T.C. MALTEPE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PREMENOPOZAL KADINLARDA COMT (KATEKOL O-METİLTRANSFERAZ) **VE NQO1 (**NAD(P)H KİNON OKSİDOREDÜKTAZ**) ENZİM POLİMORFİZMLERİNİN ÖSTROJEN RESEPTÖRÜ POZİTİF MEME KANSERİ İLE İLİŞKİSİ**

Dr. Işıl ATASOY

İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL
2020

T.C. MALTEPE ÜNİVERSİTESİ

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı:2019/900/ 04 Kasım 2019

Sayın Prof. Dr. Selim NALBANT
Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi,

Yürütücülüğünü yapmakta olduğunuz, 'Premenopozal Kadınlarda COMT (catechol O-methyltransferase) ve NAD(P)Hquinone Oksidoredüktaz (NQO1) Enzim Polimorfizmlerinin Östrojen Reseptörü(+) Meme Kanseri ile İlişkisi' başlıklı klinik araştırma projesinin yapılmasında etik açıdan bir sakınca olmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Ali Çağlar ÖĞÜTMAN
Maltepe Üniversitesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

TEŞEKKÜR

İç hastalıkları ihtisasım süresince tezimin oluşumunda desteğini esirgemeyen tez danışmanım ve Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi dekanımız Prof. Dr. Selim Nalbant'a, tezimin konusunun belirlenmesindeki önerileri ve tez yazımında yaptığı fikir alışverişi ve yardımları için eşim Radyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Mehmet Mahir Atasoy'a, vakaları bulmam konusunda yardımcı olan Prof. Dr. Levent Çelik hocama, genetik çalışmaların yürütülmesindeki emeği için Dr.Öğr.Üyesi.Yaman Sağlam'a, asistanlığım boyunca deneyimleriyle yol gösteren, herkese bilimsel ve akademik olarak katkıda bulunmayı kendine hedef edinmiş Prof.Dr.Nihat Akbayır, Prof.Dr.Itır Yeniağa, Prof.Dr.Orhan Türken, Doç. Dr. Gülbüz Sezgin, Dr.Öğr.Üyesi. Fatih Öner Kaya'ya ve Dr. Eşref Özer'e, hem bilgi birikimi ve deneyimiyle çok iyi bir hoca, hem her sıkıntımda yanına gidebileceğimi bildiğim en içten ablalık vasfıyla hep yanımda olan Prof.Dr.Nesrin Sarıman'a ve asistanlığım boyunca dostluklarını esirgemeyen tüm iç hastalıkları araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve iç hastalıkları servisi çalışanlarına, aldığım her kararda desteklerini esirgemeyen anneme ve babama, en önemlisi beni bu uzun süreçte hiç üzmeyen ve bundan sonraki süreçte daha fazla vakit ayıracağıma söz verdiğim iki minik yavruma gösterdikleri boylarından büyük sabır için çok teşekkür ederim.

İçindekiler

ÖZET 5

ABSTRACT 6

KISALTMALAR 7

1. Giriş 9

2. Genel Bilgiler 10

2.1. Epidemiyoloji; 10

2.2. Meme Kanseri Klasifikasyonu 11

2.2.1. Meme Kanserinin Moleküler Klasifikasyonu 14

2.2.2. Yeni sistemde dahil edilen biyolojik prognostik faktörler: 15

2.2.3. Primer Tümör Klasifikasyonu: 16

2.2.4. Tümör (T) sınıflamasındaki değişiklikler: 18

2.2.5. Bölgesel Lenf Nodları (Klinik Sınıflandırma) 19

2.2.6 Bölgesel Lenf Nodları (Patolojik Sınıflandırma) 20

2.2.7. Uzak Metastaz 21

2.3. Meme Kanseri Risk Faktörleri 32

2.3.1. İntrinsik Meme Kanseri Risk Faktörleri: 32

2.3.2. Ekstrinsik Meme Kanseri Risk Faktörleri: 36

2.3.3. Endojen Östrojen, Testesteron Düzeyi, Hormon Tedavisi ve Meme Kanseri Riski: 38

2.4. Östrojen Hormonunun Metabolizması 40

3. Materyal ve Metod: 49

3.1.Etik Kurul 49

3.2.Çalışma Grubu: 49

3.3. Genetik Değerlendirme 50

3.4. İstatistiksel Yöntemler 53

4. BULGULAR: 53

5.TARTIŞMA: 56

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 60

ÖZET

Meme kanseri etiyolojisinde hiperöstrojenizm önemli bir risk faktörüdür. Östrojen metabolizması ve inaktivasyonundan sorumlu en önemli iki faz II enzim; catechol O metiltransferaz (COMT) ve NAD(P)H kinon oksidoredüktaz (NQO1)'dır. COMT ve NQO1 enzimlerine ait polimorfizmin meme kanseri ile ilişkisi daha önce pek çok etnik popülasyonda yapılan çalışmalarda incelenmiş ve değişik sonuçlar elde edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda da gösterilmiş olan belli polimorfizmlerde enzim aktivitesi normalin 3'te 1'ine hatta 4'te 1'ine azalmaktadır. (3-7)

Bu çalışmada ailede meme kanseri hikayesi bulunmayan, premenopozal, östrojen reseptör (+) 50 meme kanseri hastası ve 50 kontrol grubu sağlıklı kadında COMT ve NQO1 enzim polimorfizmleri ile meme kanseri arasındaki ilişki incelenmiştir. Meme kanseri olan hasta grubunda COMT enziminde homozigot ve heterozigot mutasyonu olanların oranı %66, sağlıklı kontrol grubunda ise homozigot ve heterozigot mutasyon oranı %84 olarak saptanmıştır. Ayrıca meme kanserli hasta grubunda NQO1 enzim homozigot ve heterozigot mutasyon oranı %42, kontrol grubunda ise bu oran %68 olarak saptanmıştır. Her iki enzimde saptanan, COMT ve NQO1 enzimlerinin hızını azaltan homozigot ve heterozigot mutasyonlar ile meme kanseri arasında ilişki saptanmamıştır.

Sonuç olarak, literatürde pek çok etnik grupta saptandığı gibi Türk popülasyonunda da COMT ve NQO1 enzimlerinin düşük aktiviteli allelleri ile meme kanseri riski arasında ilişki saptanmamıştır.

ABSTRACT

Hyperestrogenism is an important risk factor in breast cancer etiology. The two most important phase II enzymes, responsible for estrogen metabolism and inactivation is; catechol O methyltransferase (COMT) and NAD (P) H quinone oxidoreductase (NQO1). The relationship between polymorphism of COMT and NQO1 enzymes and breast cancer has been previously studied in many ethnic populations and different results have been obtained. As shown in previous studies; with these certain polymorphisms enzyme activity decreases to 1 in 3 or even 1 in 4 of normal.

In this study, the relationship between COMT and NQO1 enzyme polymorphisms and breast cancer was invastigated in 50 premenopausal, estrogen receptor (+) breast cancer patients with no family history of breast cancer and 50 control group of healthy women. The rate of those with homozygous and heterozygous mutations in COMT enzyme in the breast cancer patient group was 66%, and the rate of homozygous and heterozygous mutations in the healthy control group was 84%. In addition, the NQO1 enzyme homozygous and heterozygous mutation rate was 42% in the breast cancer patient group and 68% in the control group. No relationship was found between breast cancer and homozygous and heterozygous mutations detected in both enzymes, reducing the rate of COMT and NQO1 enzymes.

In conclusion, as seen in many study made in different ethnic groups in the literature; there is no relationship between low activity alleles of COMT and NQO1 enzymes and breast cancer risk in the Turkish population.

KISALTMALAR

ABD:Amerika Birleşik Devletleri

WHI:Women Health Initiative (Kadın Sağlığı Girişimi)

HRT:Hormon replasman tedavisi

DSÖ:Dünya sağlık örgütü

SEER: Ulusal Kanser Enstitüsü'nün Gözetim, Epidemiyoloji ve Sonuçları

UMKVT: Ulusal Meme Kanseri Veri Tabanı

TMHDF: Türkiye Meme Hastalıkları Dernekleri Federasyonu

ÖR: Östrojen reseptörü

HER-2: İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2

HT: Hormon-terapi

KT:Kemoterapi

TNM:Tümör-Lenf nodu-Metastaz

FISH: Floresan insitu hibridizasyon

LN: Lenf nodu

RS: Tekrarlama Puanı

RT-PCR: Ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu

cT: Klinik tümör evrelemesi

pT: Patolojik tümör evrelemesi

İTH: izole tümör hücresi

İHK: immünohistokimyasal

HαE:Hemotoksilen ve eosin

SLNB: Sentinel lenf nodu biyopsisi

BRCA 1-2: meme kanseri yatkınlığı 1 ve 2

HBC-SS: Alana Özgü -Kalıtsal Meme Kanseri

HBOC: Kalıtsal Meme-Yumurtalık Kanseri

ROS:Reaktif oksijen parçacıkları

ASCO: American Klinik Onkoloji Topluluğu

ESMO: Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği

NICE: Ulusal Sağlık Enstitüsü

NCCN: Ulusal Kapsamlı Kanser Network

DCIS: Duktal karsinoma insitu

LCIS:Lobuler karsinoma insitu

RR:Rölatif risk

OKS:Oral kontraseptif

RIA:Rahim içi araç

COMT: Katekol-O metil transferaz

NQO1: NAD(P)H: kinon oksidoredüktaz 1

2(OH)E1(E2): 2-hidroksi-östron ve 2-hidroksi-östradiol

4(OH)E1(E2): 4-hidroksi-östron ve 4-hidroksi-östradiol

E1(E2)-2,3-Q: Östradiol 2,3 kinon

E1(E2)-3,4-Q: Östradiol 3,4 kinon

CYP: Sitokrom p450

17βHSD: 17 beta hidroksi steroid dehidrogenez

Val:Valine

Met: Metiyonin

NAD/NADP:Nikotinamid adenin dinükleotid/ Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

CEE: konjuge at estrojenleri

MPA: medroksiprogesteron asetat

SNP: tek nükleotid polimorfizmi

PREMENOPOZAL KADINLARDA COMT (CATECHOL O-METHYLTRANSFERASE) VE NAD(P)H QUİNONE OKSİDOREDÜKTAZ (NQO1) ENZİM POLİMORFİZMLERİNİN ÖSTROJEN RESEPTÖR(+) MEME KANSERİ İLE İLİŞKİSİ

1. Giriş

Meme kanseri, memenin süt kanalları veya lobüllerini oluşturan hücrelerin çevresel veya genetik faktörlerin etkisiyle kontrolsüz çoğalması sonucu oluşan kanser türüdür.

Meme malignitelerinin çoğu epitelyal elementlerden kaynaklanır ve karsinom olarak sınıflandırılır. Meme kanseri uzun yıllar ölümcül bir hastalık olarak kabul edilmiş ve 19. yüzyılın sonuna kadar uzun yıllar tedavi için kapsamlı cerrahi tedavi uygulanmıştır. Geçen yüzyılın başlarına kadar, hastaya meme kanseri teşhisinin konulması ve tüm hastalara standart aynı tedavinin verilmesi yeterli olmuştur. Zamanla, birçok farklı morfolojik varyantların belirlenmesi, erken tanı ve gelişen tedavi stratejileri ile aynı tip kanserli hastaların değişen prognoz gösterdiğinin görülmesi; hastalığın sınıflandırılması ve tedavi modalitelerinde değişikliklere yol açmıştır. Tüm dünyada kadınlarda en sık görülen ve morbidite ve mortaliteye yol açan bu hastalığın erken tanısı için yapılan çalışmaların yanısıra, meme kanserinin risk stratifikasyonunda bilinen risk faktörlerinin yanında son 20 yılda östrojen metabolizması, bu yolaklar sonucu ortaya çıkan östrojen metabolitlerinin kanser gelişimine etkisi gösterilmiştir. Metabolitlerin yanısıra östrojen metabolizmasında çalışan birçok enzimin aktivitesini değiştiren SNP'lerin de kanser ile ilişkisi literatürde pek çok çalışmanın konusu olmuştur. Biz de bu çalışmamızda Türk kadınlarında, östrojen metabolizmasında önemli görevi olan iki faz 2 enziminin aktivitesini belirleyen genlerin meme kanseri ile ilişkisini incelemeyi amaçladık.

2. Genel Bilgiler

2.1. Epidemiyoloji;

İnsidans:

Meme kanseri global olarak bakıldığında yıllık 2 milyon yeni tanı ile akciğer kanserinden sonra en sık görülen ikinci kanserdir (1). Ayrıca dünya genelinde meme kanseri, kansere bağlı ölümlerin en sık nedenidir. Amerika'da meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser tipidir ve kadınlarda kansere bağlı ölümlerin ikinci en sık nedenidir(2).

Meme kanseri insidansı; Kuzey Amerika, Avustralya, Yeni Zelanda, batı ve kuzey Avrupa'da en yüksek; Asya ve sahra altı Afrika'da en düşük düzeydedir(3). Bu uluslararası farklılıklar, muhtemelen sanayileşmenin bir sonucu olarak ortaya çıkan toplumsal değişimlerle ilişkilidir. ABD'ye göç eden insanlar üzerinde yapılan çalışmalar, kültürel ve çevresel değişikliklerin önemini vurgulamaktadır(4). Genel olarak bakıldığında meme kanseri insidansı ikinci nesil göçmenlerde daha fazladır ve üçüncü dördüncü nesil göçmenlerde insidans daha da artmaktadır.

ABD'de meme kanseri her yıl 260.000 üzerinde yeni vaka ve 40.000'in üzerinde ölüme neden olmaktadır(4). ABD'de 1999'dan 2007'ye insidans değerlerine bakıldığında, her yıl %1,8 azalma olduğu görülür(5). İnsidanstaki bu düşüş, muhtemelen taramanın prevalans zirvesinin sonunu yansıtmaktadır. Yani kadınlar ilk kez tarandığında; populasyonda var olan, biriken kanser vakalarına, tarama nedeniyle erken teşhis edilmiş kanser vakaları eklendiği için bir prevalans zirvesi oluşur. ABD'de 1980-1999 yılları arasında kademeli tarama yapılması dolayısıyla geniş bir prevalans zirvesi görülmüştür. İnsidanstaki 1999' da başlayan düşüş; tarama programlarına katılımın plato yaptığı prevalans zirvesinin sonunu yansıtır ve beklenildiği gibi bu dönemde insidansta düşme görülmüştür. WHI çalışmasından sonra, literatürde post-menopozal kadınlarda hormon replasman tedavisinin güvenli olduğuna dair pek çok çalışma ve sonuç olsa da; meme kanseri insidansındaki bu düşüşün ana nedeninin kadınlarda HRT'nin kesilmesi olarak lanse edilmiştir(6). Danimarka'da yapılan ve kimlerin HRT kullanıp kullanmadıklarını takip ettikleri bir çalışmada; meme kanseri insidansının HRT ile ilgisiz olduğu gösterilmiştir (7,8).

