varlığı, progesteron reseptörü, östrojen reseptörü gibi parametrelerle aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir bulgu saptanmamıştır ($p > 0,05$).

5. TARTIŞMA

PI3K/AKT/mTOR proto-onkogenlerindeki genetik değişiklikler, kritik hücreyel fonksiyonlarını etkileyip ve kanser riskini artırabilmektedir (118). *PIK3CA*'nın ise birçok malign tümörde rol oynadığı gösterilmiş ve mutasyonları sıklıkla endometriyum ve meme kanseri ile ilişkili bulunmuştur. *PIK3CA*, 34 kb uzunluğunda 3q26.3 kromozom üzerindedir; 1068 amino asidi kodlar ve 124 kDa protein kodlayan 20 ekzonu bulunmaktadır (6).

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), insan genomunun en sık görülen varyasyon tipini temsil etmekte olup, bazı durumlarda protein yapısını ve fonksiyonunu değiştirebilmekte ve böylece kanser de dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara yatkınlığı etkileyebilmektedir (10). Çalışmamızda PI3K sinyal yolağında yer alan *PIK3CA* (rs6443624) genetik varyasyonu ve serum ifadesinin meme kanserinde klinik ve prognostik parametrelerle olan ilişkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Lacey ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmada rs6443624 varyantı ile endometriyum kanseri arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır (119).

Wang ve arkadaşlarının, 115 endometriyum kanserli hasta ve 230 kadın kontrol bireyini kapsayan çalışmalarında, endometriyum kanser risk ve klinik sonuçlarını değerlendirmişlerdir. Araştırmaya dahil edilen katılımcıların; %76,2'si Hispanik olmayan beyazlar, %8,7'si Afrika kökenli Amerikalı, %14,8'i Meksika kökenli Amerikalı bireylerdir. Tüm olgular cerrahi tedaviden sonra ölüm, hastalık nüksü açısından takip edilmiştir. Çalışmada toplam 48 SNP incelenmiştir. *PIK3CA* lokusu (rs6443624 ve rs9838411) arasında endometriyum kanser riski açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (120).

Aynı çalışmada *PIK3CA* intronunda yer alan üç SNP'nin (rs6443624, rs9838411 ve rs2699887), kanser gelişimi ve oluşumunda önemli rol oynayan endometriyum kanser riski, sağkalım veya nüks ile önemli ölçüde ilişkili olduğu bulunmuştur. Sonuçlar endometriyum kanserinin başlaması ve ilerlemesinde *PIK3CA* geninin farklı biyolojik rolleri nedeniyle, endometriyum kanser hastalık riski ve nüksü üzerinde değişik etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Araştırma sonuçlarının, *PIK3CA* geninde üç SNP'nin (rs6443624, rs9838411 ve rs2699887) endometriyum kanser duyarlılığı, sağkalım veya

nüks açısından değerlendirilmesi açısından örneklem sayısı büyük, kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (120).

İran popülasyonunda *PIK3CA*, AKT1 ve mTOR polimorfizmleri ile mesane kanserine duyarlılık arasındaki olası ilişkiyi değerlendirmeyi amaçlayan Bizhani ve arkadaşları, 235 mesane kanseri 254 sağlıklı bireyi kapsayan çalışmalarında *PIK3CA* rs6443624 C>A gen varyasyonu ile mesane kanseri riski arasında istatistiksel olarak anlamlılık rapor edilmiştir ($p<0,0001$) (118).

Slattey ve arkadaşları çalışmalarında; meme kanseriyle bağlantılı merkezi yolları düzenleyen genlerdeki (NFκB1, NFκB1A, PTEN, TSC1, TSC2, STK11, RPS6KA2, İKBKB, mTOR, PDK2, *PIK3CA*, PRKAA1, PRKAG2) birçok varyasyonun, karma popülasyon gruplarında meme kanseri riskini farklı şekilde etkileyebileceği düşüncesinden yola çıkarak meme kanseri riskinde etnik köken farklılıklarının biyolojik temellerini araştırmayı hedefleyen çalışmalarında çeşitli popülasyonlardaki meme kanseri insidans oranlarındaki farklılıkların kısmen biyolojik faktörlerdeki değişikliklerden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir (121).

Wang ve arkadaşları, *PI3KCA* geni varyantı rs6443624 ile meme kanseri riski ve hastaların yaşam süresi arasındaki ilişkiyi 328 meme kanserli hasta ve 389 kontrol grubunda araştırmış buna göre *PI3KCA* rs6443624'ün, meme kanseri riski ve A allelinin ileri tümör evresiyle ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Bu polimorfizmin sağlıklı kontrol ve meme kanserli gruplardaki CC, AC ve AA genotip dağılımları sırasıyla %24,9, %48,6, %26,5; %17,7, %45,7, %36,6 olarak bildirmişlerdir (122). Çalışmamızda ise meme kanserli hasta ve kontrol grubunda sırasıyla %59, %39,3 %1,6 ve %47,5, %45,5 ve %6,9 oranında gözlenmiş olup, *PIK3CA* gen varyasyonunun gerek klinik gerekse histolojik parametreler ile arasında istatistiksel bir anlamlılık saptanmamıştır.

Yang ve arkadaşlarına göre, ileri özafagus skuamöz hücreli karsinom (ESCC) hastaların sağkalımı üzerinde *PIK3CA* geni rs6443624 C>A değişimlerinin, anlamlı bir etkisi bulunmamıştır ($p=0,216$). Çalışmada, ileri ESCC'li hastaların prognozunda *PIK3CA* rs6443624 gen polimorfizminin büyüme faktörü genleriyle olan ilişkisi ve ileri evre ESCC'li hastalarda, aday SNP'lerin sağkalım üzerine etkisi incelenmiştir. Bazı genlerin *PIK3CA* ile kümülatif bir etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir (123).

Kemoradyoterapi ile tedavi edilen özofagus kanseri hastalarında Hildebrant ve arkadaşları, PI3K/PTEN/AKT/mTOR yolu üzerindeki genetik varyasyonların klinik sonuçlarını araştırmış, ilgili varyasyonların hayatta kalma süresini 12 aydan 42 aya kadar değiştirebileceğini bildirmişlerdir (124).

Wan, Li ve arkadaşlarının çalışmasında, oral skuamöz hücreli karsinom (OSCC) hastalarda *PIK3CA* ekspresyonu araştırılmış ve tümör dokularında *PIK3CA*'nın gen ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Elde edilen bulguların; kolorektal kanserli, özofagus skuamöz hücreli karsinom, baş boyun skuamöz hücreli karsinomlu ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastalarının tümör dokularında önceki araştırmalara uygun olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada OSCC hastalarında, *PIK3CA* ekspresyonu araştırılmış ancak incelenen *PIK3CA* rs6443624 polimorfizmi ve oral skuamöz hücreli karsinom arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. AA, AC ve CC genotip frekansları sağlıklı kontrol ve kanserli hastalarda sırasıyla 0,005, 0,158, 0,837; 0,009, 0,142, 0,850; A ve C alleleri arasında sırasıyla 0,084, 0,916; 0,080, 0,920 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak tümör dokularında *PIK3CA*'nın önemli ölçüde daha yüksek bir gen ekspresyonu gösterdiği tespit edilmiş ancak *PIK3CA* polimorfizmleri ile OSCC riski arasında anlamlı bir bulguya rastlanmamıştır. Çalışmada cinsiyet, yaş, sigara kullanımı gibi klinik parametrelere ilişkin dağılım analizlerinde önemli bir fark gözlenmemiştir (125).