1970 yılından bu yana meme kanseri ölüm oranları azalmaktadır(6). Bu mortalite düşüşünün sebebi, meme kanseri taramasındaki ve kullanılan adjuvan tedavilerdeki gelişmelerdir. Meme kanserine erken tanı koyup tedavi uygulandığında; tedavi hayat kurtarıcıdır. Bu konuyla ilgili önemli bir çalışmada,40-69 yaş arası bayanlardan

düzenli mamografi taraması yaptıranlar ile tarama yaptırmayanlar karşılaştırıldığında; meme kanseri tanısı konulduktan sonraki 10 yıl içerisinde ölüm riskinin %60 ve yine kanser tanısı konulduktan sonraki 20 yıl içerisinde ölüm riskinin %47 daha az olduğu görülmüştür(9).

Ülkemizde 43,8/100.000 yıllık saptanma hızı ile meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Kanser tanısı konulan her 4 kadın kanserinden 1'i meme kanseridir. Ülkemizde meme kanseri tanısı alan kadınların %44,5'inin 50-69 yaş arasında olduğu, %40,6'sının ise 25-49 yaş aralığında yer aldığı görülmektedir. Ortalama tanı yaşı ise 53 olarak bulunmuştur. Meme kanseri evreleri incelendiğinde vakaların %11,5'i dördüncü evre vakalardan oluşmaktadır (10).

2.2. Meme Kanseri Klasifikasyonu

Meme malignitelerinin çoğu epitelyal elementlerden kaynaklanır ve karsinom olarak sınıflandırılır. Meme karsinomları mikroskobik görünüm ve biyolojik davranış bakımından farklılık gösteren çeşitli lezyonlar grubudur, ancak bu bozukluklar sıklıkla tek bir hastalık olarak tartışılmaktadır. Meme kanseri uzun yıllar ölümcül bir hastalık olarak kabul edilmiş ve 19. yüzyılın sonuna kadar uzun yıllar tedavi için kapsamlı cerrahi tedavi uygulanmıştır (11) Geçen yüzyılın başlarına kadar, hastaya meme kanseri teşhisinin konulması ve tüm hastalara standart aynı tedavinin verilmesi yeterli olmuştur. Zamanla, aynı tip kanserli hastaların değişen prognoz gösterdiğinin görülmesi ve son 50 yılda patologlar tarafından birçok farklı morfolojik varyantların belirlenmesi meme kanseri sınıflandırması hakkında tartışmalara yol açmıştır. Şu anda, DSÖ sınıflandırmasına göre tanımlanmış 20 major ve 18 minör meme kanseri alt tipi vardır (12).

İnvaziv Meme Kanserleri Histopatolojik Klasifikasyon	**Sıklığı**
Özel Tipi Olmayan İnvaziv Karsinom (NST).	8500/3
Pleomorfik Karsinom	8522/3
Osteoklast Benzeri Stromal Büyük Hücreli Karsinom	8035/3
Koryokarsinomatöz özellikleri olan Karsinom	
Melanotik Özellikleri olan Karsinom	
İnvaziv Lobuler Karsinom	8520/3
Klasik Lobuler Karsinom	
Solid Lobuler Karsinom	
Alveolar Lobuler Karsinom	
Pleomorfik Lobuler Karsinom	
Tubulolobuler Karsinom	
Miks Lobuler Karsinom	
Tubuler Karsinom	8211/3
Kribriform Karsinom	8201/3
Musinöz Karsinom	8480/3
Medüller Özellikleri olan Karsinom	
Medüller Karsinom	8510/3
Atipik Medüller Karsinom	8513/3
Medüller Özellikleri olan Özel Tipi Olmayan İnvaziv Karsinom 8500/3	
Apokrin Farklılaşma Gösteren Karsinom	
Mühür yüzük Hücreye Farklılaşan Karsinom	
İnvaziv Mikropapiller Karsinom	8507/3
Özel tipi Olmayan Metaplastik Karsinom	8575/3
Düşük Dereceli Adenoskomöz Karsinom	8570/3
Fibromatöz-Benzeri Metaplastik Karsinom	8572/3
Skomöz Hücreli Karsinom	8070/3
İğsi Hücreli Karsinom	8032/3
Mezenkimal Farklılaşma Gösteren Metaplastik Karsinom	
Kondroid Farklılaşma	8571/3
Kemik Farklılaşma	8571/3
Mezenkimal Farklılaşmanın Diğer Tipleri	8575/3
Miks Metaplastik Karsinom	8575/3
Myoepitelial Karsinom	8982/3
Epitel-myoepitel Tümörler	
Adenomyoepitel Karsinom	8983/3
Adenoid Kistik Karsinom	8200/3
Nadir Tipler	
Nöroendokrin Özellikleri Olan Karsinom	
Nöroendokrin Tümör, İyi Differensiye	8246/3
Nöroendokrin Karsinom Kötü Differensiye	
(Küçük Hücreli Karsinom).	8041/3
Nöroendokrin Farklılaşma Gösteren Karsinom	8574/3
Sekretuvar Karsinom	8502/3
İnvaziv Papiller Karsinom	8503/3
Asinik Hücreli Karsinom	8550/3
Mukoepidermoid Karsinom	8430/3
Polymorfik Karsinom	8525/3
Onkositik Karsinom	8290/3
Yağdan Zengin Karsinom	8314/3
Glikojenden Zengin Berrak Hücreli Karsinom	8315/3
Sebase Karsinom	8410/3

Tablo 1: İnvaziv Meme Kanserleri (mikroinvaziv kanserler ve invaziv papiller lezyonlar hariç).

İnvaziv meme karsinomları birçok histolojik alt tipten oluşur. “İnvaziv duktal karsinom” diğer bir deyişle ‘özel tipte olmayan invaziv karsinom’ veya ‘başka şekilde sınıflandırılamayan invaziv karsinom en yaygın histolojik tiptir ve yapılan çalışmalarda invaziv meme kanserinin% 49 ila 75'ini oluşturur (14-17). Aşağıda verilen tahmini yüzdeler 1992 ve 2001 yılları arasında Ulusal Kanser Enstitüsü'nün Gözetim, Epidemiyoloji ve Sonuçlar (SEER) veri tabanında bildirilen 135.157 meme kanseri olan kadına ait eş zamanlı bir populasyona dayalı seriden alınmıştır(13).

İnvaziv Duktal Karsinom	%76
İnvaziv Lobuler Karsinom	%8
Duktal-Lobular	%7
Müsinöz(kolloid).	%2,4
Tübüler	%1,5
Medüller	%1,2
Papiller	%1

Metaplastik meme kanseri ve invaziv mikropapiller meme kanseri dahil olmak üzere diğer alt tiplerin tümü, vakaların % 5'inden daha azını oluşturmaktadır (18).

Ayrıca Türkiye’de yapılan, Ulusal Meme Kanseri Veri Tabanı (UMKVT) ve Türkiye Meme Hastalıkları Dernekleri Federasyonu ‘na (TMHDF) kayıtlı kadınlara ilişkin klinik ve patolojik verilerin bir analizini sağlamayı amaçlayan bir çalışmada, 1 Mayıs 2005 ve 1 Mayıs 2011 tarihleri arasında, 24 farklı sağlık biriminden toplam 13.420 meme kanseri vakası çalışmaya dahil edilmiştir (19). Bu çalışmaya göre Türkiye’de histolojik invaziv meme kanseri tipleri aşağıdaki gibidir. % 79'u invaziv duktal kanser, % 7.4'ü invaziv lobüler kanser, % 9.8'i karışık kanser türleri (invaziv duktal + invaziv lobüler), % 4'ü diğer histolojik tiplerdir (ör. inflamatuar, intrakistik papiller, müsinöz, vb.).

Meme kanseri hastalarının klinik tedavisini yönlendirmede histopatolojik değerlendirme çok etkilidir. Bununla birlikte, aynı histolojik alt tipi ve aynı histolojik derecesi olan aynı evredeki hastalar arasında tedaviye cevap ve uzun süreli sağkalım gibi konuların yansıra ÖR pozitif hastalarda tamoksifen tedavisinin ve HER-2 amplifikasyonu varlığında trastuzumab tedavisinin etkinliği gibi konularda tespit edilen önemli farklılıklar; meme kanserinin heterojen bir hastalık grubu olduğu inancını destekler, böylece tümörün biyolojik özelliklerinin hastalık yönetiminde önemini gösterir. Dolayısıyla moleküler klasifikasyon yöntemleri daha kesin bir

sınıflandırma, dolayısıyla daha hedefe yönelik ve bireyselleştirilmiş tedavi seçenekleri sağlar (20).

2.2.1. Meme Kanserinin Moleküler Klasifikasyonu

Luminal A	Luminal B	HER2 overekpresyonu	Bazal benzeri
%55 hasta	%15 hasta	%15-20 hasta	%10 hasta
Hormonoterapiye(HT) en duyarlı, KT'ye yanıt düşük	HT ve KT'ye duyarlı	HER2 hedefli tedavilere ve KT'ye duyarlı	KT'ye duyarlı
ÖR, PR(+) >%20	ÖR(+), PR düşük veya negatif	ÖR, PR negatif	ÖR, PR negatif
Ki67 düşük(<%20)	Ki67 yüksek		
HER2 (-).	Her2(-). veya (+).	HER2 (+)	HER2(+)
En iyi prognozlu			En kötü prognozlu

Tablo2: Meme kanserinin moleküler klasifikasyonu

Meme kanseri için en sık kullanılan klasifikasyon sistemi ise Tümör, Lenf nodu, Metastaz (TNM) evreleme sistemi olup hastalık evresini belirlemek için kullanılan uluslararası kabul görmüş bir sistemdir. Bu hastalık evresinin belirlenmesi, prognozu ve tedavi yönetimini belirlemek için kullanılır. Ayrıca, hastalık yönetiminde birlikte çalışan doktorlar ile doktorlar ve hastalar arasında tedavi ve prognoz hakkında tartışmaları kolaylaştırmak için de kullanılır. TNM evreleme sistemi, hasta sonuçlarının tahmin edilmesine ve izlenmesine yardımcı olmak için, önemli tümör özelliklerini sağkalım verileri ile ilişkilendirir. Gerek görüntüleme tekniklerindeki gerekse tedavilerdeki gelişmeler ve bu gelişmelerin sağkalım üzerindeki etkileri göz önüne alınarak, bu klasifikasyon sisteminde periyodik revizyonların yapılması gerekir (21).

1 Ocak 2018 tarihinden itibaren geçerli olan TNM evreleme sisteminin sekizinci baskısı, anatomik evreleme gruplarının yanı sıra patolojik ve klinik prognostik evreleme grubu olmak üzere iki prognostik evreleme grubu içerir. Evreleme geleneksel olarak tümör büyüklüğüne, lenf düğümlerinin tutulumuna ve metastatik hastalığın varlığına dayanmaktadır.

Sekizinci baskı, sadece anatomik evrelemenin aksine anatomik evreleme yanısıra hastanın prognostik verilerini daha iyi ayırt eden biyolojik belirteçleri içerir. Tüm hastalarda kullanım için klinik prognostik evre tablosu, öykü, fizik muayene, yapıldıysa görüntüleme çalışmaları ve ilgili biyopsilere dayalı olarak geliştirilmiştir.

Sekizinci versiyon, hastanın T, N, M ve tümör derecesini içermesinin yanısıra; insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2), östrojen reseptörü (ÖR) ve progesteron reseptörü (PR) durumunu da içerir. Sekizinci versiyonda ayrıca başlangıç tedavisi olarak (herhangi bir sistemik veya radyasyon terapisi alınmadan önce) cerrahi rezeksiyon uygulananlar için, patolojik bir prognostik tablo geliştirilmiş ve dolayısıyla tüm klinik bilgiler, biyomarker verileri ve cerrahi ile rezeke edilmiş doku bulguları temel alınarak evreleme yapılması planlanmıştır. Bu sistemde biyomarker testinin yapıldığı alanlarda prognostik evreleme grupları kullanılmalıdır.

Prognostik evreleme sistemi, hasta sonlanımı hakkında rafine bilgi sağlamasına rağmen; anatomik evreleme, dünya çapında tedavi edilen ve biyobelirteç testine erişimi olmayan hastalar için ortak bir dil sağlamak amacıyla yeni TNM evreleme sisteminde de yer almıştır (22).

2.2.2. Yeni sistemde dahil edilen biyolojik prognostik faktörler:

1.Östrojen reseptörü (ÖR) ve progesteron reseptörü (PR) ekspresyonu: ÖR ve PR testi tipik olarak immünohistokimya kullanılarak yapılır. Bir tümör, tümör hücrelerinin yüzde 1'i veya daha fazlası, boyama gücüne bakılmaksızın ilgili protein için boyanırsa, ÖR veya PR pozitif olarak kabul edilir.

2.İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2):
HER2, protein seviyelerini değerlendirmek için immünohistokimya veya gen kopya sayısını ölçmek için floresan insitu hibridizasyon (FISH). kullanılarak analiz edilir.

3. Histolojik derecelendirme: Bir tümörün derecesi morfolojik özellikler değerlendirilerek belirlenir (örneğin: tübüllerin oluşumu, mitotik sayı, değişkenlik ve hücresel çekirdeklerin boyutu ve şekli). Sonra her özellik için 1 (en uygun) ve 3 (en az olumlu) arasında bir puan verilir ve puanlar toplanır. 1.derece, 3 ve 5 arasındaki toplam puana karşılık gelir; 2.derece , 6 veya 7'lik toplam puana karşılık gelir ve 3.derece , 8 veya 9'luk toplam puana karşılık gelir.

4. Tekrarlama Puanı(RS): Hormon reseptörü pozitif, HER2 negatif, LN negatif tümör boyutu <5 cm olan hastalar için multigen test sonuçları prognostik evrelemeye dahil edilmelidir. Bunun için level 1 kanıta sahip tek multigen ekspresyon paneli RS, yeni TNM evreleme sisteminde de yer almıştır. Onkotip Dx olarak adlandırılan bu panelde ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile değerlendirilen 21 genin genomik analizi yapılır. Skorun <11 olması, olumlu bir prognozu belirtir. TAILORx çalışmasında, sadece endokrin tedavisi olan yukarıda bahsettiğimiz hormon reseptörü pozitif, HER2 negatif, LN negatif tümör boyutu <5 cm olan hastalar için beş yıllık uzak rekürrens olmadan sağkalım yüzde 99.3 olarak bulunmuştur(23).

2.2.3. Primer Tümör Klasifikasyonu:

Tümör sınıflandırması için tanımlar klinik veya patolojik olarak değerlendirilse de aynıdır. Evrelemenin klinik (Clinic) veya patolojik (Pathologic) kriterlere göre yapıldığını belirtmek için cT veya pT tanımı kullanılır. Mevcut olduğunda patolojik sınıflandırma tercih edilir.

Primer Tümör
Tx Değerlendirilemeyen primer tümör
T0 Primer tümöre ait bulgu yok
Tis İn situ karsinom
Tis(Paget). İnvaziv kanser ve/veya in situ karsinom ile birlikte olmayan meme başının Paget hastalığı. Meme parankiminden kaynaklanan bir kanser ve Paget hastalığı birlikteliği varsa T sınıflaması meme parankiminden kaynaklanan tümöre göre yapılır. Ancak Paget hastalığının varlığı yine not edilmelidir**.**
T1 En büyük çapı ≤ 2 cm tümör
T1mic En büyük çapı ≤ 0.1 cm mikroinvaziv tümör
T1a Tümör çapı >0.1 cm, ancak ≤ 0.5 cm (0,1cm ila 0,19 cm arasında herhangi bir ölçümü 0,2cm'e yuvarlayın).
T1b Tümör çapı >0.5 cm, ancak ≤ 1 cm
T1c Tümör çapı > 1 cm, ancak ≤ 2 cm
T2 Tümör çapı > 2 cm ancak ≤ 5 cm
T3 Tümör çapı > 5 cm
T4 Tümör herhangi bir boyutta fakat göğüs duvarı ve/veya cilt tutulumu (ülserasyon veya cilt nodülleri). varlığı. Sadece dermis invazyonu T4 olarak değerlendirilmez.
T4a Göğüs duvarına yayılım var fakat pektoral kas tutulumu yok
T4b İnflamatuvar kanser özelliklerini içermeyen ciltte ülserasyon ve/veya aynı taraf memede satellit nodüler ve/veya enflamatuar karsinom kriterlerini karşılamayan ciltte ödem (peau d'orange-portakal kabuğu görünümü).
T4c Hem T4a hem de T4b
T4d İnflamatuvar karsinom

Enflamatuar karsinom, memenin derisinin üçte birini veya daha fazlasını içeren tipik cilt değişiklikleri olan vakalarla sınırlıdır. Dermal lenfatikleri tutan invaziv karsinomun histolojik varlığı tanıyı desteklerken, tanı için gerekli değildir; ayrıca iltihaplı meme kanseri tanısı için tipik klinik bulguları olmayan dermal lenfatik invazyon da yeterli değildir.

2.2.4. Tümör (T) sınıflamasındaki değişiklikler:

Lobüler karsinoma in situ (LCIS) artık iyi huylu bir tümör olarak kabul edilmektedir ve artık Tis olarak sınıflandırılmamaktadır.

>1 mm ve <2 mm arasındaki tümörler, 1 ila 1.5 mm arasındaki tümörleri mikroinvaziv (T1mi) karsinom olarak sınıflandırmamak için şimdi 2 mm'ye yuvarlanmalıdır.

Sekizinci baskı, primer tümör çevresindeki küçük, mikroskopik, uydu tümör odaklarının maksimum tümör boyutuna eklenmemesi gerektiğini doğrulamıştır.

Aynı zamanda, çoklu eşzamanlı tümörler için T boyutunun en büyük tümöre ait olduğu, fakat T skoruna "m" ekinin eklenmesi gerektiği açıklığa kavuşturulmuştur.

T4b lezyonları primer tümörden ayrı, deride makroskopik uydu tümör nodülleri olarak tanımlanmıştır. Mikroskobik deri ve dermal tümörlerini uydu nodülleri olarak nitelendirmek uygun değildir ve tümör büyüklüğüne göre sınıflandırılmalıdır.

2.2.5. Bölgesel Lenf Nodları (Klinik Sınıflandırma)

cNx Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor (örneğin önceden çıkarılmış).
cN0 Bölgesel lenf nodu metastazı yok (görüntüleme yöntemleri ve klinik muayene ile).
cN1 Aynı taraf düzey I ve II aksiller lenf nodlarında hareketli metastatik lenf nodları
cN1mi** –Mikrometastazlar (yaklaşık 200 hücre, 0.2 mm'den büyük, ancak hiçbiri 2.0 mm'den büyük olmayan).
cN2 Aynı taraf düzey I ve II aksiller lenf nodlarında birbirine yapışık veya fikse lenf nodları veya klinik olarak tespit edilmeyen aksiller lenf nodlarında ve metastaz olmaksızın klinik olarak tespit edilen internal mammaryan lenf nodlarında metastaz
cN2a Aynı taraf düzey I ve II aksiller lenf nodlarında birbirine yapışık, fikse veya diğer yapılara fikse olmuş lenf nodu metastazı
cN2b Klinik olarak tespit edilmeyen aksiller lenf nodlarında metastaz olmaksızın klinik olarak tespit edilen sadece aynı taraf internal mammaryan lenf nodlarında metastaz
cN3 Aynı taraf düzey I ve II aksiller lenf nodlarında metastaz olsun ya da olmasın aynı taraf infraklavikuler lenf nodu metastazı (düzey III) veya klinik olarak aksiller lenf nodu metastazı ile birlikte klinik olarak tespit edilmiş aynı taraf internal mammaryan lenf nodlarında metastaz veya aksiller ya da internal mammaryan lenf nodlarında metastaz olsun ya da olmasın aynı taraf supraklavikuler lenf nodlarında metastaz
cN3a Aynı taraf infraklavikuler lenf nodlarında metastaz
cN3b Aynı taraf aksiller ve internal mammaryan lenf nodlarında metastaz
cN3c Aynı taraf Supraklavikuler lenf nodu metastazı

2.2.6 Bölgesel Lenf Nodları (Patolojik Sınıflandırma)

pNx Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor (örneğin önceden çıkarılmış).

pN0 Histolojik olarak lenf nodlarında metastaz yok ya da izole tümör hücresi (İTH) için ek tetkik yapılmadı.

İTH 0.2 mm'den büyük olmayan tek tümör hücreleri veya küçük hücre kümeleri olarak tanımlanmaktadır. Genellikle immünohistokimyasal (İHK) veya moleküler yöntemlerle tespit edilir, fakat H&E boyama ile de saptanabilir. İTH'nin olması malign aktivite olduğu anlamına gelmemektedir.

pN0(i+) Bölgesel lenf nodlarında 0.2 mm'yi geçmeyen İHK veya H&E ile tespit edilmiş malign hücreler (İTH dâhil).
pNo(mol+) Histolojik olarak lenf nodlarında metastaz yok, pozitif moleküler tetkikler (Reverse transkriptaz /polymerase chain reaction).
pN1 Mikrometastaz veya 1-3 aksiller lenf nodunda metastaz ve/veya internal mammaryan lenf nodlarında klinik olarak tespit edilemeyen Sentinel lenf nodu biyopsisi (SLNB)'de tespit edilen internal mammaryan lenf nodlarında metastaz
pNmi Mikrometastaz (>0.2 mm ve/veya 200'den fazla hücre), fakat 2 mm'den büyük değil
pN1a 1-3 aksiller lenf nodunda metastaz, en az bir tanesi 2 mm'den büyük
pN1b İnternal mammaryan lenf nodlarında klinik olarak tespit edilemeyen SLNB ile saptanmış mikro veya makrometastaz
pN1c 1-3 aksiller lenf nodunda metastaz ve internal mammaryan lenf nodlarında klinik olarak tespit edilemeyen fakat SLNB ile saptanan mikro veya makrometastaz
pN2 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz veya aksiller lenf nodlarında metastaz olmaksızın klinik olarak tespit edilen internal mammaryan lenf nodlarında metastaz.
pN2a 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz (en az birinde 2 mm'den daha büyük tümör varlığı).
pN2b Aksiller lenf nodunda metastaz olmaksızın klinik olarak tespit edilen mikroskopik onaylı veya onaysız internal mammaryan lenf nodunda metastaz.
pN3 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz; veya infraklavikuler lenf nodunda metastaz (düzey III) veya bir ya da daha fazla düzey I, II aksiller lenf nodu metastazı varlığında, aynı taraf internal mammaryan lenf nodlarında klinik olarak tespit edilen metastaz veya klinik olarak tespit edilemeyen, SLNB ile saptanan internal mammaryan lenf nodunda mikro veya makrometastaz ve 3'den fazla aksiller lenf nodunda metastaz veya aynı taraf supraklavikuler lenf nodlarında metastaz.
pN3a 10 ya da daha fazla aksiller lenf nodu metastazı (en az birinde 2 mm'den daha büyük tümör depoziti) veya infraklavikuler lenf nodu metastazı (düzey III).
pN3b Bir ya da daha fazla aksiller lenf nodu metastazı varlığında aynı taraf internal mammaryan lenf nodlarında klinik olarak tespit edilebilen lenf nodu metastazı veya klinik olarak tespit edilmeyen SLNB ile saptanan internal mammaryan lenf nodlarında mikro veya makrometastaz ve 3'den fazla aksiller lenf nodunda metastaz.
pN3c Aynı taraf supraklavikuler lenf nodu metastazı.

Patolojik sınıflandırmanın temelinde sentinel lenf nodu diseksiyonu olsun veya olmasın aksiller lenf nodu diseksiyonu bulunmaktadır. Sınıflandırma aksiller lenf nodu diseksiyonu olmadan sadece sentinel lenf nodu biyopsisine dayanılarak yapıldı ise (sn) kısaltması kullanılır (örnek: pN0 (sn)).

2.2.7. Uzak Metastaz

M0 Uzak metastaza ait klinik veya radyolojik bulgu yok. cM0 kategorisi demek için görüntüleme çalışmaları gerekli değildir.

cM0(İ+) Uzak metastaza ait klinik veya radyolojik bulgu yok fakat metastaza ait semptom ve bulgusu olmayan hastada kanda, kemik iliğinde veya bölgesel olmayan lenf nodlarında 0.2 mm'den büyük olmayan moleküler veya mikroskopik olarak saptanmış tümör hücreleri.

M1 Klinik ve radyolojik olarak tespit edilen uzak metastaz ve/veya histolojik olarak 0.2 mm'den büyük uzak metastaz.

Klinik olarak tespit edilmiş dendiğinde, fizik muayene veya radyolojik olarak (lenfosintigrafi hariç) tespit edildiği ve yüksek malignite şüphesi veya ince iğne aspirasyon biyopsisi ile yapılan sitolojik incelemeye dayanarak patolojik makrometastaz bulunduğu farzedilen durum tanımlanmaktadır.

Klinik olarak tespit edilmeyen tanımı fizik muayene veya görüntüleme yöntemleri ile (lenfosintigrafi hariç) saptanamayan anlamında kullanılmıştır.

T0 ve T1 tümörler Evre IIA'dan sadece nodal mikrometastaz varlığı olması nedeni ile ayrılır ve Evre IB olarak sınıflandırılır.

M0, M0(i+)'i de kapsar.

pM0 doğru bir tanımlama değildir, M0 sadece klinik olarak tanımlanır.

Eğer bir hasta neoadjuvan tedavi öncesi M1 ise Evre IV olarak sınıflandırılır. Tedavi sonrası tümör yanıtı olsa dahi hasta Evre IV olarak sınıflandırılmaya devam edilir.

Meme Kanseri TNM Anatomik Evre AJCC UICC 8.versiyon

Evre	T	N	M
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre 1A	T1	N0	M0
Evre 1B	T0	N1mi	M0
Evre 1B	T1	N1	mo
Evre 2A	T0	N1	M0
Evre 2A	T1	N1	M0
Evre 2A	T2	N0	M0
Evre 2B	T2	N1	M0
Evre 2B	T3	N0	M0
Evre 3A	T0	N2	M0
Evre 3A	T1	N2	M0
Evre 3A	T2	N2	M0
Evre 3A	T3	N1	M0
Evre 3A	T3	N2	M0
Evre 3B	T4	N0	M0
Evre 3B	T4	N1	M0
Evre 3B	T4	N2	M0
Evre 3C	Herhangi T	N3	M0
Evre 4	Herhangi T	Herhangi N	M1

Tablo 3: Anatomik evreleme tablosu biyomarker testlerinin rutin olarak mevcut olmadığı bölgelerde kullanılır. ABD'deki kanser kayıtları vaka raporlaması için prognostik evreleme şablonu kullanmalıdır.

TNM	GRADE	HER2	ÖR	PR	KLİNİK PROGNOSTİK EVRE
TisN0M0	Herhangi	Herhangi	Herhangi	Herhangi	0
T1*N0M0	G1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IA
T0N1miM0				Negatif	IA
T1*N1miM0			Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IA
T1*N0M0	G1	Negatif	Pozitif	Pozitif	IA
T0N1miM0				Negatif	IA
T1*N1miM0			Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IB
T1*N0M0	G2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IA
T0N1miM0				Negatif	IA
T1*N1miM0			Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IA
T1*N0M0	G2	Negatif	Pozitif	Pozitif	IA
T0N1miM0				Negatif	IA
T1*N1miM0			Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IB
T1*N0M0	G3	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IA
T0N1miM0				Negatif	IA
T1*N1miM0			Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IA
T1*N0M0	G3	Negatif	Pozitif	Pozitif	IA
T0N1miM0				Negatif	IB
T1*N1miM0			Negatif	Pozitif	IB
				Negatif	IB
T0N1¹M0	G1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IB
T1*N1¹M0				Negatif	IIA
T2N0M0			Negatif	Pozitif	IIA
				Negatif	IIA
T0N1¹M0	G1	Negatif	Pozitif	Pozitif	IB
T1*N1¹M0				Negatif	IIA

T2N0M0			Negatif	Pozitif	IIA
				Negatif	IIA
T0N1ᵃM0	G2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IB
T1*N1ᵃM0				Negatif	IIA
T2N0M0			Negatif	Pozitif	IIA
				Negatif	IIA
T0N1ᵃM0	G2	Negatif	Pozitif	Pozitif	IB
T1*N1ᵃM0				Negatif	IIA
T2N0M0			Negatif	Pozitif	IIA
				Negatif	IIB
T0N1ᵃM0	G3	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IB
T1*N1ᵃM0				Negatif	IIA
T2N0M0			Negatif	Pozitif	IIA
				Negatif	IIA
T0N1ᵃM0	G3	Negatif	Pozitif	Pozitif	IIA
T1*N1ᵃM0				Negatif	IIB
T2N0M0			Negatif	Pozitif	IIB
				Negatif	IIB
T2NIⁿM0	G1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IB
T3N0M0				Negatif	IIA
			Negatif	Pozitif	IIA
				Negatif	IIB
T2NIⁿM0	G1	Negatif	Pozitif	Pozitif	IIA
T3N0M0				Negatif	IIB
			Negatif	Pozitif	IIB
				Negatif	IIB
T2NIⁿM0	G2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IB
T3N0M0				Negatif	IIA
			Negatif	Pozitif	IIA
				Negatif	IIB
T2NIⁿM0	G2	Negatif	Pozitif	Pozitif	IIA
T3N0M0				Negatif	IIB
			Negatif	Pozitif	IIB