Son çalışmalar, *PIK3CA*'nın PDK1'i aktive etmek için PIP3'ü uyarabileceğini göstermektedir. AKT'yi hücre zarına bağlayan ve aktif PDK1 ile aktivasyonuna izin veren PIP3 içeriğinin düzenlenmesiyle aktif hale gelen AKT; tümör hücrelerinin çoğalmasına, hayatta kalmasına, metastazına, hücre apoptozunun inhibe edilmesine, hatta onkogenik transformasyona katkıda bulunmaktadır. Bu veriler artan *PIK3CA* ekspresyonunun AKT'nin daha fazla aktivasyonu ile sonuçlanabileceğini öne sürmektedir (125).

Bodnar ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, renal hücreli karsinom tespit edilmiş 58 hasta örneğinde moleküler analizler yapılmıştır. AC, AA genotipi taşıyan hastalar CC genotipi taşıyan hastalara kıyasla ileri tümör evresi açısından iki kat daha riskli bulunmuştur. Ayrıca aynı araştırmada A allelini taşıyan kişilerde CC genotipli bireylere kıyasla ölüm riskinde iki kat artış saptanmıştır (126).

Cebrián ve arkadaşları 2017 yılında yayınlanan sunitinibin etki şeklini incelemek ve metastatik renal hücreli karsinom için immün yanıtı bağlı genlerdeki tek nükleotid polimorfizmlerini biyobelirteçler olarak analiz etmek ve daha sonra alternatif tedavide kullanmak amaçlı Kafkas ırkında yapılan çalışmalarında; *PIK3CA* geni intron varyantı rs6443624 C/A, birinci basamak sunitinib tedavisi alan toplam 75 metastatik renal hücreli karsinom hastasında; analiz edilmiş bu polimorfizmlerin uygunluğunun diğer etnik gruplarda değerlendirilmesi gerektiği ve sonuçların validasyonu için farmakokinetik çalışmalara ihtiyaç duyulduğu kanısına varılmıştır (127).

Türk toplumunda *PIK3CA*; C>A gen varyasyonu ve PI3K serum düzeylerinin birlikte incelendiği çalışmamızda, yapılan analiz sonucunda genotip ve allel dağılımları ve meme kanseri riski, klinik ve prognostik veriler arasında anlamlı bir bulguya rastlanmamış ancak PI3K serum düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek oranda tespit edilmiş olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Ayrıca Kordi-Tamandani ve arkadaşları, PI3K/AKT sinyal yolağının merkezi sinir sisteminin gelişimi ve işlevinde etkili olduğunu belirtmişlerdir. Anormal PI3K sinyali, şizofreni ve otizm gibi psikiyatrik bozuklukların patofizyolojisinde bir faktör olarak tanımlanmıştır. Bu nedenle de bu yolak; psikiyatrik bozukluklarda beyin gelişimi ve nöro-dejenerasyon ile ilişkili görülmüştür. Araştırmacılar 108 şizofreni hastası ve 108 sağlıklı kontrol grubunda *PIK3CA* geni üzerindeki 3 farklı SNP'nin (rs6443624 ve diğerleri) genotip analizini yapmışlardır. Buna göre rs6443624 A/C polimorfizmi ile şizofreni arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$). AA, AC ve CC hasta ve kontrol genotipleri arasında sırasıyla %6,48, %92,69, %0,92; %10,18, %87,96, %1,85 olarak bildirilmiştir. Sınırlı sayıda çalışmanın olmasından dolayı *PIK3CA* geninin şizofreni gelişimindeki kesin rolünün keşfinde ileri araştırmalara, daha geniş örneklem sayısına ve farklı populasyonlarda yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (128).

Sonuç olarak;

Çalışmamız Türk popülasyonunda *PIK3CA* intron bölgesi C>A gen polimorfizmindeki genotip ve allel frekanslarının, serum PI3K düzeylerinin araştırıldığı ve hastalığın klinik ve prognostik parametreleri ile bir arada değerlendirildiği ilk çalışmadır. *PIK3CA* gen polimorfizmi sonuçlarına bakıldığında, *PIK3CA* geni polimorfizmi rs6443624 genotip ve allel dağılımları açısından meme kanserli hasta ile kontrol grubumuz arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Meme kanserli hastalarda, *PIK3CA* C>A gen polimorfizmi klinik ve prognostik verilerle birlikte değerlendirildiğinde; genotip dağılımı ve allel frekansları ile hasta grubumuzun yaş, ailede kanser hikayesi, sigara, alkol kullanımı parametreleri arasında istatistiksel açılarından anlamlılık mevcut değildi. Ayrıca tümör evresi, lenf nodu tutulumu, uzak metastaz gibi prognostik parametreler açısından da herhangi bir anlamlı bulguya rastlanmamıştır.

Araştırmamız sonucunda meme kanserli hastalarda serum PI3K düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek oranda tespit edilmiş olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. *PIK3CA* genotip ve allel dağılımlarına göre klinik ve prognostik hastalık parametreleri serum PI3K düzeyleri ile birlikte değerlendirildiğinde anlamlı bir veriye rastlanmamıştır.

Çalışmamız sonucunda serum PI3K düzeylerinin meme kanseri riskinde rol oynayabileceği ve *PIK3CA*; C>A gen polimorfizminin daha büyük örneklem gruplarında değerlendirilmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Sun YS, Zhao Z, Yang ZN, Xu F, Lu HJ, Zhu ZY, et al. Risk factors and preventions of breast cancer. *Int J Biol Sci.* 2017;13(11):1387–97.
2. Caunt CJ, Keyse SM. Dual-specificity MAP kinase phosphatases (MKPs): Shaping the outcome of MAP kinase signalling. *FEBS J.* 2013;280(2):489–504.
3. Dankova Z, Zubor P, Grendar M, Kapinova A, Zelinova K, Jagelkova M, et al. Association of single nucleotide polymorphisms in FGF-RAS/MAP signalling cascade with breast cancer susceptibility. *Gen Physiol Biophys.* 2017;36(5):565–72.
4. Dirican E, Akkiprik M, Özer A. Mutation distributions and clinical correlations of PIK3CA gene mutations in breast cancer. *Tumor Biol.* 2016;37(6):7033–45.
5. Yang J, Nie J, Ma X, Wei Y, Peng Y, Wei X. Targeting PI3K in cancer: Mechanisms and advances in clinical trials. *Mol Cancer.* 2019;18(1):1–28.
6. Alqahtani A, Ayesh HSK, Halawani H. PIK3CA gene mutations in solid malignancies: Association with clinicopathological parameters and prognosis. *Cancers (Basel).* 2020;12(1):1–18.
7. J. A. PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors: The ideal combination partners for breast cancer therapies? *Expert Rev Anticancer Ther.* 2014;15(1):51–68.
8. Thorpe LM, Yuzugullu H, Zhao JJ. PI3K in cancer: Divergent roles of isoforms, modes of activation and therapeutic targeting. Vol. 15, *Nature Reviews Cancer.* 2015. p. 7–24.
9. Madsen RR, Vanhaesebroeck B, Semple RK. Cancer-Associated PIK3CA Mutations in Overgrowth Disorders. *Trends Mol Med.* 2018;24(10):856–70.
10. Köberle B, Koch B, Fischer BM, Hartwig A. Single nucleotide polymorphisms in DNA repair genes and putative cancer risk. *Arch Toxicol.* 2016;90(10):2369–88.
11. Lien EC, Dibble CC, Toker A. PI3K signaling in cancer: beyond AKT. *Curr Opin Cell Biol.* 2017;45:62–71.
12. Sever R, Brugge JS. Signal transduction in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015;5(4).
13. Imran A, Qamar HY, Ali Q, Naeem H, Riaz M, Amin S, et al. Role of molecular biology in cancer treatment: A review article. *Iran J Public Health.* 2017;46(11):1475–85.

14. Hemmings BA, Restuccia DF. PI3K-PKB / Akt Pathway. 2016;1–4.
15. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin.* 2020;70(1):7–30.
16. Feng Y, Spezia M, Huang S, Yuan C, Zeng Z, Zhang L, et al. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. *Genes Dis.* 2018;5(2):77–106.
17. Yang X, Wang H, Jiao B. Mammary gland stem cells and their application in breast cancer. *Oncotarget.* 2017;8(6):10675–91.
18. Alkabban FM, Ferguson T. Breast Cancer. [Updated 2020 Aug 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Erişim 02.09.2020, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482286/>
19. World Health Organization (May 2019). *The Global Cancer Observatory.* Erişim 02.09.2020, <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/792-turkey-factsheets.pdf>
20. Nilsson MP, Hartman L, Idvall I, Kristoffersson U, Johannsson OT, Loman N. Long-term prognosis of early-onset breast cancer in a population-based cohort with a known BRCA1/2 mutation status. *Breast Cancer Res Treat.* 2014;144(1):133–42.
21. Deng CX. BRCA1: Cell cycle checkpoint, genetic instability, DNA damage response and cancer evolution. *Nucleic Acids Res.* 2006;34(5):1416–26.
22. Martinez JS, Von Nicolai C, Kim T, Ehlén Å, Mazin A V., Kowalczykowski SC, et al. BRCA2 regulates DMC1-mediated recombination through the BRC repeats. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(13):3515–20.
23. Sánchez H, Paul MW, Grosbart M, Van Rossum-Fikkert SE, Lebbink JHG, Kanaar R, et al. Architectural plasticity of human BRCA2-RAD51 complexes in DNA break repair. *Nucleic Acids Res.* 2017;45(8):4507–18.
24. Chen S, Parmigiani G. Meta- Analysis of BRAC1 and BRAC2 Penetrance. *J Clin Oncol.* 2007;25(11):1329–33.
25. Appert-Collin A, Hubert P, Crémel G, Bennasroune A. Role of ErbB receptors in cancer cell migration and invasion. *Front Pharmacol.* 2015;6(NOV):1–10.
26. Ali R, Wendt MK. The paradoxical functions of EGFR during breast cancer progression. *Signal Transduct Target Ther.* 2017;2(November 2016):1–7.

27. Yarden Y, Pines G. The ERBB network: At last, cancer therapy meets systems biology. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(8):553–63.
28. Dr. Nicolas Rodondi, MD, MAS, Ms. Wendy P. J. den Elzen, MSc, Dr. Douglas C. Bauer, MD, Dr. Anne R. Cappola, MD, ScM, Dr. Salman Razvi, MD, FRCP, Dr. John P. Walsh, MBBS, FRACP, PhD, Dr. Bjørn O. Åsvold, MD, PhD, Dr. Giorgio Iervasi, MD, Dr. Misa Imaizumi P. EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor Reverses Mesenchymal to Epithelial Phenotype and Inhibits Metastasis in Inflammatory Breast Cancer. *Bone*. 2010;23(1):1–7.
29. Kim A, Jang MH, Lee SJ, Bae YK. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in triple-negative breast cancer. *J Breast Cancer*. 2017;20(2):150–9.
30. Davis NM, Sokolosky M, Stadelman K, Abrams SL, Libra M, Candido S, et al. Deregulation of the EGFR/PI3K/PTEN/Akt/mTORC1 pathway in breast cancer: Possibilities for therapeutic intervention. *Oncotarget*. 2014;5(13):4603–50.
31. Elizalde P V., Russo RIC, Chervo MF, Schillaci R. ErbB-2 nuclear function in breast cancer growth, metastasis and resistance to therapy. *Endocr Relat Cancer*. 2016;23(12):T243–57.
32. Secombe J, Li L, Carlos L, Eisenman RN. The Trithorax group protein Lid is a trimethyl histone H3K4 demethylase required for dMyc-induced cell growth. *Genes Dev*. 2007;21(5):537–51.
33. Poole CJ, van Riggelen J. MYC—master regulator of the cancer epigenome and transcriptome. *Genes (Basel)*. 2017;8(5).
34. John R.Giudicessi, BA.Michael J.Ackerman. 2013. MYC in breast tumor progression. *Bone*. 2008;23(1):1–7.
35. Crespo P, León J. Ras proteins in the control of the cell cycle and cell differentiation. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2000.
36. Pylayeva-Gupta Y, Grabocka E, Bar-Sagi D. RAS oncogenes: Weaving a tumorigenic web. *Nature Reviews Cancer*. 2011.
37. Siewertsz van Reesema LL, Lee MP, Zheleva V, Winston JS, O'Connor CF, Perry RR, et al. RAS pathway biomarkers for breast cancer prognosis. *Clin Lab Int*. 2016;40:18–23.
38. Hoenerhoff MJ, Chu I, Barkan D, Liu ZY, Datta S, Dimri GP, et al. BMI1 cooperates with H-RAS to induce an aggressive breast cancer phenotype with brain metastases. *Oncogene*. 2009;28(34):3022–3032.

39. Fernández-Medarde A, Santos E. Ras in cancer and developmental diseases. *Genes and Cancer*. 2011.
40. Ray A, Ray BK. Induction of Ras by SAF-1/MAZ through a feed-forward loop promotes angiogenesis in breast cancer. *Cancer Med*. 2015;4(2):224–34.
41. Easton DF. The inherited component of cancer. *Br Med Bull*. 1994;50(3):527–35.
42. Nevanlinna H, Bartek J. The CHEK2 gene and inherited breast cancer susceptibility. *Oncogene*. 2006;25(43):5912–9.
43. Apostolou P, Papatotiriou I. Current perspectives on CHEK2 mutations in breast cancer. *Breast Cancer Targets Ther*. 2017;9:331–5.
44. Xia B, Sheng Q, Nakanishi K, Ohashi A, Wu J, Christ N, et al. Control of BRCA2 Cellular and Clinical Functions by a Nuclear Partner, PALB2. *Mol Cell*. 2006;22(6):719–29.
45. Manuscript A. PALB2 Links BRCA1 and BRCA2 in the DNA-Damage Response. *Encycl Cancer*. 2011;19(6):2758–9.
46. Tischkowitz M, Xia B. PALB2/FANCN: Recombining cancer and fanconi anemia. *Cancer Res*. 2010;70(19):7353–9.
47. Eng C. Cowden syndrome. *J Genet Couns*. 1997;6(2):181–92.
48. Marsh DJ, Coulon V, Lunetta KL, Rocca-Serra P, Dahia PLM, Zheng Z, et al. Mutation spectrum and genotype-phenotype analyses in Cowden disease and Bannayan-Zonana syndrome, two hamartoma syndromes with germline PTEN mutation. *Hum Mol Genet*. 1998;7(3):507–15.
49. M M de Jong, I Nolte, G J te Meerman, W T A van der Graaf, J Oosterwijk, J Kleibeuker, M Schaapveld and EGE de V. Genes other than BRCA1 and BRCA2 involved in breast cancer susceptibility. *J Med Genet*. 2012;(3).
50. Feilotter HE, Coulon V, McVeigh JL, Boag AH, Dorion-Bonnet F, Duboué B, et al. Analysis of the 10q23 chromosomal region and the PTEN gene in human sporadic breast carcinoma. *Br J Cancer*. 1999;79(5–6):718–23.
51. Perren A, Weng LP, Boag AH, Ziebold U, Thakore K, Dahia PLM, et al. Immunohistochemical evidence of loss of PTEN expression in primary ductal adenocarcinomas of the breast. *Am J Pathol*. 1999;155(4):1253–60.
52. Libson S, Lippman M. A review of clinical aspects of breast cancer. *Int Rev Psychiatry*. 2014;26(1):4–15.
53. Polyak K. Breast cancer : origins and evolution. *Cell*. 2007;117(11):3155–63.