				Negatif	IIIB
T2NI^{n}M0 T3N0M0	G3	Pozitif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IB IIB IIB IIB
T2NI^{n}M0 T3N0M0	G3	Negatif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIB IIIA IIIA IIIB
T0N2M0 T1*N2M0 T2N2M0 T3N1^{n}M0 T3N2M0	G1	Pozitif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIA IIIA IIIA IIIA
T0N2M0 T1*N2M0 T2N2M0 T3N1^{n}M0 T3N2M0	G1	Negatif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIA IIIA IIIA IIIB
T0N2M0 T1*N2M0 T2N2M0 T3N1^{n}M0 T3N2M0	G2	Pozitif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIA IIIA IIIA IIIA
T0N2M0 T1*N2M0 T2N2M0 T3N1^{n}M0 T3N2M0	G2	Negatif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIA IIIA IIIA IIIB
T0N2M0 T1*N2M0 T2N2M0 T3N1^{n}M0	G3	Pozitif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIB IIIA IIIA IIIA

T3N2M0					
T0N2M0 T1*N2M0 T2N2M0 T3N1^{n}M0 T3N2M0	G3	Negatif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIIA IIIB IIIB IIIC
T4N0M0 T4N1^{n}M0 T4N2M0 HerhangiT N3M0	G1	Pozitif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIIA IIIB IIIB IIIB
T4N0M0 T4N1^{n}M0 T4N2M0 HerhangiT N3M0	G1	Negatif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIIB IIIB IIIB IIIC
T4N0M0 T4N1^{n}M0 T4N2M0 HerhangiT N3M0	G2	Pozitif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIIA IIIB IIIB IIIB
T4N0M0 T4N1^{n}M0 T4N2M0 HerhangiT N3M0	G2	Negatif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIIB IIIB IIIB IIIC
T4N0M0 T4N1^{n}M0 T4N2M0 HerhangiT N3M0	G3	Pozitif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIIB IIIB IIIB IIIB
T4N0M0 T4N1^{n}M0 T4N2M0	G3	Negatif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIIB IIIC IIIC IIIC

HerhangiT N3M0					
HerhangiT HerhangiN M1	Herhangi	Herhangi	Herhangi	Herhangi	IV

Tablo 4:

1. N1mi sadece klinik evrelemede eğer evreleme sadece rezeke edilmiş bir LN üzerinden yapılıyorsa ve primer kanser rezeke edilmediyse kullanılabilir.Çünkü N1mi olarak kategorize etmek için tüm LN'larının değerlendirilmesi gerekir.İnce iğne aspirasyon veya kor biyopsi değerlendirmeleri yeterli olmaz.

2. Primer tümör hakkında hiçbir değerlendirme yokken, LN tutulumu olan (örneğin T0N1…) veya memede duktal karsinoma insitu olup LN tutulumu olan (örneğin TisN1…) vakalarda; LN'daki tümörün grade'i veya HER2,ER,PR gibi reseptör durumu ile ilgili bilgiler kanserin evrelemesini yaparken kullanılmalıdır.

3.FISH testi ile kanserin HER2 durumu tam belirlenemediyse; 2013 ASCO/CAP HER2 tanı kılavuzlarına göre klinik prognostik evreleme şanlonunda HER2 negatif olarak tanımlanır.

4. Bu prognostik evreleme gruplarının prognostik değeri, toplumda meme kanserine yakalanmış ve uygun endokrin ve/veya/ sistemik kemoterapi rejimini almış hastalar baz alınarak oluşturulmuştur.

TNM	GRADE	HER2	ÖR	PR	PATOLOJİK PROGNOSTİK EVRE
TisN0M0	Herhangi	Herhangi	Herhangi	Herhangi	0
T1*N0M0	G1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IA
T0N1miM0				Negatif	IA
T1*N1miM0			Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IA
T1*N0M0	G1	Negatif	Pozitif	Pozitif	IA
T0N1miM0				Negatif	IA
T1*N1miM0			Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IA
T1*N0M0	G2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IA
T0N1miM0				Negatif	IA
T1*N1miM0			Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IA
T1*N0M0	G2	Negatif	Pozitif	Pozitif	IA
T0N1miM0				Negatif	IA
T1*N1miM0			Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IB
T1*N0M0	G3	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IA
T0N1miM0				Negatif	IA
T1*N1miM0			Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IA
T1*N0M0	G3	Negatif	Pozitif	Pozitif	IA
T0N1miM0				Negatif	IA
T1*N1miM0			Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IB
T0N1ᵃM0	G1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IA
T1*N1ᵃM0				Negatif	IB
T2N0M0			Negatif	Pozitif	IB
				Negatif	IIA
T0N1ᵃM0	G1	Negatif	Pozitif	Pozitif	IA
T1*N1ᵃM0				Negatif	IB

T2N0M0			Negatif	Pozitif	IB
				Negatif	IIA
T0N1^{a}M0	G2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IA
T1*N1^{a}M0				Negatif	IB
T2N0M0			Negatif	Pozitif	IB
				Negatif	IIA
T0N1^{a}M0	G2	Negatif	Pozitif	Pozitif	IA
T1*N1^{a}M0				Negatif	IIA
T2N0M0			Negatif	Pozitif	IIA
				Negatif	IIA
T0N1^{a}M0	G3	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IA
T1*N1^{a}M0				Negatif	IIA
T2N0M0			Negatif	Pozitif	IIA
				Negatif	IIA
T0N1^{a}M0	G3	Negatif	Pozitif	Pozitif	IB
T1*N1^{a}M0				Negatif	IIA
T2N0M0			Negatif	Pozitif	IIA
				Negatif	IIA
T2NI^{n}M0	G1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IA
T3N0M0				Negatif	IIB
			Negatif	Pozitif	IIB
				Negatif	IIB
T2NI^{n}M0	G1	Negatif	Pozitif	Pozitif	IA
T3N0M0				Negatif	IIB
			Negatif	Pozitif	IIB
				Negatif	IIB
T2NI^{n}M0	G2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IB
T3N0M0				Negatif	IIB
			Negatif	Pozitif	IIB
				Negatif	IIB
T2NI^{n}M0	G2	Negatif	Pozitif	Pozitif	IB
T3N0M0				Negatif	IIB
			Negatif	Pozitif	IIB

				Negatif	IIB
T2NI^{n}M0 T3N0M0	G3	Pozitif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IB IIB IIB IIB
T2NI^{n}M0 T3N0M0	G3	Negatif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIA IIB IIB IIIA
T0N2M0 T1*N2M0 T2N2M0 T3N1^{n}M0 T3N2M0	G1	Pozitif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IB IIIA IIIA IIIA
T0N2M0 T1*N2M0 T2N2M0 T3N1^{n}M0 T3N2M0	G1	Negatif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IB IIIA IIIA IIIA
T0N2M0 T1*N2M0 T2N2M0 T3N1^{n}M0 T3N2M0	G2	Pozitif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IB IIIA IIIA IIIA
T0N2M0 T1*N2M0 T2N2M0 T3N1^{n}M0 T3N2M0	G2	Negatif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IB IIIA IIIA IIIB
T0N2M0 T1*N2M0 T2N2M0 T3N1^{n}M0	G3	Pozitif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIA IIIA IIIA IIIA

T3N2M0					
T0N2M0 T1*N2M0 T2N2M0 T3N1^{n}M0 T3N2M0	G3	Negatif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIB IIIA IIIA IIIC
T4N0M0 T4N1^{n}M0 T4N2M0 HerhangiT N3M0	G1	Pozitif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIIA IIIB IIIB IIIB
T4N0M0 T4N1^{n}M0 T4N2M0 HerhangiT N3M0	G1	Negatif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIIA IIIB IIIB IIIB
T4N0M0 T4N1^{n}M0 T4N2M0 HerhangiT N3M0	G2	Pozitif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIIA IIIB IIIB IIIB
T4N0M0 T4N1^{n}M0 T4N2M0 HerhangiT N3M0	G2	Negatif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIIA IIIB IIIB IIIC
T4N0M0 T4N1^{n}M0 T4N2M0 HerhangiT N3M0	G3	Pozitif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIIB IIIB IIIB IIIB
T4N0M0 T4N1^{n}M0 T4N2M0 HerhangiT N3M0	G3	Negatif	Pozitif Negatif	Pozitif Negatif Pozitif Negatif	IIIB IIIC IIIC IIIC
HerhangiT HerhangiN M1	Herhangi	Herhangi	Herhangi	Herhangi	IV

Tablo5:

1. Primer tümör hakkında hiçbir değerlendirme yokken, LN tutulumu olan (örneğin T0N1…) veya memede duktal karsinoma insitu olup LN tutulumu olan (örneğin TisN1…) vakalarda; LN'daki tümörün grade'i veya HER2,ER,PR gibi reseptör durumu ile ilgili bilgiler kanserin evrelemesini yaparken kullanılmalıdır.

2. FISH testi ile kanserin HER2 durumu tam belirlenemediyse; 2013 ASCO/CAP HER2 tanı kılavuzlarına göre klinik prognostik evreleme şanlonunda HER2 negatif olarak tanımlanır.

3. Bu prognostik evreleme gruplarının prognostik değeri, toplumda meme kanserine yakalanmış ve uygun endokrin ve/veya/ sistemik kemoterapi rejimini almış hastalar baz alınarak oluşturulmuştur.

2.3. Meme Kanseri Risk Faktörleri

Son 10 yıl içinde yapılan yoğun çalışmalarda; yeni teşhis edilen meme kanseri vakalarının %20-30'unun, çeşitli risk faktörlerinin ortaya çıkıp meme hücrelerinde aktif olarak neoplastik dönüşüm sürecini başlatması ile bağlantılı olduğu görülmüştür (24). Yeni teşhis edilen meme kanserlerinin yaklaşık yarısı, menarş yaşı, ilk canlı doğum, menopoz ve proliferatif meme hastalığı gibi bilinen risk faktörleri ile açıklanabilir. %10'luk bir kısmı aile öyküsü ile ilişkilidir. Buna ek olarak, meme kanseri riski ile ilişkisi açıkça gösterilmemesine rağmen meme kanseri riski; demografik özellikler, yaşam tarzı ve çevresel faktörlerle değişebilir (25).

Neoplastik dönüşümü etkileme olasılığı bir kriter olarak alındığında, süreci başlatan risk faktörleri iki gruba ayrılabilir. Birinci grubu yaş, cinsiyet, ırk, uzunluk, ailesel neoplastik hastalık oluşumunu veya meme bezlerinde benign proliferatif lezyonların, yoğun meme dokusunun oluşumunu teşvik edecek genetik altyapının mevcudiyeti, reproduktif öykü gibi iç faktörler oluşturur. Hepsi bağımsız parametrelerdir ve bu parametrelerde bireyin hayat sürecinde basit değişiklikler yapılamaz.
İkinci grup yaşam tarzı, diyet veya uzun süreli tıbbi müdahale ve bunun neden olduğu neoplastik süreçler gibi dış faktörlerden oluşur ve bu faktörler belirli bir dereceye kadar modifiye edilebilir (24).

2.3.1. İntrinsik Meme Kanseri Risk Faktörleri:

Demografik Özellikler:

Meme kanseri riski yaşla birlikte artar. Gözetim, Epidemiyoloji ve Son Sonuçlar (SEER) veri tabanındaki verileri kullanarak,2013-2015 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri'nde bir kadında meme kanseri gelişme olasılığı:

Doğumdan 49 yaşına kadar -2.0 (49 kadında 1).

50-59 yaşları arasında -2,3 (42 kadında 1).

60-69 yaşları arasında -3,5 (28 kadında 1).

70 yaş ve üzerinde -6,7 (14 kadında 1).

Doğumdan ölüme -12,4 (8 kadında 1).

Meme kanseri kadınlarda erkeklerden 100 kat daha sık görülür. Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 270.000'den fazla kadına invaziv meme kanseri teşhisi konulmakta olup, erkeklerde her yıl 3000'den az vakaya meme kanseri yeni tanısı konulmaktadır (26).

Ulusal Kanser Kayıtları Programı ve SEER'e bağlı populasyon tabanlı kanser kayıtlarından elde edilen verileri kullanarak, yeni teşhis edilen meme kanseri oranı beyaz ırkta 100.000 kadında 124, siyah ırkta ise 100.000 kadında 122'dir. Buna rağmen, siyah kadınlar sıklıkla bölgesel veya ileri hastalıklarla başvururken (yüzde 46 ve yüzde 36), meme kanserine bağlı mortalite oranı yüzde 41 daha yüksektir (100.000 kadın başına 21 ölüme karşılık 30 ölüm). Meme kanseri oranlarındaki etnik farklılıkların çoğu yaşam tarzı ile ilişkili faktörlere atfedilebilir (örneğin, vücut kitle indeksi (VKİ), reproduktif paternler). Tabiki tüm bu faktörlere sağlık hizmetlerine erişim, genetik ve / veya biyolojik faktörler de katkıda bulunabilir.

Uzun Boy:

Hem premenopozal hem de postmenopozal kadınlarda meme kanseri riski ile ilişkilidir (27,28). Bir çalışmada, 175 cm (69 inç) ve üzeri boydaki kadınların meme kanseri gelişme olasılığı, 160 cm (63 inç) altı boylarda olanlardan % 20 daha fazladır(29). Bu ilişkinin altında yatan mekanizma bilinmemektedir, ancak çocukluk ve ergenlik döneminde beslenme maruziyetlerinin etkisini yansıtabilir (30).

Ailesel/Genetik Risk Faktörleri:

Meme kanserinin önemli intrinsik risk faktörleri arasında genetik mutasyonların varlığı, meme kanseri aile hikayesi ve kişinin kendi meme kanseri öyküsü sayılabilir. Geçtiğimiz 10 yılda yapılan yoğun çalışmalar ile artmış malign meme veya yumurtalık kanseri riski olan genlerin tanımlanması sağlanmıştır. Bunlardan en önemlileri hücrede tümör baskılayıcı genlerin işlevini yerine getirmek ile görevli olan BRCA1 ve BRCA2 (meme kanseri yatkınlığı 1 ve 2) başta olmak üzere p53, STK11, CDH1,

PALB2, PTEN ve uyumsuzluk onarım genleridir (24). Kodlama dizisindeki değişiklikler Alana Özgü -Kalıtsal Meme Kanseri (HBC-SS) ve Kalıtsal Meme-Yumurtalık Kanseri (HBOC) gibi kalıtsal sendromların gelişimine neden olur ve bu sendromlar meme ve / veya yumurtalık kanseri şeklinde ortaya çıkar. BRCA1 ve BRCA2 genlerinde mutasyonların izlenmesi, BRCA1 mutasyonu olanlarda %65, BRCA2 mutasyonu olanlarda %45 oranında meme ve / veya yumurtalık kanseri görülme riskinde artış ile ilişkilidir (31).