54. Kamińska M, Ciszewski T, Łopacka-Szatan K, Miotła P, Starosławska E. Breast cancer risk factors. *Prz Menopauzalny*. 2015;14(3):196–202.
55. Makarem N, Chandran U, Bandera E V., Parekh N. Dietary Fat in Breast Cancer Survival. *Annu Rev Nutr*. 2013;33(1):319–48.
56. Knight JA, Fan J, Malone KE, John EM, Lynch CF, Langballe R, et al. Alcohol consumption and cigarette smoking in combination: A predictor of contralateral breast cancer risk in the WECARE study. *Int J Cancer*. 2017;141(5):916–24.
57. Catsburg C, Miller AB, Rohan TE. Active cigarette smoking and risk of breast cancer. *Int J Cancer*. 2015;136(9):2204–9.
58. Ma L, Liang Z, Zhou H, Qu L. Applications of RNA Indexes for Precision Oncology in Breast Cancer. *Genomics, Proteomics Bioinforma*. 2018;16(2):108–19.
59. Allison KH. Molecular pathology of breast cancer: What a pathologist needs to know. *Am J Clin Pathol*. 2012;138(6):770–80.
60. Prat A, Parker JS, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz JI, et al. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2010;12(5).
61. Presti D, Qua Quarini E. The PI3K/AKT/mTOR and CDK4/6 pathways in endocrine resistant HR+/HER2- metastatic breast cancer: Biological mechanisms and new treatments. *Cancers (Basel)*. 2019;11(9).
62. Zardavas D, Phillips WA, Loi S. PIK3CA mutations in breast cancer: Reconciling findings from preclinical and clinical data. *Breast Cancer Res*. 2014;16(1):1–10.
63. Sobhani N, Roviello G, Corona SP, Scaltriti M, Ianza A, Bortul M, et al. The prognostic value of PI3K mutational status in breast cancer: A meta-analysis. *J Cell Biochem*. 2018;119(6):4287–92.
64. Curigliano G, Shah RR. Safety and Tolerability of Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) Inhibitors in Oncology. *Drug Saf*. 2019;42(2):247–62.
65. Vasan N, Toska E, Scaltriti M. Overview of the relevance of PI3K pathway in HR-positive breast cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2019;30(10):x3–11.
66. Liu P, Cheng H, Roberts TM, Zhao JJ. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2009.

67. Cantley LC, Neel BG. New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(8):4240–5.
68. Mills JN, Rutkovsky AC, Giordano A. Mechanisms of resistance in estrogen receptor positive breast cancer: overcoming resistance to tamoxifen/aromatase inhibitors. *Curr Opin Pharmacol*. 2018;41:59–65.
69. Yang J, Nie J, Ma X, Wei Y, Peng Y, Wei X. Targeting PI3K in cancer: Mechanisms and advances in clinical trials 06 Biological Sciences 0601 Biochemistry and Cell Biology. *Mol Cancer*. 2019;18(1):1–28.
70. Estévez LG, García E, Hidalgo M. Inhibiting the PI3K signaling pathway: buparlisib as a new targeted option in breast carcinoma. *Clinical and Translational Oncology*. 2016.
71. Lui A, New J, Ogony J, Thomas S, Lewis-Wambi J. Everolimus downregulates estrogen receptor and induces autophagy in aromatase inhibitor-resistant breast cancer cells. *BMC Cancer*. 2016;16:487.
72. Hennessy BT, Smith DL, Ram PT, Lu Y, Mills GB. Exploiting the PI3K/AKT pathway for cancer drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2005. p. 988–1004.
73. Li T, Wang G. Computer-aided targeting of the PI3K/Akt/mTOR pathway: Toxicity reduction and therapeutic opportunities. Vol. 15, *International Journal of Molecular Sciences*. 2014. 18856–18891 p.
74. Jean S, Kiger AA. Classes of phosphoinositide 3-kinases at a glance. *J Cell Sci*. 2014;127(5):923–8.
75. Vanhaesebroeck B, Guillermet-Guibert J, Graupera M, Bilanges B. The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2010. p. 329–41.
76. Noorolyai S, Shajari N, Baghbani E, Sadreddini S, Baradaran B. The relation between PI3K/AKT signalling pathway and cancer. *Gene*. 2019;698(February):120–8.
77. Engelman JA, Luo J, Cantley LC. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nature Reviews Genetics*. 2006. p. 606–19.

78. Amzel LM, Huang CH, Mandelker D, Lengauer C, Gabelli SB, Vogelstein B. Structural comparisons of class I phosphoinositide 3-kinases. *Nature Reviews Cancer*. 2008. p. 665–9.
79. Fruman DA, Chiu H, Hopkins BD, Bagrodia S, Cantley LC, Abraham RT. The PI3K Pathway in Human Disease. *Cell*. 2017;170(4):605–35.
80. Kaklamani VG, Richardson AL, Arteaga CL. Exploring Biomarkers of Phosphoinositide 3-Kinase Pathway Activation in the Treatment of Hormone Receptor Positive, Human Epidermal Growth Receptor 2 Negative Advanced Breast Cancer. *Oncologist*. 2019;24(3):305–12.
81. Jackson SP, Schoenwaelder SM, Goncalves I, Nesbitt WS, Yap CL, Wright CE, et al. PI 3-kinase p110 β : A new target for antithrombotic therapy. *Nat Med*. 2005;11(5):507–14.
82. Fung-Leung WP. Phosphoinositide 3-kinase delta (PI3K δ) in leukocyte signaling and function. *Cell Signal*. 2011;23(4):603–8.
83. Gavgani FM, Arnesen VS, Jacobsen RG, Krakstad C, Hoivik EA, Lewis AE. Class I phosphoinositide 3-kinase PIK3CA/p110 α and PIK3CB/p110 β isoforms in endometrial cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018.
84. Vanhaesebroeck B, Waterfield MD. Signaling by distinct classes of phosphoinositide 3-kinases. *Exp Cell Res*. 1999;253(1):239–54.
85. Walker EH, Perisic O, Ried C, Stephens L, Williams RL. Structural insights into phosphoinositide 3-kinase catalysis and signalling. *Nature*. 1999;402(6759):313–20.
86. Miller MS, Thompson PE, Gabelli SB. Structural determinants of isoform selectivity in pi3k inhibitors. *Biomolecules*. 2019.
87. Evans CA, Liu T, Lescarbeau A, Nair SJ, Grenier L, Pradeilles JA, et al. Discovery of a Selective Phosphoinositide-3-Kinase (PI3K)- γ Inhibitor (IPI-549) as an Immuno-Oncology Clinical Candidate. *ACS Med Chem Lett*. 2016;7(9):862–7.
88. Martin AL, Schwartz MD, Jameson SC, Shimizu Y. Selective Regulation of CD8 Effector T Cell Migration by the p110 γ Isoform of Phosphatidylinositol 3-Kinase. *J Immunol*. 2008;180(4):2081–8.
89. Martini M, De Santis MC, Braccini L, Gulluni F, Hirsch E. PI3K/AKT signaling pathway and cancer: An updated review. *Ann Med*. 2014;46(6):372–83.

90. Falasca M, Maffucci T. Role of class II phosphoinositide 3-kinase in cell signalling. *Biochem Soc Trans.* 2007;35(2):211–4.
91. Falasca M, Maffucci T. Regulation and cellular functions of class II phosphoinositide 3-kinases. *Biochem J.* 2012;443(3):587–601.
92. Faes S, Dormond O. PI3K and AKT: Unfaithful partners in cancer. *Int J Mol Sci.* 2015;16(9):21138–52.
93. Mazza S, Maffucci T. Class ii phosphoinositide 3-kinase C2alpha: What we learned so far. *Int J Biochem Mol Biol.* 2011;2(2):168–82.
94. Abe M, Setoguchi Y, Tanaka T, Awano W, Takahashi K, Ueda R, et al. Membrane protein location-dependent regulation by PI3K (III) and Rabenosyn-5 in *Drosophila* wing cells. *PLoS One.* 2009;4(10).
95. Jaber N, Zong WX. Class III PI3K Vps34: Essential roles in autophagy, endocytosis, and heart and liver function. *Ann N Y Acad Sci.* 2013;48–51.
96. Sasaki T, Takasuga S, Sasaki J, Kofuji S, Eguchi S, Yamazaki M, et al. Mammalian phosphoinositide kinases and phosphatases. *Prog Lipid Res.* 2009;48(6):307–43.
97. Brown WJ, DeWald DB, Emr SD, Plutner H, Balch WE. Role for phosphatidylinositol 3-kinase in the sorting and transport of newly synthesized lysosomal enzymes in mammalian cells. *J Cell Biol.* 1995;130(4):781–96.
98. Nobukuni T, Joaquin M, Roccio M, Dann SG, Kim SY, Gulati P, et al. Amino acids mediate mTOR/raptor signaling through activation of class 3 phosphatidylinositol 3OH-kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(40):14238–43.
99. Yang SX, Polley E, Lipkowitz S. New insights on PI3K/AKT pathway alterations and clinical outcomes in breast cancer. *Cancer Treat Rev.* 2016;45:87–96.
100. Engelman JA. Targeting PI3K signalling in cancer: Opportunities, challenges and limitations. *Nature Reviews Cancer.* 2009. p. 550–62.
101. Franke TF, Kaplan DR, Cantley LC, Toker A. Direct regulation of the Akt proto-oncogene product by phosphatidylinositol-3,4-bisphosphate. *Science (80-).* 1997;275(5300):665–8.
102. Stambolic V, Suzuki A, De la Pompa JL, Brothers GM, Mirtsos C, Sasaki T, et al. Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN. *Cell.* 1998;95(1):29–39.

103. Raphael J, Desautels D, Pritchard KI, Petkova E, Shah PS. Phosphoinositide 3-kinase inhibitors in advanced breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2018;91:38–46.
104. Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, Silliman N, Ptak J, Szabo S, et al. High Frequency of Mutations of the PIK3CA Gene in Human Cancers. *Science* (80-). 2004;304:554.
105. Turturro SB, Najor MS, Ruby CE, Cobleigh MA, Abukhdeir AM. Mutations in PIK3CA sensitize breast cancer cells to physiologic levels of aspirin. *Breast Cancer Res Treat*. 2016;156(1):33–43.
106. Keegan NM, Gleeson JP, Hennessy BT, Morris PG. PI3K inhibition to overcome endocrine resistance in breast cancer. *Expert Opin Investig Drugs*. 2018;27(1):1–15.
107. Mukohara T. Pi3k mutations in breast cancer: Prognostic and therapeutic implications. *Breast Cancer Targets Ther*. 2015;7:111–23.
108. Millis SZ, Ikeda S, Reddy S, Gatalica Z, Kurzrock R. Landscape of phosphatidylinositol-3-kinase pathway alterations across 19 784 diverse solid tumors. *JAMA Oncol*. 2016;2(12):1565–73.
109. Karakas B, Bachman KE, Park BH. Mutation of the PIK3CA oncogene in human cancers. *Br J Cancer*. 2006;94(4):455–9.
110. Koren S, Reavie L, Couto JP, De Silva D, Stadler MB, Roloff T, et al. PIK3CAH1047R induces multipotency and multi-lineage mammary tumours. *Nature*. 2015;525(7567):114–8.
111. Croessmann S, Sheehan JH, Lee K min, Sliwoski G, He J, Nagy R, et al. PIK3CA C2 domain deletions hyperactivate phosphoinositide 3-kinase (PI3K), generate oncogene dependence, and are exquisitely sensitive to PI3Ka inhibitors. *Clin Cancer Res*. 2018;24(6):1426–35.
112. Singh P, Dar MS, Dar MJ. p110 α and p110 β isoforms of PI3K signaling: are they two sides of the same coin? *FEBS Lett*. 2016;590(18):3071–82.
113. Wu G, Xing M, Mambo E, Huang X, Liu J, Guo Z, et al. Somatic mutation and gain of copy number of PIK3CA in human breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2005;7(5):609–16.

114. Guerrero-Zotano A, Mayer IA, Arteaga CL. PI3K/AKT/mTOR: role in breast cancer progression, drug resistance, and treatment. *Cancer Metastasis Rev.* 2016;35(4):515–24.
115. Liu X, Xu Y, Zhou Q, Chen M, Zhang Y, Liang H, et al. PI3K in cancer: Its structure, activation modes and role in shaping tumor microenvironment. *Futur Oncol.* 2018;14(7):665–74.
116. Stemke-hale K, Gonzalez-angulo AM, Lluch A, Neve RM, Kuo W, Davies M, et al. An Integrative Genomic and Proteomic Analysis of PIK3CA, PTEN, and AKT Mutations in Breast Cancer. 2009;68(15):6084–91.
117. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988;16.
118. Bizhani F, Hashemi M, Danesh H, Nouralizadeh A, Narouie B, Bahari G, et al. Association between single nucleotide polymorphisms in the PI3K/AKT/mTOR pathway and bladder cancer risk in a sample of Iranian population. *EXCLI J.* 2018;17:3–13.
119. Lacey J V., Yang H, Gaudet MM, Dunning A, Lissowska J, Sherman ME, et al. Endometrial cancer and genetic variation in PTEN, PIK3CA, AKT1, MLH1, and MSH2 within a population-based case-control study. *Gynecol Oncol.* 2011;120(2):167–73.
120. Wang LE, Ma H, Hale KS, Yin M, Meyer LA, Liu H, et al. Roles of genetic variants in the PI3K and RAS/RAF pathways in susceptibility to endometrial cancer and clinical outcomes. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2012;138(3):377–85.
121. Slattery ML, John EM, Torres-Mejia G, Lundgreen A, Herrick JS, Baumgartner KB, et al. Genetic variation in genes involved in hormones, inflammation and energetic factors and breast cancer risk in an admixed population. *Carcinogenesis.* 2012;33(8):1512–21.
122. Wang Y, Zhang H, Lin M, Wang Y. Association of FGFR2 and PI3KCA genetic variants with the risk of breast cancer in a Chinese population. *Cancer Manag Res.* 2018;10:1305–11.
123. Yang PW, Hsieh MS, Huang YC, Hsieh CY, Chiang TH, Lee JM. Genetic variants of EGF and VEGF predict prognosis of patients with advanced esophageal squamous cell carcinoma. *PLoS One.* 2014;9(6).