BRCA1 veya BRCA2 gen mutasyonlarının neden olduğu kalıtsal sendromlar, hastada kompleks moleküler analizlerin yapılmasına neden olacak pek çok klinik semptom ile ilişkili olabilir. İlk temel kriter, meme ve / veya yumurtalık kanserinin 45 yaşın altında, erken yaşta görülmesidir. İkinci kriter ise birinci ve ikinci derece akrabalarda, meme ve / veya yumurtalık kanseri vakalarında ailesel birikiminin belirlenmesidir (32). Bazı klinik durumlarda, yukarıda bahsedilen durumlar mevcut olmasa da doktor moleküler analiz isteyebilir. Rastgele bakılan populasyonda meme kanseri hastalarına moleküler tarama yapıldığında, BRCA mutasyon taşıyıcısı olan hastaların % 35 ila% 50'sinde aile hikayesi bulunmadığı gözlenmiştir (33). Bu nedenle, ASCO (American Klinik Onkoloji Topluluğu), ESMO (Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği), NCCN (Ulusal Kapsamlı Kanser Network) veya NICE (Ulusal Sağlık Enstitüsü) gibi lider topluluklar, BRCA mutasyon taşıyıcısı olabilecek moleküler analiz yapılması gereken hastaları belirlemek için çeşitli kılavuzlar yayınlamışlardır. Farklı populasyonların sosyoekonomik koşullarının yanı sıra genetik varyasyonlarını dikkate alması gerektiğinden bu kılavuzlar birbirinden biraz farklıdır. Ancak hepsi 35 yaşında meme kanseri teşhisi konan hastalarda, BRCA1 ve / veya BRCA2 mutasyonlarının varlığını değerlendirmek için genetik test yapmanın gerekliliğini savunur. Ayrıca 40 yaş meme kanseri tanısı almış; östrojen, progesteron reseptörü eksprese etmeyen ve HER2 reseptörü aşırı ekspresyonu göstermeyen hastada (üçlü negatif), genetik test yapılması önerilmektedir. Bunun yanısıra bilateral meme kanseri hastalarına, özellikle tümör 50 yaşına kadar ortaya çıktıysa ,ailede meme ve / veya yumurtalık kanseri öyküsü mevcutsa veya meme kanseri tanısı alan erkeklere genetik konsültasyon önerilir(34). BRCA mutasyonlarının incelenmesi için diğer endikasyon ise ailede erken yaşta pankreas kanseri veya malign melanom gibi kanser öyküsünün bulunmasıdır(35).

Pozitif aile meme kanseri öyküsü ile ilişkili risk, kanser tanılı birinci derece kadın akrabalarının sayısından ve tanı yaşından güçlü bir şekilde etkilenmektedir. Meme kanseri tanısı olan 50.000'den fazla kadın ve 100.000 kontrol grubunun oluşturduğu birleştirilmiş geniş bir analizde, birinci derece akrabadan bir kadında meme kanseri mevcudiyetinde; meme kanseri riskinin iki kat arttığı; iki birinci derece akrabasında meme kanseri olanda riskin üç kat arttığı gözlenmiştir (36). Ayrıca hastanın birinci derece akrabasına meme kanseri teşhisi 30 yaşından önce konulmuşsa, o kişinin meme kanseri riski üç kat artarken (RR 3.0,% 95 CI 1.8-4.9), etkilenen akrabanın teşhisi 60

yaşından sonra konulmuşsa risk sadece 1,5 kat artar (36). Bununla birlikte, aile öyküsü, etkilenen akrabanın tanısı ileri yaşta konulmuş olsa da hala önemli bir risk faktörüdür. 400.000'den fazla kadına yönelik prospektif bir kohort çalışmasında, birinci derece akrabada aile meme kanseri öyküsü, akrabanın 50 yaşından önce veya sonra teşhis edilip edilmediğine bakılmaksızın artan meme kanseri riski ile ilişkili bulunmuştur (37).

Kişisel meme kanseri öyküsü de diğer bir intrinsik risk faktörüdür. Kişinin duktal karsinom öyküsü (DCIS) veya invaziv meme kanseri öyküsü olması, kontralateral memede invaziv meme kanseri geliştirme riskini artırır. Birincil meme kanseri olan yaklaşık 340.000 kadını içeren SEER verilerini kullanan 2010 yılında yapılan bir çalışmada, invaziv kontralateral meme kanseri insidansı ortalama 7.5 yıllık takipte % 4 olarak bulunmuştur(38). Kişinin kontralateral memede kanser riski, indeks meme kanseri teşhisi sırasındaki yaşa ve birincil kanserin hormon reseptör durumuna göre değişir.

Daha önce ÖR (-) meme kanseri olan kadınlar için, indeks tanı 30 yaşından önce konulmuşsa, risk daha geç yaşta tanı konulana göre daha fazladır (30 ila 35 yaşlarında konulan tanıda 1,26'ya karşı ≥40 yaş üzerinde konulan tanılar için 0,85). Daha önce ÖR (+) meme kanseri olan kadınlar için, indeks tanı 30 yaşından önce konulmuşsa risk daha geç yaşta tanı konulana göre sadece biraz yüksektir. Meme kanseri öyküsü olan kadınlar için, ailede meme kanseri öyküsü varsa, kontralateral memede kanser riski daha da yüksektir (39). Akrabada görülen kanser ≤40 yaşlarında teşhis edilmişsse, kişinin kanser riski daha da artar.

Reprodüktif Öykü:

Östrojen hormonuna maruz kalınan süre ile meme kanseri gelişme riski arasında doğru orantı olup (erken menarş (12 yaşından önce), geç menapoz (55 yaşından sonra); bu sürenin kısalmasının tümör gelişiminden koruyucu bir rol oynadığı düşünülmektedir (40,41). İlk canlı doğumun ileri yaşta yapılması ve hiç doğum yapmamış olmak meme kanseri riskinde artışla ilişkilidir. Nulliparite meme kanseri rölatif riskinde 1.2-1.7 artışa neden olur (42). Multiparitenin meme kanserinden koruyucu etkisi tartışmalıdır

fakat artan hamilelik sayısı ile azalan kanser riskinden bahseden çalışmalar mevcuttur (43-46). İnfertilitenin meme kanseri riskini azalttığı yönündeki veriler ve infertilite tedavisinin meme kanseri riskini ne yönde etkilediğine dair bilgiler çelişkilidir (47-48). Laktasyon meme kanseri riskini azaltmaktadır (49-50).

Proliferatif Meme Lezyonları (Atipi İçermeyen ve İçeren):

İntrinsik risk faktörlerden bahsederken, meme bezlerinde meydana gelen iyi huylu karakterde proliferatif lezyonları unutmamak gerekir. Bu lezyonlar iyi huyludur ancak malign lezyonların ortaya çıkma riskini önemli ölçüde artırabilirler. Epidemiyolojik verilere göre, meme bezlerinde iyi huylu proliferatif lezyonlar teşhis edilen hasta grubunda, hücresel atipi veya birinci ve ikinci derece akrabalarda meme neoplazmlarının ailesel agregasyonu görülüyorsa, hücresel atipi ve aile öyküsü olmayan kadınlara göre meme kanseri riskinde 11 kat artış olduğu söylenmektedir (51).

Dens Meme Yapısı:

Meme dokusunun yoğunluğu, yağ dokusuna nispi glandüler ve bağ dokusu (parankim) miktarını yansıtır. Meme yoğunluğu radyodens fibroglandüler dokunun boyutunun bir ölçüsüdür (52). Mamografik olarak yoğun meme dokusu tanımı, genellikle memenin %75'inden fazlasında yoğun doku içeren memeler için kullanılır ve yoğun meme dokusuna sahip kadınlar, daha az veya hiç yoğun dokuya sahip olmayan benzer yaştaki kadınlara göre dört ila beş kat daha fazla meme kanseri riskine sahiptir (53-56) Meme yoğunluğu, spesifik bir meme kanseri alt tipiyle ilişkili görünmemektedir (47,48). San Francisco Mamografi kayıtlarından 44.811 katılımcının dahil olduğu bir çalışmada, yoğun meme dokusu bağlamında ortaya çıkan meme kanserlerinin ÖR pozitif olması muhtemeldir (57).

Meme yoğunluğu büyük ölçüde kalıtsal bir özellik olmasına rağmen, eksojen hormonlar yoğunluğu etkileyebilir (59-62). Menopoz sonrası östrojen ve progesteron hormonu tedavisi meme yoğunluğunu arttırırken, ÖR antagonistleri (yani tamoksifen) meme yoğunluğunu azaltır (63-65). Günlük rastgele kombine at östrojenleri artı medroksiprogesteron asetat veya plasebo verilen 413 kadını içeren prospektif bir çalışmada, hormonal tedavi alan kadınların ortalama mamografik yoğunluğunda % 6 artış saptanırken plasebo alan kadınlarda ortalama mamografik yoğunlukta ortalama % 0,9 azalma olmuştur (63). Bu ilişkiye rağmen, meme yoğunluğu endojen hormon seviyeleri ile güçlü bir korelasyon göstermemektedir (66).

2.3.2. Ekstrinsik Meme Kanseri Risk Faktörleri:

Beslenme Alışkanlığı ve VKİ: Meme kanseri çevresel risk faktörlerinden bir tanesi beslenme alışkanlığı ve özellikle gelişmiş ülkelerde beslenme alışkanlıklarının sebep

olduğu obezitedir. Aşırı kilo ve obeziteye neden olacak yağdan zengin besinler yemek ve bir dizi kimyasal katkı maddesi içeren işlenmiş gıdalar tüketmek meme bezinde neoplastik dönüşüm sürecini başlatan bir faktör olabilir (67). Bu korelasyon, özellikle postmenopozal dönemdeki kadınlarda gözlemlendiğinde, östrojen, progesteron veya HER2 reseptörlerinin eksprese olmadığı meme kanseri gelişme riski artar (68). Yukarıda açıklanan gözlemler Saxe ve ark. tarafından da doğrulanmıştır. (69) Konuyla ilgili yazılarda, neoplastik hastalık için tedavi edilen postmenopoz meme kanseri olan kadınlarda, düşük yağlı diyet kullanmanın relaps riskini önemli ölçüde azalttığı vurgulanmıştır.

Egzersiz: Çalışmalar haftada 3-5 kez düzenli fiziksel aktivitenin, % 20-40 oranında meme kanseri oluşumu riskini azaltığını, immün sistemi güçlendirdiğini, genel zindeliği ve yaşam kalitesini artırdığını kanıtlamıştır (70). 2016 yılında konuyla ilgili epidemiyolojik çalışmaların gözden geçirildiği bir derlemede, fiziksel olarak en aktif kadınlarda meme kanseri riskinin, en az aktif olan kadınlara kıyasla azaldığını ortaya koymuştur (RR 0.88,% 95 GA 0.85-0.90). (71). Premenopozal ve postmenopozal kadınlarda kilonun paradoksal etkisi düşünüldüğünde, egzersizle görülen meme kanseri riskindeki azalmaya muhtemelen tek başına kilo kontrolü aracılık etmemektedir (72,73-75). Artan fiziksel aktivite, serum östrojenlerini, insülini ve insülin benzeri büyüme faktörü-1 seviyelerini azaltmak gibi hormonal etkiler yoluyla meme kanseri riskini azaltabilir (76-78).

Alışkanlıklar: Alkol tüketimi meme kanseri gelişme riskinde artışla ilişkilidir. Az miktarda alkol tüketiminin bile karaciğerdeki östrojen metabolizmasını etkilediği için meme kanseri riskini artırabileceğini savunan çalışmalar mevcuttur (79). Sonuçlar çelişkili olsa da, çok sayıda çalışma sigara içenlerde meme kanseri riskinde hafif bir artış olduğunu göstermektedir (80-83). Sigaraya erken başlama, daha uzun süre ve / veya daha yüksek paket yıl sigara içmeyi değerlendiren çalışma sonuçları, meme kanseri ile ilgili artmış riski göstermesi açısından tutarlıdır. Örneğin, 27 prospektif gözlemsel çalışmanın meta-analizinde, sigara içme öyküsü olan hastalarda meme kanseri riski artmıştır (özet RR (SRR) 1.10,% 95 CI 1.02-1.14). Yapılan çalışmalarda pasif sigara içimi için de benzer sonuçlar görülmüştür. Sigara içimi ve meme kanseri arasındaki ilişki, sigara içen kadınların yüzde 50 kadarının meme kanseri için bilinen bir risk faktörü olan alkol tüketmesi nedeniyle karışıktır (81). Bununla birlikte sigara içen ancak alkol kullanmayan kadınlar arasında yapılan çalışmalarda da sigarayla ilişkili meme kanseri riski yine de artmıştır (81). Çalışmalar ayrıca meme kanseri riski ile pasif sigara içilmesine maruz kalma arasında olası bir ilişki olduğunu düşündürmektedir, ancak veriler tutarsızdır. Yaklaşık 323.000 kadını içeren gözlemsel bir çalışmada, pasif sigara içiciliği meme kanseri riskinde artış ile ilişkili bulunmuştur (HR 1.10,% 95 CI 1.01-1.20). (86). Bununla birlikte, Hemşireler Sağlık Çalışması' nın daha önceki bir raporunda 1800'den fazla kadın (920 meme kanseri tanısı ile)

kohortunda pasif sigara içimi ve meme kanseri riski arasında bir ilişki bulunmamıştır (84).

Gece vardiyası çalışması: Gece vardiyası çalışması Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından olası bir kanserojen olarak kabul edilmektedir (85), ancak kanıtlar karışıktır. Milyon Kadın çalışmasında, hiç gece vardiyalı çalışmamış kadınlarla karşılaştırıldığında, 20 ve daha fazla yıllık vardiya çalışması olanlarda meme kanseri için RR 1.00 (% 95 GA 0.81-1.23) idi (86). Bununla birlikte, 10 çalışmayı içeren daha önceki bir sistematik derlemede, "gece vardiyalı çalışmalara maruz kalma" ile meme kanseri arasındaki ilişki için toplam düzeltilmiş RR 1,19'dur (% 95 GA 1.05-1.35). (87). Hemşireler üzerine yapılan 2012 tarihli bir araştırma, gece yarısından sonra çalışma vardiyalarının yüksek meme kanseri riski (OR 1.8,% 95 CI 1.2-2.8) ile ilişkili olduğunu ve en uzun riskin gündüzden geceye dönen vardiyalarda çalışan hemşirelerde kaydedildiğini bildirmiştir (OR 2.6,% 95 CI 1.8-3.8) (88). Bu gece ışığına maruz kalma sonucu, gece epifiz bezi tarafından melatonin üretiminin baskılanması ile ilişkili olabilir (79). Bunu destekleyecek kanıtlar, düşük 6-sülfatoksimelatonin (majör melatonin metaboliti) seviyelerinin meme kanseri riskinde artış ile ilişkili olduğu bulgusundan kaynaklanmaktadır (89,90).