124. Hildebrandt MAT, Yang H, Hung MC, Izzo JG, Huang M, Lin J, et al. Genetic variations in the PI3K/PTEN/AKT/mTOR pathway are associated with clinical outcomes in esophageal cancer patients treated with chemoradiotherapy. *J Clin Oncol.* 2009;27(6):857–71.
125. Wan X, Li X, Yang J, Lv W, Wang Q, Chen Y, et al. Genetic association between PIK3CA gene and oral squamous cell carcinoma: A case control study conducted in Chongqing, China. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(10):13360–6.
126. Bodnar L, Stec R, Cierniak S, Synowiec A, Weisło G, Jesiotr M, et al. Clinical usefulness of PI3K/Akt/mTOR genotyping in companion with other clinical variables in metastatic renal cell carcinoma patients treated with everolimus in the second and subsequent lines. *Ann Oncol.* 2015;26(7):1385–9.
127. Cebrián A, Gómez Del Pulgar T, Méndez-Vidal MJ, González ML, Lainez N, Castellano D, et al. Functional PTGS2 polymorphism-based models as novel predictive markers in metastatic renal cell carcinoma patients receiving first-line sunitinib. *Sci Rep.* 2017;7(August 2016):1–10.
128. Kordi-Tamandani DM, Mir A. Relationship between phosphoinositide-3-kinase genetic polymorphism and schizophrenia. *Nord J Psychiatry.* 2016;70(4):272–5.

HAM VERİLER

Aalleli * tum1234

Crosstab

		tum1234		Total	
		t1 ve t2	t3 ve t4		
Aalleli	None	Count	6	2	8
		% within Aalleli	75,0%	25,0%	100,0%
		% within tum1234	35,3%	28,6%	33,3%
		% of Total	25,0%	8,3%	33,3%
	AA+CA	Count	11	5	16
			% within Aalleli	68,8%	31,3%
		% within tum1234	64,7%	71,4%	66,7%
Total		% of Total	45,8%	20,8%	66,7%
		Count	17	7	24
		% within Aalleli	70,8%	29,2%	100,0%
		% within tum1234	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	70,8%	29,2%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,101 ^a	1	,751	1,000	,572
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,102	1	,749		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	,097	1	,756		
N of Valid Cases	24				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,33.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper

Odds Ratio for Aalleli (None / AA+CA)	1,364	,200	9,282
For cohort tum1234 = t1 ve t2	1,091	,649	1,833
For cohort tum1234 = t3 ve t4	,800	,197	3,254
N of Valid Cases	24		

Aalleli * npozitif

Crosstab

		npozitif		Total		
		No	N+			
Aalleli	None	Count	6	9	15	
		% within Aalleli	40,0%	60,0%	100,0%	
		% within npozitif	40,0%	45,0%	42,9%	
		% of Total	17,1%	25,7%	42,9%	
	AA+CA		Count	9	11	20
			% within Aalleli	45,0%	55,0%	100,0%
		% within npozitif	60,0%	55,0%	57,1%	
Total		% of Total	25,7%	31,4%	57,1%	
		Count	15	20	35	
		% within Aalleli	42,9%	57,1%	100,0%	
		% within npozitif	100,0%	100,0%	100,0%	
		% of Total	42,9%	57,1%	100,0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,088 ^a	1	,767		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,088	1	,767		
Fisher's Exact Test				1,000	,521
Linear-by-Linear Association	,085	1	,771		
N of Valid Cases	35				

a. 0 cells (0,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6,43.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Aalleli (None / AA+CA)	,815	,210	3,167
For cohort npozitif = No	,889	,405	1,952
For cohort npozitif = N+	1,091	,615	1,934
N of Valid Cases	35		

Aalleli * Metataz**Crosstab**

		Metataz		Total	
		metastaz(-)	metastaz (+)		
Aalleli	None	Count	10	7	17
		% within Aalleli	58,8%	41,2%	100,0%
		% within Metataz	37,0%	70,0%	45,9%
		% of Total	27,0%	18,9%	45,9%
	AA+CA	Count	17	3	20
		% within Aalleli	85,0%	15,0%	100,0%
% within Metataz		63,0%	30,0%	54,1%	
	% of Total	45,9%	8,1%	54,1%	
Total	Count	27	10	37	
	% within Aalleli	73,0%	27,0%	100,0%	
	% within Metataz	100,0%	100,0%	100,0%	
	% of Total	73,0%	27,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3,193 ^a	1	,074		
Continuity Correction ^b	2,003	1	,157		

Likelihood Ratio	3,238	1	,072		
Fisher's Exact Test				,136	,078
Linear-by-Linear Association	3,106	1	,078		
N of Valid Cases	37				

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,59.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Aalleli (None / AA+CA)	,252	,053	1,202
For cohort Metataz = metastaz(-)	,692	,446	1,073
For cohort Metataz = metastaz(+)	2,745	,837	9,005
N of Valid Cases	37		

Aalleli * ostrojenreceptor

Crosstab

		ostrojenreceptor		Total
		östrojen (-)	östrojen (+)	
Aalleli	Count	2	12	14
	% within Aalleli	14,3%	85,7%	100,0%
	% within ostrojenreceptor	66,7%	40,0%	42,4%
	% of Total	6,1%	36,4%	42,4%
AA+CA	Count	1	18	19
	% within Aalleli	5,3%	94,7%	100,0%
	% within ostrojenreceptor	33,3%	60,0%	57,6%
	% of Total	3,0%	54,5%	57,6%
Total	Count	3	30	33
	% within Aalleli	9,1%	90,9%	100,0%
	% within ostrojenreceptor	100,0%	100,0%	100,0%
	% of Total	9,1%	90,9%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,794 ^a	1	,373		
Continuity Correction ^b	,078	1	,781		
Likelihood Ratio	,787	1	,375		
Fisher's Exact Test				,561	,384
Linear-by-Linear Association	,770	1	,380		
N of Valid Cases	33				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,27.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Aalleli (None / AA+CA)	3,000	,244	36,883
For cohort ostrojenreceptor = östrojen (-)	2,714	,272	27,047
For cohort ostrojenreceptor = östrojen (+)	,905	,713	1,149
N of Valid Cases	33		

Aalleli * PRecep2

Crosstab

		PRecep2		Total	
		progesteron receptor (-)	progeteron recep (+)		
Aalleli	None	Count	5	9	14
		% within Aalleli	35,7%	64,3%	100,0%
		% within PRecep2	83,3%	42,9%	51,9%
		% of Total	18,5%	33,3%	51,9%

	Count	1	12	13
AA+CA	% within Aalleli	7,7%	92,3%	100,0%
	% within PRecep2	16,7%	57,1%	48,1%
	% of Total	3,7%	44,4%	48,1%
	Count	6	21	27
Total	% within Aalleli	22,2%	77,8%	100,0%
	% within PRecep2	100,0%	100,0%	100,0%
	% of Total	22,2%	77,8%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3,062 ^a	1	,080		
Continuity Correction ^b	1,656	1	,198		
Likelihood Ratio	3,304	1	,069		
Fisher's Exact Test				,165	,098
Linear-by-Linear Association	2,949	1	,086		
N of Valid Cases	27				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,89.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Aalleli (None / AA+CA)	6,667	,659	67,463
For cohort PRecep2 = progesteron receptor (-)	4,643	,622	34,649

For cohort PRecep2 = progeteron recep (+)	,696	,457	1,061
N of Valid Cases	27		

Aalleli * tumornekrozu

Crosstab

		tumornekrozu		Total	
		var	yok		
Aalleli	None	Count	3	4	7
		% within Aalleli	42,9%	57,1%	100,0%
		% within tumornekrozu	42,9%	25,0%	30,4%
		% of Total	13,0%	17,4%	30,4%
	AA+CA	Count	4	12	16
			% within Aalleli	25,0%	75,0%
		% within tumornekrozu	57,1%	75,0%	69,6%
Total		% of Total	17,4%	52,2%	69,6%
		Count	7	16	23
		% within Aalleli	30,4%	69,6%	100,0%
		% within tumornekrozu	100,0%	100,0%	100,0%
	% of Total	30,4%	69,6%	100,0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,733 ^a	1	,392		
Continuity Correction ^b	,132	1	,716		
Likelihood Ratio	,712	1	,399		
Fisher's Exact Test				,626	,351
Linear-by-Linear Association	,702	1	,402		
N of Valid Cases	23				

a. 3 cells (75,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,13.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Aalleli (None / AA+CA)	2,250	,345	14,694
For cohort tumornekrozu = var	1,714	,514	5,720
For cohort tumornekrozu = yok	,762	,378	1,536
N of Valid Cases	23		

CROSSTABS

```

/TABLES=Calleli BY tum1234 npozitif Metataz ostrojenreceptor PRecep2
tumornekrozu
/FORMAT=AVALUE TABLES
/STATISTICS=CHISQ RISK
/CELLS=COUNT ROW COLUMN TOTAL
/COUNT ROUND CELL.