Terapötik düzeyde iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalma: Hodgkin lenfoma tedavisi veya atom bombası veya nükleer kazalarından kurtulanlarda olduğu gibi, genç yaşta göğsün iyonlaştırıcı radyasyonuna maruz kalması, meme kanseri riskinde artış ile ilişkilidir (91-95). Radyasyonun etkilerine en duyarlı yaşlar 10 ila 14 yaş arasıdır (ergenlik öncesi) ancak 45 yaşına kadar maruz kalan kadınlarda artmış risk görülmektedir (96). 45 yaşından sonra artmış bir risk gözükmemektedir.

2.3.3. Endojen Östrojen, Testesteron Düzeyi, Hormon Tedavisi ve Meme Kanseri Riski:

Yüksek endojen östrojen seviyeleri, hem postmenopozal hem de premenopozal kadınlarda meme kanseri (özellikle hormon reseptörü pozitif meme kanseri) riskini artırır. Yapılan çalışmalarda postmenopozal kadınlar için meme kanseri riski artışı ve artan hormon seviyeleri (örn. Östradiol, Östron) arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur (97-101). Östrojenin meme kanseri riskini artırmasındaki rolü ile ilgili daha fazla kanıt, östrojen seviyelerinin düşürülmesinin (örneğin, aromataz inhibitörlerinin

uygulanmasıyla) meme kanseri riskini azalttığı bulgusundan gelir. Östrojen seviyeleri, premenopoz kadınlar için de meme kanseri gelişiminde rol oynar, ancak bu ilişkinin kanıtı için gerekli östrojen seviyelerinin premenopoz kadınlarda adet döngüsündeki farklılıklar nedeniyle ölçülmesi zordur. Meme kanserli 767 premenopozal kadın ve 1699 eşleştirilmiş kontrol grubunun dahil edildiği 7 çalışmadan elde edilen verilerin birleştirilmiş analizinde, estradiol, hesaplanan serbest estradiol, estron ve androstenedion dehidroepiandrosteron sülfat ve testosteron seviyeleri ile meme kanseri riski arasında pozitif ilişkili bulunmuştur (102). Örneğin, estradiol konsantrasyonundaki her iki kat artış, meme kanseri için 1.19 (% 95 CI 1.06-1.35) olasılık oranı (OR) ile ilişkilendirilmiştir. Luteal faz progesteron ve hesaplanan serbest testosteron konsantrasyonları bu riskle anlamlı bir şekilde ilişkili değildir. Büyük gruplarda yapılan çalışmalarda, östrojen ve androjen seviyelerinin premenopoz meme kanseri etiyolojisinde önemli rolü olabileceğini göstermektedir (103,104). Hemşirelerin Sağlık Çalışması II sonuçları, östrojen ve androjenlerin premenopozal düzeylerinin, postmenopozal hastalık gelişimine neden olabileceği tezini desteklemektedir (105). Hormon düzeylerinin reseptör durumuna göre farklı meme kanseri alt tiplerinin gelişim riski ile ilişkisini araştıran Farhat ve arkadaşları, serum testosteron seviyesinin yüksek olmasının düşük ÖR-negatif meme kanseri riski ile ilişkili olabileceğini göstermiştir(106). Diğer yandan, hem testosteron hem de östradiol, postmenopozal kadınlarda ÖR-pozitif hastalık riskinde artış ile ilişkilidir.

Bunun yanında oral kontrasepsiyon (OKS) ile meme kanseri arasındaki ilişki hala tartışmalıdır. Bazı çalışmalar oral hormonal kontraseptiflerin kullanımının hiç kullanmayan kadınlara kıyasla meme kanseri riskini % 24 arttırdığını destekler (107). Diğer yandan, epidemiyolojik çalışmaların yeniden analizi, oral kontrasepsiyon ile meme kanseri riski arasında çok küçük bir ilişki olduğunu hatta anlamlı bir ilişki olmadığını göstermiştir (108). Ayrıca farklı oral kontraseptif (OKS) formülasyonları farklı meme kanseri risklerine yol açabilir. Ayrıca meme kanseri oluşum riski hormonal tedavi kesildikten 10 yıl sonra önemli ölçüde düşer ve risk hormonal tedavi kullanım süresine bağlı değildir (109).

Yapılan geniş prospektif bir çalışmada, OKS kullanmayanlarla karşılaştırıldığında OKS kullananlarda oral kontrasepsiyonun sadece bir formülasyonu meme kanseri riskindeki artışla ilgili bulunmuştur- triphasic ethinyl levonorgestrel (RR 3.05) ile kombine estradiol. İleri analizlerde, OKS kullanımı ile 35 ila 64 yaş arasındaki kadınlar arasında meme kanseri riskinde belirgin bir artış görülmemiştir. Araştırmacıların yaptığı çok değişkenli analizlere dayanarak, OKS kullanımı ile artmış meme kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (100). Topluma dayalı çalışmanın retrospektif analizinde (5113 meme kanseri vakası ve 20 452 kontrol) levonorgestrel salınımı yapan rahim içi cihazlar (RİA) ile meme kanserinde artış

arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır. Son kanıtlar da levonorgestrel içeren RİA'nın tümör büyümesi üzerine etkisinin olmadığı görülmüştür (111).

Oral hormonal menopoz tedavisi (HRT) meme kanseri riskinde bir artış ile ilişkilidir ve bu ilişki 5 yılda %15, 10 yılda %34 risk artışı ile tedavinin uzunluğu ile korele edilmiştir (107). Ayrıca meme kanseri olma riski, östrojen ve progesteron içeren iki bileşenli oral HRT (özellikle konjuge at estrojenleri - CEE ve medroksiprogesteron asetat - MPA) kullanımı ile daha da artar(112). HRT'de kullanılan progestin tipinin meme kanseri için bir risk faktörü olabileceği fark edilmiştir. Sentetik medroksiprogesteron asetat kullanımı, meme bezinde hücre bölünme sayısını artırabilir ve anormal hücrelerde daha fazla çoğalmaya neden olabilir.

Bazı bilim insanları yaptıkları çalışmalarda, doğal progesteron alımının meme kanser riskini artırmadığını görmüştür, fakat daha fazla uzun süreli çalışmalar ile bu hipotezin açıklığa kavuşturulması gerekir (113). Androjenlerin meme kanseri oluşumu ve gelişimi üzerindeki etkisi yıllarca belirsiz kalmıştır. Testosteron içeren HRT tedavisi ile meme kanseri arasındaki ilişki Hemşirelerin Sağlık Çalışması (24 yıllık takip; 1379323 kişi-yıl) ile değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada östrojen artı testosteron tedavisi kullanıcıları ile kullanmayanlar karşılaştırılmış, kullananlarda meme kanseri riski 2,5 kat daha fazla izlenmiştir. Sonuçlara dayanarak, mevcut östrojen ve testosteron tedavisiyle meme kanseri riskinin sadece östrojen kullanımıyla oluşan riskten belirgin daha fazla olduğu, östrojen progestin kullanımıyla oluşan riskten ise sadece biraz yüksek olduğu görülmüştür.

Meme kanseri riskindeki artış, testosteron içeren HRT kullanımı ile yıllık %17 seviyesindedir (114). WHI çalışma sonuçlarına dayanarak, Östrojen progesteron tedavi kombinasyonunun kullanımı ile iki yılda meme yoğunluğunda% 4.9 artış olduğu görülmüştür. Karşılanmamış östrojen tedavisi ile meme yoğunluğundaki artış % 2.9'dur.

Meme kanseri gelişiminde gerek endojen östrojen düzeyi gerekse ekzojen hormonal tedavi kullanımıyla ilgili bu çalışmaların ışığında, vücutta östrojen metabolizmasının önemini göz ardı etmek imkansızdır.

2.4. Östrojen Hormonunun Metabolizması

Epidemiyolojik ve klinik kanıtlar; erken menarş, geç menopoz, oral kontraseptif kullanımı, geç ilk tam dönem hamilelik ve hormon replasman tedavisi dahil olmak üzere bir kadının yaşamı boyunca yüksek östrojen seviyeleri ile ilişkili faktörlerin, premenopoz ve postmenopoz kadınlarda meme kanseri riskinde artış ile ilişkili olduğunu göstermiştir (115). Östrojenlerin genellikle östrojen reseptörü (ÖR) yoluyla

meme kanseri hücrelerinin çoğalmasına neden olduğu düşünülmüştür ve önemli biyolojik fonksiyonları olan proteinleri kodlayan hedef genlerin ekspresyonunu düzenlemek için bir transkripsiyon faktörü olarak işlev gördüğü bilinmektedir. (116)

ÖR aracılı sinyal yolunun kanserin gelişiminde önemli bir rolü olabileceği; ancak kanser başlangıcında önemli bir rol oynamadığı öne sürülmüştür (117). ÖR aracılı süreçlerle karşılaştırıldığında, önemli kanıtlar östrojenlerin oksidatif metabolizmasının meme kanserinin başlangıcında önemli bir rol oynadığını göstermektedir (108,109).

Spesifik östrojen metabolitleri DNA'ya bağlanarak ve depürine eklentiler oluşturarak kanser sürecini başlatma potansiyeline sahiptir (119,120). Bu depürine edici DNA eklentileri, glikozil bağının parçalanmasıyla DNA'dan hızla kaybedilir ve DNA'da kanseri başlatabilen mutasyonlar oluşturabilecek apürinik sahalar bırakır (121). Ek olarak, östrojenin kinon ve semikinon metabolitlerinin redoks çevrimi, serbest radikallerin ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesine neden olur.

Aşırı ROS, dolaylı olarak genomik instabiliteyi artırarak genotoksisiteye neden olmakla kalmaz, aynı zamanda redoks ile ilişkili sinyal yollarını dönüştürerek, meme kanserojenitesinin ilerlemesini de uyarır (122,123).

Endojen östrojen esas olarak östron (E1) ve 17p-östradiol (E2)'den oluşur. E1 ve E2, 17β hidroksi steroid dehidrojenaz enzimi (17β HSD; Şekil 1) ile birbirine dönüştürülür (124). Endojen östrojenler iki ana yolla metabolize edilir: Faz 1, sitokrom P450 (CYP) enzimleri ile östrojenin katekol östrojen (KÖ)'lere dönüştürülmesidir. Östrojen metabolizmasında rol oynayan başlıca P450 enzimleri arasında CYP1A1, CYP1A2 ve CYP1B1 bulunur.

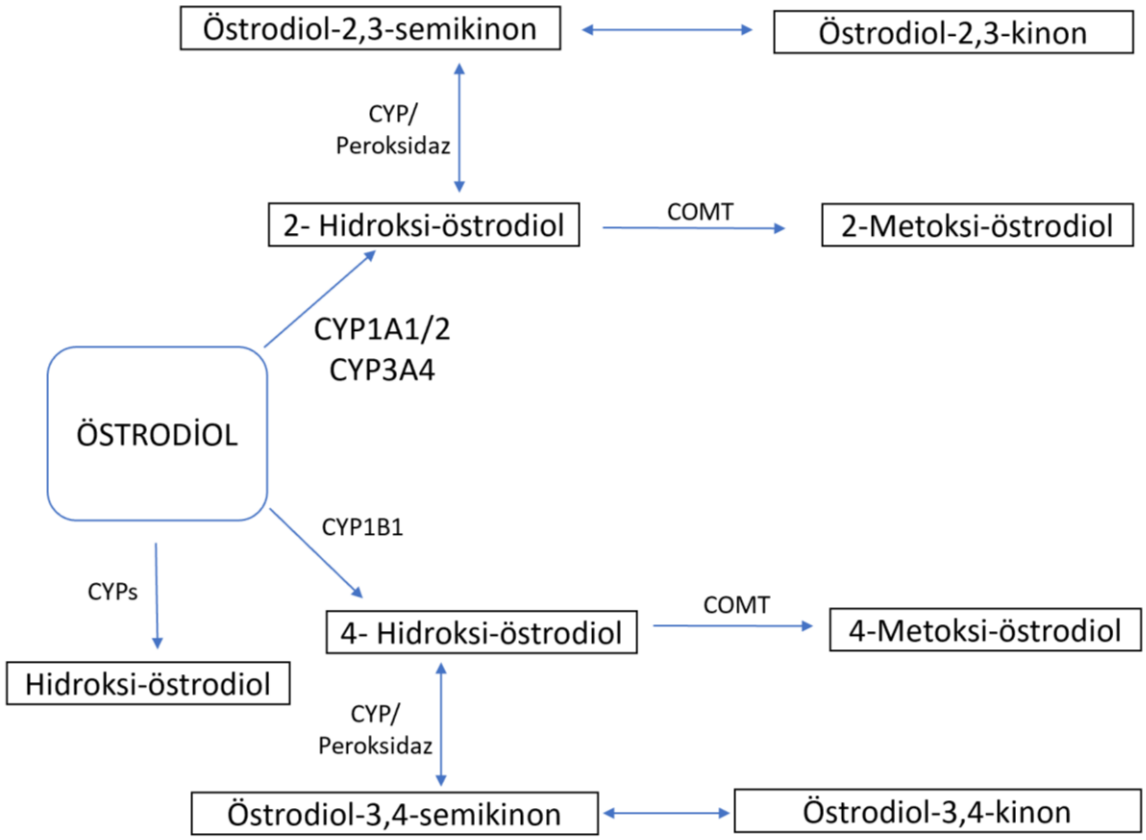
Bu enzimlerin aktivitesi sonucu östron ve östradiol C2, C4 ve C16 konumlarında hidroksillenir ve daha çok 2OH katekol östrojenler, 4OH katekol östrojenler olmak üzere, (2-hidroksi-östron, 4-hidroksi-östron, 2-hidroksi-östradiol ve 4-hidroksi-östradiol) ve daha az oranda da 16α-hidroksi-östron 16α-OHE1 (E2) haline dönüştürülür(124). CYP3A5, CYP3A7 ve CYP1A1, 16α- OHE1 (E2) için katalitik yeteneğe sahiptir (114).