```

Crosstabs**Notes**

Output Created	26-AUG-2020 14:17:14
Comments	
Data	C:\Users\Canan\Desktop\tez\23.8.2020 ca hasta ve kontroller (1).sav
Active Dataset	DataSet1
Input	GRUP = 2 (FILTER)
Weight	<none>
Split File	<none>
N of Rows in Working Data File	61
Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
Missing Value Handling	Statistics for each table are based on all the cases with valid data in the specified range(s) for all variables in each table.
Cases Used	

Syntax		CROSSTABS /TABLES=Calleli BY tum1234 npozitif Metataz ostrojenreceptor PRecep2 tumornekrozu /FORMAT=AVALUE TABLES /STATISTICS=CHISQ RISK /CELLS=COUNT ROW COLUMN TOTAL /COUNT ROUND CELL.	
Resources	Processor Time		00:00:00,03
	Elapsed Time		00:00:00,04
	Dimensions Requested		2
	Cells Available		174734

[DataSet1] C:\Users\Canan\Desktop\tez\23.8.2020 ca hasta ve kontroller (1).sav

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Calleli * tum1234	24	39,3%	37	60,7%	61	100,0%
Calleli * npozitif	35	57,4%	26	42,6%	61	100,0%
Calleli * Metataz	37	60,7%	24	39,3%	61	100,0%
Calleli * ostrojenreceptor	33	54,1%	28	45,9%	61	100,0%
Calleli * PRecep2	27	44,3%	34	55,7%	61	100,0%
Calleli * tumornekrozu	23	37,7%	38	62,3%	61	100,0%

Calleli * tum1234

Crosstab

			tum1234		Total
			t1 ve t2	t3 ve t4	
		Count	1	0	1
Calleli	Not selected	% within Calleli	100,0%	0,0%	100,0%
		% within tum1234	5,9%	0,0%	4,2%

	% of Total	4,2%	0,0%	4,2%
	Count	16	7	23
CC+CA	% within Calleli	69,6%	30,4%	100,0%
	% within tum1234	94,1%	100,0%	95,8%
Total	% of Total	66,7%	29,2%	95,8%
	Count	17	7	24
Total	% within Calleli	70,8%	29,2%	100,0%
	% within tum1234	100,0%	100,0%	100,0%
	% of Total	70,8%	29,2%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,430 ^a	1	,512		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,707	1	,400		
Fisher's Exact Test				1,000	,708
Linear-by-Linear Association	,412	1	,521		
N of Valid Cases	24				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,29.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
For cohort tum1234 = t1 ve t2	1,438	1,097	1,884
N of Valid Cases	24		

Calleli * npozitif

Crosstab

	npozitif		Total
	No	N+	

Calleli	Not selected	Count	1	0	1
		% within Calleli	100,0%	0,0%	100,0%
		% within npozitif	6,7%	0,0%	2,9%
	% of Total	2,9%	0,0%	2,9%	
	CC+CA	Count	14	20	34
		% within Calleli	41,2%	58,8%	100,0%
% within npozitif		93,3%	100,0%	97,1%	
Total	% of Total	40,0%	57,1%	97,1%	
	Count	15	20	35	
	% within Calleli	42,9%	57,1%	100,0%	
	% within npozitif	100,0%	100,0%	100,0%	
	% of Total	42,9%	57,1%	100,0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,373 ^a	1	,241		
Continuity Correction ^b	,021	1	,884		
Likelihood Ratio	1,734	1	,188		
Fisher's Exact Test				,429	,429
Linear-by-Linear Association	1,333	1	,248		
N of Valid Cases	35				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,43.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
For cohort npozitif = No	2,429	1,625	3,629
N of Valid Cases	35		

Calleli * Metataz

Crosstab

		Metataz		Total
		metastaz(-)	metastaz (+)	
Calleli	Count	1	0	1
	Not selected			
	% within Calleli	100,0%	0,0%	100,0%
	% within Metataz	3,7%	0,0%	2,7%
	% of Total	2,7%	0,0%	2,7%
	Count	26	10	36
	CC+CA			
	% within Calleli	72,2%	27,8%	100,0%
	% within Metataz	96,3%	100,0%	97,3%
Total	% of Total	70,3%	27,0%	97,3%
	Count	27	10	37
	% within Calleli	73,0%	27,0%	100,0%
	% within Metataz	100,0%	100,0%	100,0%
	% of Total	73,0%	27,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,381 ^a	1	,537		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,640	1	,424		
Fisher's Exact Test				1,000	,730
Linear-by-Linear Association	,370	1	,543		
N of Valid Cases	37				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,27.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
For cohort Metataz = metastaz(-)	1,385	1,131	1,696
N of Valid Cases	37		

Calleli * östrojenreceptor

Crosstab

		östrojenreceptor		Total	
		östrojen (-)	östrojen (+)		
Calleli	CC+CA	Count	3	30	33
		% within Calleli	9,1%	90,9%	100,0%
		% within östrojenreceptor	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	9,1%	90,9%	100,0%
Total		Count	3	30	33
		% within Calleli	9,1%	90,9%	100,0%
		% within östrojenreceptor	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	9,1%	90,9%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value
Pearson Chi-Square	. ^a
N of Valid Cases	33

a. No statistics are computed because Calleli is a constant.

Risk Estimate

	Value
Odds Ratio for Calleli (CC+CA / .)	. ^a

a. No statistics are computed because Calleli is a constant.

Calleli * PRecep2

Crosstab

		PRecep2		Total
		progesteron receptor (-)	progeteron recep (+)	
Calleli	Count	0	1	1
	% within Calleli	0,0%	100,0%	100,0%
	% within PRecep2	0,0%	4,8%	3,7%
	% of Total	0,0%	3,7%	3,7%
	Count	6	20	26
	% within Calleli	23,1%	76,9%	100,0%
CC+CA	% within PRecep2	100,0%	95,2%	96,3%
	% of Total	22,2%	74,1%	96,3%
	Count	6	21	27
Total	% within Calleli	22,2%	77,8%	100,0%
	% within PRecep2	100,0%	100,0%	100,0%
	% of Total	22,2%	77,8%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,297 ^a	1	,586		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,514	1	,474		
Fisher's Exact Test				1,000	,778
Linear-by-Linear Association	,286	1	,593		
N of Valid Cases	27				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,22.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
For cohort PRecep2 = progeteron recep (+)	1,300	1,053	1,605
N of Valid Cases	27		

Calleli * tumornekrozu

Crosstab

		tumornekrozu		Total
		var	yok	
Calleli	Count	0	1	1
	Not selected			
	% within Calleli	0,0%	100,0%	100,0%
	% within tumornekrozu	0,0%	6,3%	4,3%
	% of Total	0,0%	4,3%	4,3%
	Count	7	15	22
CC+CA	% within Calleli	31,8%	68,2%	100,0%
	% within tumornekrozu	100,0%	93,8%	95,7%
	% of Total	30,4%	65,2%	95,7%
Total	Count	7	16	23
	% within Calleli	30,4%	69,6%	100,0%
	% within tumornekrozu	100,0%	100,0%	100,0%
	% of Total	30,4%	69,6%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,457 ^a	1	,499		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,746	1	,388		
Fisher's Exact Test				1,000	,696
Linear-by-Linear Association	,438	1	,508		
N of Valid Cases	23				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,30.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
For cohort tumornekrozu = yok	1,467	1,102	1,951
N of Valid Cases	23		

FORMLAR

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Sayın,

Dahil olacağınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “**Meme Kanseri**nde **PIK3CA Gen Varyasyonunun ve PI3K Serum Düzeyinin İncelenmesi**” dir.

Meme kanseri, kadınlarda en sık görülen malign tümörlerden biridir. Son zamanlarda artan insidansı ile genç yaşta kadın sağlığı için de ciddi bir tehdittir. PI3K (Fosfatidilinozitol 3-kinaz) yolağının aktivasyonu; hücre çoğalmasını ve göçünü, glukoz taşınımı ve katabolizmasını, sitoskeletal yeniden düzenlemeleri ve anjiyogenezi teşvik ederek tümör başlatılmasında, ilerlemesinde önemli bir rol oynar. Bu genin mutasyonları; meme kanseri, kolon kanseri, mide kanseri, rahim ağzı kanseri, prostat kanseri ve akciğer kanseri gibi yaygın kanser tiplerinde önemli araştırma konuları arasındadır. Sinyal iletimi konusundaki önemi açısından özellikle kanserde ikincil haberci olarak tedavi şeklinin düzenlenmesinde umut verici bir genetik biyomarker olabileceği düşünülmektedir. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda, Türk popülasyonunda PI3K sinyal yolağında yer alan *PIK3CA* (Fosfoinozitol 3-kinaz katalitik alt-birim alfa)’nın meme kanserindeki genetik varyasyonlarının ve gen ifadesinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

-Bu araştırmaya meme kanseri tanısı konmuş hastalar ve herhangi bir patolojik bulgusu, benign ya da selim tümörü ve tercihen ailesinde tümör hikâyesi olmayan kadınlar kontrol grubuna dâhil edilecektir. Meme kanserli bireyler, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Cerrahi Kliniği tarafından takip edilen kadınlardan seçilecek ve hastaların klinik parametrelerine göre değerlendirilmesi, kan örneklerinin sağlandığı klinik tarafından yapılacaktır. Mamografi, ultrasonografi ve patolojik testlerle meme kanseri teşhisi konulan hastalar çalışma grubuna alınacaktır.

-Gönüllü gruplarından 1 tüp kan (6 cc EDTA) örneği alınacaktır.

-Kan vermede yan etki ihtimali yok denecek kadar azdır. Oluşabilecek yan etkiler; çok az kanama ve morarma, nadiren ise çok hafif baygınlık hissidir.

-Araştırma için öngörülen süre 6 aydır. Araştırmada gönüllüler ile sağlıklı kontroller toplamda 150 kişiden oluşacaktır. Araştırmalar Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nde gerçekleştirilecektir.

Bu araştırma için size herhangi bir ücret ödenmeyecektir. Bu araştırmada sizin hiçbir hukuki ve mali sorumluluğunuz yoktur; araştırma kapsamındaki bütün muayene ve testler için sizden ya da bağlı olduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi) tarafından desteklenmektedir.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Çalışmada yer almayı red edebilirsiniz ya da istediğiniz herhangi bir aşamada ayrılabilirsiniz. Bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel bir duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı gerekli gördüğü durumlarda sizi araştırma dışı bırakabilir.

Araştırma sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır ve biyolojik örnekleriniz sadece "Meme Kanseriinde PIK3CA Gen Varyasyonunun ve PI3K Serum Düzeyinin İncelenmesi" başlıklı bu çalışma için kullanılacaktır. Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır. Araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz açıklanmayacaktır. Sadece araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilecektir.

Yürütmekte olduğumuz bu çalışma ile ilgili herhangi bir sorunuz olduğunda Yüksek lisans öğrencisi Elif ULU'dan (538 931 97 13) bilgi alabilirsiniz.

Katılımcının/Hastanın Beyanı

Yüksek lisans öğrencisi Elif ULU tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek, araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra araştırmaya "katılımcı (gönüllü)" olarak davet edildim. Açıklamayı dinledim, formu okudum. Eğer araştırmaya katılırsam hekim ile aramızda kalması gereken kişisel bilgilerin gizliliğine büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sonrasında kişisel bilgilerimin korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağını bilincindeyim). Ayrıca tıbbi

durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunu ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim). Araştırma ile ilgili herhangi bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda, herhangi bir saatte Doç. Dr. Canan CACINA'yı (İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar DETAE, 554 203 20 80) arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakıma ve hekim ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı (gönüllü)" olarak yer alma kararı aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. İmzalı bu form kâğdımın bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Araştırma konusu hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla ve hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel-Faks:

Tarih ve İmza:

Vekili Bulunanlar İçin Vekilinin,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel-Faks:

Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanğının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel-Faks:

Tarih ve İmza:

ETİK KURUL KARARI

Tarih ve Sayı: 02/09/2020-147435

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İ.Ü.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ FİZİK TEDAVİ BİNASI KAT:2 FATİH/İSTANBUL
	TELEFON	0 (212) 414 21 53
	FAKS	0 (212) 414 21 53
	E-POSTA	iffetikkurul@istanbul.edu.tr.

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Meme Kanserinde PIK3CA Gen Varyasyonunun ve PI3K Serum Düzeyinin İncelenmesi"			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Canan CACINA			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	<input type="checkbox"/>			
	Yüksek Doz Araştırması	<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Diğer ise belirtiniz :				
	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Meme Kanserinde PIK3CA Gen Varyasyonunun ve PI3K Serum Düzeyinin İncelenmesi"
-----------------------	---

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	<input checked="" type="checkbox"/>		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	<input checked="" type="checkbox"/>		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	Belge Adı			Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>		
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>		
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>		
	İLAN	<input type="checkbox"/>		
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>		
	DİĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>		Anabilim Dalı Başkanlığından Ust Yazı, Değişiklik Bilgi Formu
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:20	Tarih: 28/08/2020		
	İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalında görevli Doç. Dr. Canan CACINA' nın sorumluluğunda ve Elif ULU' nun yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.			

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU									
ÇALIŞMA ESASI			19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmî Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik						
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:			Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *		Katılım **		İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	e-imza
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	e-imza
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	e-imza
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	e-imza

* :Araştırma ile ilişki
** :Toplantıda Bulunma

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmî Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığında izin almak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde oluşturulmuş 5 kişilik alt komisyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığı iznine tabi değildir. "Kişisel Verilerin Korunması Kanunu kapsamında çalışmaya katılan gönüllülerin verilerinin korunması ile ilgili tedbirleri almak Araştırmacının sorumluluğundadır"

PATENT HAKKI İZİNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

MEME KANSERİNDE PIK3CA GEN VARYASYONUNUN VE PI3K SERUM DÜZEYİNİN İNCELENMESİ

ORIJINALLIK RAPORU

% 14	% 7	% 2	% 9
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 5
2	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 1
3	acikerisim.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	Submitted to Haliç Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% 1
5	Submitted to Okan Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% 1
6	www.journals.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	docshare.tips İnternet Kaynağı	<% 1
8	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	ELİF	Soyadı	ULU
Doğ.Yeri	ARAPGİR	Doğ.Tar.	15.08.1992
Email	eliifulu@gmail.com eliifulu@hotmail.com.tr	Uyruğu	T.C.

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi	
Lisans	Marmara Üniversitesi	2014
Lise		

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			
2.			
3.			

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) YÖKDİL Puanı
İngilizce					

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) ALES Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri:**Özel İlgi Alanları (Hobileri):**