Ekstrahepatik dokularda östrojenler CYP1A1 ile 2-OHE1 (E2) 'ye dönüştürülürken, 4-OHE1 (E2) esas olarak CYP1B1 tarafından katalize edilir (114). CYP1B1'in sağlıklı insan meme duktal dokusunda eksprese edildiği ve invaziv duktal karsinomlarda aşırı eksprese edildiği gösterildiğinden, meme kanserli kadınlarda östrojenin kinon metabolitlerinin DNA depürine edici eklenti düzeyleri, sağlıklı kadınlara göre daha yüksektir (117,125-127). Faz II, katekol - O - metiltransferaz (COMT) tarafından O-metilasyonu da dahil olmak üzere, katekol östrojenlerin inaktivasyon ve detoksifikasyon yoludur (128). Ekstrahepatik dokularda, katekol östrojenlerin konjugasyonunun en yaygın yolu, COMT yoluyla O-metilasyonu ile

inaktivasyonudur; bu da östrojenin semikinonlarına ve kinonlara dönüşümünü önler (15).

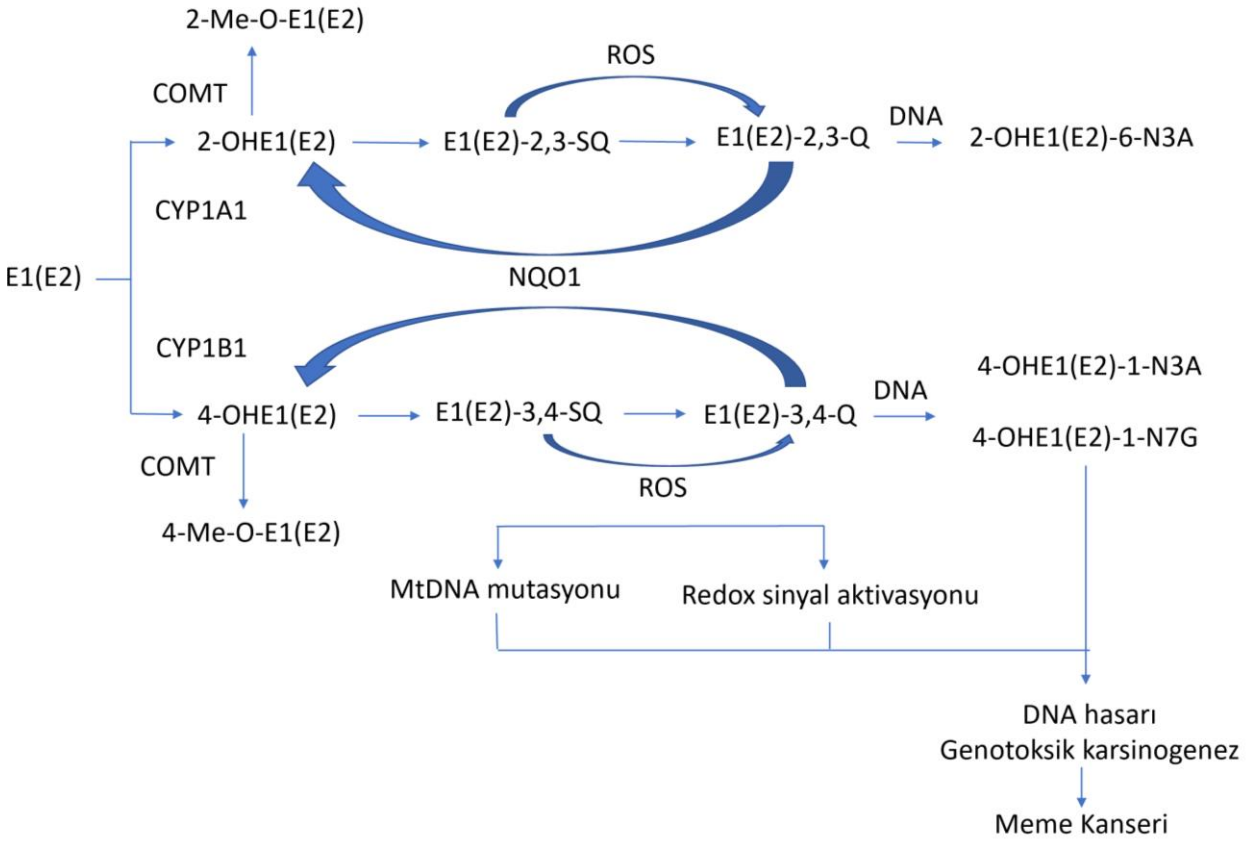
COMT, 2-OH ve 3-OH pozisyonlarında 2-OHE1 (E2)'u ve 4-OH pozisyonunda 4-OHE1 (E2)'u, S-adenosilmetiyoninden (129) türetilmiş metil grubu ile katalize eder. COMT'un inhibisyonu, oksidatif DNA hasarı ve 4-OH kinon'un depürine edici eklenti seviyelerini arttırır, bu da COMT'ın katekol östrojenlerin genotoksik kinon metabolitlerine oksidatif metabolizmasını önlemekten sorumlu enzim olduğu anlamına gelir (130,131). Konu ile ilgili yapılan çalışmalar, 2-OHE1 (E2) 'nin başlıca O-metilasyon metaboliti olan 2-metoksi-östradiolün, büyüme inhibitör etkileri ile antikanser aktivitelerine sahip olduğunu ileri sürmüştür (132).

Ayrıca detoksifiye edilmediği sürece, 2-OHE1 (E2) ve 4-OHE1 (E2) katekol östrojenler, karşılık gelen kinonlara, Östrodiol 2,3 kinon (E1 (E2) -2,3 - Q) ve Östradiol 3,4 kinon'a (E1 (E2) -3,4 - Q) oksitlenir. İki östrojen kinondan özellikle Östradiol 3,4 kinon'nun (E1 (E2) -3,4 - Q), depürine edici eklentiler oluşturmak için DNA ile reaksiyona giren kritik bir metabolit olduğuna inanılmaktadır (128).



Figür1: Östrojen metabolizması ve DNA eklentilerinin oluşumu. 2 hidroksi-östrodiol ve 4hidroksi-östradiol gibi katekol östrojenler indirgenme ve oksidatif yolaklara girerek,mutajenik serbest radikaller oluşturabilirler. Bu reaksiyonlar CYP veya peroksidaz enzimleri tarafından katalizlenir. Katekol östrojenlerin redoks reaksiyonlarının ara metabolitleri olan kinon ve semikinon metabolitleri oldukça reaktif ve karsinojenik bileşiklerdir ve DNA hasarı oluşturabilirler.

Kinonlar ayrıca karşılık gelen hidrokinonları oluşturmak için NAD(P)H: kinon oksidoredüktaz 1 (NQO1) tarafından katalizlenen iki elektronluk bir indirgenme geçirir (20). NQO1, katekol östrojenin kinon metabolitlerini (CE-Q'yu) tekrar katekol östrojenlere dönüştürür. Böylece kinon metabolitlerini, DNA ve oksidatif stres ile reaksiyon için kullanılamaz hale getirir (133).



Figür2: Östrojenin karsinogenezdeki metabolik rolü.

Östrojen ve Metabolitlerinin Karsinogenezdeki Rolü:

2-Hidroksilasyon Yolu: Kantitatif olarak, 2-hidroksilasyon yolu, 4- ve 16-hidroksilasyon yollarına kıyasla ana metabolik yoldur. CYP1A1, CYP1A2 ve CYP1B1 sitokrom P-450 enzimleri, esas olarak memede ve karaciğer dokularında eksprese edilen majör faz I enzimleridir. (134). İki hidroksillenmiş östrojenler, östrojen reseptörü (ÖR) için düşük bağlanma afinitesine sahiptir. (135,136)

Bu metabolit östradiol ile karşılaştırıldığında hormonal etkiyi azaltan hem östrojenik olmayan hem de antiöstrojenik etkinliklere neden olur. Östrojen reseptörü(+) insan MCF-7 meme kanseri hücrelerinde hücre kültürü çalışmalarından elde edilen kanıtlar, 2-hidroksi-östron ve 2-hidroksi-östradiolün hücre büyümesi ve çoğalmasını inhibe ettiğini düşündürmektedir. (137,138)

Ayrıca, 2-hidroksi metabolitler normal hücre farklılaşması ve apoptoz ile ilişkilendirilmiştir. (139,140) Bu bulgular bazı araştırmacıların 2-hidroksi-östronu "iyi östrojen" olarak sınıflandırmasına yol açmıştır.(141) 2-metoksi-östradiol gibi 2-hidroksi-östradiolün metillenmiş ürünleri de dahil olmak üzere 2-hidroksi metabolitlerin bu iyi östrojen tanımı; tümöröjenik aktivitesinin olmaması, yüksek temizlenme oranı, COMT enzimi tarafından daha hızlı O-metilasyon oranı, bu östrojen

metabolitinin hedef dokularında düşük hormonal potens göstermesi ve tümör hücresi proliferasyonunu ve anjiyogenezi baskılayan birkaç mekanizmaya bağlanmıştır (135).

Aynı zamanda, 2-hidroksi-östrojenler redoks döngüsüne girdikçe veya COMT enzimi inhibe edildiğinde serbest radikaller üretebilir ve DNA'ya zarar verebilir (142,143). 2-metoksi-estradiol dahil metoksi-östrojenlerin, mikrotübül stabilizasyonu üzerindeki etkilerine bağlı östrojen oksidasyonu ve hücre proliferasyonunu baskılayarak karsinogenezi inhibe ettiği gösterilmiştir (144-146).

4-Hidroksilasyon Yolu: CYP3A4 / 3A5'in insan karaciğer mikrozomlarında estradiolün 4 hidroksilasyonunda birincil enzimler olduğu gösterilmiştir(147). 4-Hidroksillenmiş katekol östrojenler, oksidatif hasar ve meme kanserini başlatan mutasyonlara neden olan depürine edici eklentiler ile DNA hasarına neden olma yetenekleri nedeniyle kanserojen potansiyele sahiptir (148).

İnsan meme fibroadenomu ve adenokarsinomunun mikrosomal preparatlarında, 4-hidroksi-östradiol oluşumu, 2-hidroksi-östradiol oluşumundan dört kat daha yüksek saptanmış, bu da 4-OH östradiol/ 2-OH-östradiol oranının malign meme tümörlerinin saptanması için bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği fikrini oluşturmuştur (149). Ayrıca, kinon-östrojen DNA eklentilerinin hidroksi östrojen veya konjuge katekol östrojenlerine oranlarının, meme kanseri olan kadınlarda veya meme kanseri riski yüksek olanlarda kontrol kadınlarına göre anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (150). Öte yandan, 4-metoksiöstrojenlerin, östradiolün oksidatif metabolizmasını (146) ve oksidatif DNA hasarını (151) önlediği öne sürülmüştür.

16-Hidroksilasyon Yolu: 16α-Hidroksi-östron, 16-hidroksilasyon yolunun en önemli metabolitidir. 16α-hidroksi-östron, planlanmamış DNA sentezini ve fare meme epitel hücrelerinde inhibisyondan bağımsız büyümeyi destekleyen potansiyel bir tümör başlatıcıdır (152-154). Hayvan çalışmaları, 16α-hidroksi-östronun idrar konsantrasyonlarının, meme hücrelerinin artmış çoğalması ile ilişkili olduğunu göstermiştir (153,154). Ras onkogen ekspresyonu (155) ve meme tümör insidansı(156) gibi çalışmalarla Osborne ve arkadaşları, insan meme dokusunda meme kanseri gelişme riski ile estradiolün 16α-hidroksilasyonun ilişkisini araştırmıştır. Kanserli meme lobüler ünitelerin terminal kanallarındaki 16α-hidroksi-östron düzeylerinin, yakındaki meme yağ dokusundan sekiz kat daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu da 16α-hidroksi-östron üretiminin meme kanseri indüksiyonunda önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (157).

Östrojen Metabolizmasında Genetik Varyasyonun Rolü:

Östrojen metabolizması yollarında yer alan enzimleri kodlayan genlerdeki genetik polimorfizmlerin ve ÖR'leri kodlayan genlerin meme kanseri riski ile ilişkili olduğu varsayılmıştır. COMT, CYP1A1, CYP1B1, östrojen reseptörü alfa (ÖRa), östrojen reseptörü beta (ÖRb), CYP17A1 ve CYP19A1'i kodlayan genlerdeki polimorfik varyasyonlar son on yılda yoğun ilgi görmüştür (128).

COMT enzimi, katekol östrojenlerini, non-toksik metoksi östrojenlere konjüge ederek inaktive eden bir faz II enzimidir (158). COMT ayrıca katekol östrojenlerin kinon-DNA eklentilerine biyotransformasyonunu ve DNA, lipitler ve proteinler gibi hücresel makromoleküllere zarar verebilecek reaktif oksijen türlerinin (ROS) gelişimini önler (159,150,160). COMT enzimi karaciğer ve böbrekte yüksek oranda olmak üzere eritrositlerde önemli miktarlarda bulunmakla birlikte, endometrium ve meme dokusunda da bulunur. 22q11 kromozomu üzerinde bulunan COMT (161) polimorfiktir; COMT kodonu 158/108 pozisyonunda bir amino asit değişimi (valinden metiyonine), proteinin membrana bağlı (158. kodon tarafından eksprese edilir) ve sitosolik formunda (108. kodon tarafından eksprese edilir) enzimin metilasyon aktivitesinin azalmasına neden olur (162). 158'de (tek nükleotid polimorfizmi (SNP). rs4680). tek bir G'den A'ya geçiş, COMT kodon 158'de valin yerine metiyonin aminoasidinin gelmesine yol açar ve bu COMT allelinde enzimatik aktivitede (GG'ye karşı AA genotipi) 3-4 kat azalmaya neden olur. Bu amino asit değişikliğinin, insan popülasyonunda COMT enzim aktivitesinde gözlenen trimodal dağılımı ile yakından ilişkili olduğuna inanılmaktadır yani COMT (Val-Val) alleli yüksek COMT enzim aktivitesiyle ilgili iken, COMT (Val-Met) alleli orta derecede enzim aktivitesi ve COMT(Met-Met) alleli ise düşük enzim aktivitesi ile ilgilidir(163,164,165). COMT' un katekol östrojenlerin, metoksiöstrojenlere dönüştürülmesindeki rolü göz önüne alındığında; bu enzimdeki genetik varyasyonlar, katekol östrojen ve metoksi östrojen düzeylerindeki önemli değişikliklerin bir sonucu olarak meme kanseri riskini etkileyebileceği düşünülmüştür (166). Düşük aktiviteli COMT genotipine (AA veya Met / Met) sahip kadınların, katekol östrojen ara ürünlerinin yüksek konsantrasyonları nedeniyle meme kanseri riskinin daha yüksek olabileceği öne sürülmüştür.(167-168).

ABD'li beyaz kadınlar üzerinde yapılan çalışmada Thompson ve arkadaşları (169) menopoz öncesi kadınlarda COMT-L alelinin artmış meme kanseri riski ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (OR = 2.4,% 95 CI = 1.4-4.3), postmenopozal kadınlarda ise risk azalmıştır (OR = 0.5 % 95 CI = 0.3-0.9). Huang ve arkadaşları yaptığı çalışmada (170) postmenopoz Tayvanlı kadınlarda COMT-L allel taşıyıcılarının meme kanseri için önemli ölçüde artmış risk gösterdiği görülmüştür (OR = 3.55,% 95 CI = 1.15–13.37). Yim ve arkadaşları yaptığı çalışmada (171), COMT-L allelinin menopoz öncesi ve sonrası meme kanseri Koreli kadınlar için artmış bir risk gösterdiğini

bildirmişlerdir (OR =% 1.7,95 CI = 1.04-2.78). Lavigne ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (166) sadece COMT-LL genotipini taşıyan obez postmenopozal kadınlarda anlamlı derecede yüksek risk bulmuşlardır. Mitrunen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (172) COMT-LL genotipinin, uzun süreli östrojen kullanan postmenopozal Finlandiyalı kadınlarda meme kanseri ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu bulmuşlardır (OR = 4.02;% 95 CI = 1.13-14.3). COMT Val158Met ile ilgili önceki meta analizler çelişkili sonuçlar göstermiştir (173).

Ding ve arkadaşları 2010 yılında yaptıkları 26 çalışmalık metaanalizde, (174) Avrupalı kadınlarda sınırda azalmış meme kanseri riski bulmuştur (resesif model: Met / Met vs. Val / Val:VEYA = 0.90,% 95 CI = 0.90-1.00, Ph = 0.33). Mao ve arkadaşlarının (181), 2012 yılında yaptıkları metaanalizinde, 41 çalışma incelenmiş ve COMT polimorfizmi ile meme kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki olduğuna dair kanıt bulunamamıştır (Met / Met ve Val / Val için: OR = 0.96,% 95 CI = 0.88-1.04; baskın model için: OR = 0.97,% 95 CI = 0.92 Resesif model için: OR = 0.97,% 95 CI = 0.90-1.04). Etnik köken, menopozal duruma göre yapılan alt grup analizlerinde tüm genetik modellerde anlamlı ilişki bulunamamıştır.

He ve arkadaşları 30.199 meme kanseri vakası ve 38.922 kontrol grubu içeren 44 çalışmanın meta-analizini gerçekleştirmiş ve düşük aktivite alleli ile meme kanseri riski arasında bir ilişki bulamamışlardır (173). Buna karşılık, etnik köken, menopoz durumu ve aile öyküsü ile katmanlı bir analiz yapıldığında, COMT SNP'inin beyaz ırkta sınırda küçük bir koruyucu etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir. OR, 0.96; % 95 CI, 093–1.00(174).

34.358 meme kanseri vakası ve 45.429 kontrol dahil olmak üzere 56 çalışmanın 2012 yılında yapılan başka bir meta-analizinden elde edilen sonuçlar, herhangi bir genetik modelde COMT Val158Met polimorfizmi ve meme kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki olduğuna dair kanıt göstermemektedir. (189)

Son olarak 5.971 meme kanseri hastası ve 7.253 kontrolü içeren yirmi altı vaka-kontrol çalışmasını içeren Asya populasyonunda yapılmış yeni bir meta-analizde, Asya populasyonunda COMT Val158Met polimorfizminin heterozigot modeli dışında meme kanseri riski ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu göstermiştir (190).

Kinon metabolitlerini, hidroksikinon metabolitlerine ve katekol östrojenlere çeviren fazII enzimi, NAD(P)H: kinon oksidoredüktaz 1 (NQO1), diğer adıyla difteri toksini diaforaz (DT-diaphorase); insan epitelyal ve endotelyal dokularında bulunan sitozolik bir flavo-enzimdir. NQO1 antikanser enzimi olarak kabul edilir, çünkü kinonların sitokrom b5 redüktaz veya P450 redüktaz tarafından katalize edilen tek elektron indirgenmesine girmesini önleyerek; semikinon serbest radikallerinin oluşumundan ve hücreleri oksidatif hasardan korur (191). Aksine, kofaktör olarak NADH veya

NADPH kullanarak bir seferde iki elektron aktarma özelliğine sahip olan NQO1, kinonları ve kinin-iminleri, konjüge edildiğinde daha az toksik ve daha kolay salgılanan hidrokinonlara katalize eder (192,193). 16q22.1 kromozomu ile eşlenen NQO1 geni 17,2 kb uzunluğundadır ve 6 ekzon ve 5 intron içerir (184). DbSNP veri tabanına göre NQO1 geninde, ekson 6'da (rs1800566, 609C> T). 609 nükleotid pozisyonunda en sık meydana gelen S--T değişimini içeren rs1800566, 609C> T dahil olmak üzere en az 270 SNP vardır ve bu tek nükleotid değişimi proteindeki kodon 87'de (Pro187Ser) prolin'den serin'e amino asit değişimine neden olur. T allel varyantının hem insan hücre dizilerinde hem de primer insan dokularında azalmış NQO1 enzimatik aktivitesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (195,196).

Ayrıca, NQO1 609 T genotiplerinin NQO1 enzimatik aktivitesi üzerinde açık bir allel dozaj etkisi vardır, homozigot varyantlar (TT) en düşük aktiviteli, heterozigot varyantlar (CT) orta derecede aktiviteye sahiptir ve vahşi tip homozigotlar (CC) ise en yüksek NQO1 enzim aktivitesine sahiptir. (196-198). Önceki çalışmaların tutarlı bir şekilde T varyantının enzimatik aktivitenin azalmasına neden olduğunu gösterdiği göz önüne alındığında, NQO1 Pro187Ser polimorfizmi ve kanser duyarlılığı arasındaki potansiyel bir ilişkiyi varsaymak biyolojik olarak makul bir varsayımdır.

Son yirmi yılda, bazı moleküler epidemiyolojik çalışmalar, NQO1 Pro187Ser polimorfizmi ve meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi değerlendirmiştir ancak sonuçlar tutarsız bulunmuştur. Birkaç çalışma daha önce NQO1Pro187Ser polimorfizminin meme kanseri riskinde artış ile ilişkili olduğunu ileri sürmüştür. (199,200) Ancak, diğer çalışmalar böyle bir ilişkiyi doğrulayamamıştır (201,202). Ek olarak, Yuan ve arkadaşları (203) NQO1 Pro187Ser polimorfizminin beyaz ırkta meme kanseri gelişimine katkıda bulunabileceğini bulmuşlardır.

Ortaya çıkan bazı yeni çalışmalar (202,204,205), NQO1 Pro187Ser polimorfizmi ve meme kanseri riski arasındaki ilişkilerin en kapsamlı değerlendirmesini sağlamak için, mevcut tüm çalışmaların kapsamlı bir şekilde güncellenmiş bir meta-analizini heterojenite kaynağını araştırıp ve alt grup analizlerini de ekleyip 2014 yılında Peng ve arkadaşları yapmıştır (206). 2.773 vaka ve 4.076 kontrole sahip 10 çalışma bu meta analize dahil edilmiştir. Tüm çalışmalar meta-analiz içinde toplu olarak değerlendirildiğinde NQO1 Pro187Ser polimorfizmi ve meme kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki gözlemlenmemiştir. Etnik kökenlere göre alt grup analizinde, beyaz ırkta NQO1 polimorfizmi ile ilişkili belirgin artmış meme kanseri riski bulunmuştur (Ser / Pro vs. Pro / Pro: OR = 1.145,% 95 CI = 1.008–1.301, P = 0.038; Ser / Ser + Ser / Pro vs. Pro / Pro: OR = 1.177,% 95 CI = 1.041-1.331, P = 0.009)..

COMT ve NQO1 enzimlerine ait polimorfizmin meme kanseri ile ilişkisi daha önce pek çok etnik populasyonda yapılan çalışmalarda incelenmiş ve değişik sonuçlar elde edilmiştir. Ülkemizde COMT enzim polimorfizmi ile meme kanseri riski arasındaki

ilişkiyi araştıran 3 çalışma yapılmıştır (207-209). Bunlardan sadece birinde premenapoz meme kanseri hastalarında COMT polimorfizminin meme kanseri ile ilişkisi anlamlı bulunmuş, diğer ikisinde anlamlı sonuç çıkmamıştır. Ayrıca değişik etnik gruplarda NQO1 enzim polimorfizmi ile meme kanseri ilişkisi arasındaki ilişki incelenmiştir (206) fakat literatürde Türk toplumunda NQO1 enzim polimorfizmi ile meme kanseri ilişkisini araştıran çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim bu çalışmada amacımız, meme kanseri tanısı olan ve sağlıklı premenopozal kadınlarda bu enzimlerin polimorfizmlerine bakarak; östrojen reseptör pozitif meme kanseri olan hastalarda, enzim aktivitesini azaltan polimorfizmlerin daha fazla olup olmadığının ortaya koyulmasını sağlamaktır. Böylece premenopozal kadınlarda bahsedilen COMT ve NQO1 enzim polimorfizmlerinin bakılması ile ileride oluşabilecek meme kanseri riski öngörülebilecektir. Bizim amacımız Türk populasyonunda premenopozal kadınlarda COMT ve NQO1 polimorfizmleri ile meme kanseri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesidir.

3. Materyal ve Metod:

3.1.Etik Kurul

Bu tez çalışması 04.11.2019 tarihinde 2019/900 karar numarası ile T.C. Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (ESOGÜTF) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı tarafından değerlendirilmeye alınarak yazılı olarak onaylanmıştır. Çalışma Helsinki Bildirgesi ilkelerine uygun olarak tamamlanmıştır.

3.2.Çalışma Grubu:

Çalışmaya Maltepe Üniversite Hastanesi dahiliye kliniğimizde 2018-2019 yılları arasında takipli, premenopoz, daha önce meme kanseri tanısı konmuş, östrojen reseptörü pozitif; BRCA1-2 mutasyonları olmayan, meme kanseri açısından aile hikayesi bulunmayan 50 hasta ve 50 premenopoz sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. Postmenopozal kadınlar, östrojen reseptör negatif hastalar, aile hikayesi pozitif olan ya da bilinen BRCA1-2 mutasyonu pozitif olan kadınlar çalışma dışı kalmıştır. Gönüllüler araştırmayla ilgili yüz yüze bilgilendirme sonrası araştırmaya katılmaları için davet edilmiştir, Kabul edenlere gönüllü olur formu imzalatıldıktan sonra araştırmaya katılanlardan genetik araştırma için 2ml periferik kan örnekleri alınmıştır.

3.3. Genetik Değerlendirme

Moleküler Analizler:

DNA izolasyonları, steril 2 ml K_3EDTA'lı periferik venöz kan örneklerinden manyetik boncuk bazlı sistem ve özgün kitler (MagPurix 12 Automated Nucleic Acid Purification Sysytem, MagPurix Blood DNA Extraction Kit 200 Cat: OP02001-48) kullanılarak, firma protokollerine uygun şekilde yapıldı.

DNA İzolasyonu sonrası örneklerinin yoğunlukları (ng/µl) ve absorbsiyon ölçümleri ($A_{260/280}$) (1,80 - 1,89) spektrofotometrede ölçülerek kayıt edildi (Nanodrop 2000c, ThermoScientific).

Primer Tasarlanması

Primerlerin tasarlamasında dikkat edilen özellikler, seçilen primerlerin, dbSNP veritabanında daha önceden saptanmış herhangi bir SNP veya tekrarlayan dizi içermemesine, ileri-geri primerlerin bağlanma ısılarının birbirlerine yakın olmasına (en fazla +/- 2-5˚C fark), içerdiği AT ve CG nükleotidlerinin mümkün olduğunca eşit dağılımlı olmasına, 18-24 nükleotid içermesine ve gen bölgesinde beklenen mutasyonların analiz edilmesine olanak sağlayacak bölgeleri kapsamasına, dizi analizinde ~30-50 bazın iyi okunamayabileceği gözetilerek özen gösterildi. Özgünlük, *UCSC Genome Bioinformatics* (https://genome.ucsc.edu/index.html)' den "*in silico* PZR" interaktif sistemi ile test edildi. Tasarlanan primerlerin dizileri tablo 6' da yer almaktadır.

Primer ismi	Primer Dizisi
NQO1-4F	5'- CCCTGGAATCCTCTTGCTA -3'
NQO1-4R	5'-ACTGAGCTTTGGGTGGGA -3'
NQO1-6F	5'-GTGTCTTACTGAGAAGCCCAGA -3'
NQO1-6R	5'-TCTTGAGCCCAGTCGGAT -3'
COMT-45F	5'-CCTACTGTGGCTACTCAGCTGT -3'
COMT-45R	5'- CACACAGGGCTCTACTGGA -3'

Tablo6: Primer dizileri

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Her bir PZR reaksiyonu için 1X tampon solüsyonu [10X $(NH4)_2SO_4$] (Biomatik), 25 mM $MgCl_2$ (Biomatik), %0-10 DMSO (Biomatik Corporation), 200 µM dNTP (ThermoScientific), 0,1µM - 0,5µM ileri ve geri primerler ve 0.5 U Taqpolimeraz enzimi (Biomatik) ve 200 nggDNA kullanıldı. Karışım, bidistile su (dH_20) ile 50 µl'ye tamamlanarak hazırlandı. Tüm çalışmalar buz üzerinde gerçekleştirildi. Her PZR çalışmasında amplifiye edilen her bir bölge DNA içermeyen kontrol PZR (negatif kontrol)'ı ile birlikte çalışıldı.

PZR; 94°C de 10 dk denatürasyon, ardından 94°C de 30 sn denatürasyon, primerlerin Tm (Temparature of Melting)'e göre değişen 64°C den 52°C ye kadar ve 30 snlik bağlanma ısılarında ve 72°C de 45-90 sn (1 kb / 1 dk) uzama basamaklarından oluşan toplam 30-40 döngü ve son olarak 72°C de 10 dklık uzama ile, PZR yöntemi kullanılarak, termal döngü cihazlarında (SimliAmp Thermal Cycler, Applied Biosystems) gerçekleştirildi. Amplifikasyon sonrasında PZR örneklerinden 5 µl alınarak, 50 bç'lik merdiven markörü (Sigma) paralelinde 8 µg/ml etidyum bromür içeren %1.2'lik agaroz (Sigma) jelde, 1X TBE tamponunda, 130 V da, 20 - 25 dk yürütülerek beklenen bç uzunluğuna göre ayrılması sağlandı. Ultraviyole ışık altında elde edilen bantlar görüntülendi ve kayıt edildi.

PZR Saflaştırma işlemi için Exonuclease-I (Lot:00757312-Thermo Scientific) enzimi ve Rapid Alkaline Fosfataz (04898141001-Roche) enzimleri kullanıldı. Termal döngü cihazında PZR protokolü ile 37 °C de 15dak. , 85°C de 15 dak. ardından 4°C ye getirildi. Saflaştırılan ürünler cihazdan alınarak bir sonraki işlem için +4°C'de karanlıkta saklandı.

Dizi PZR Reaksiyonu

PZR yöntemi ile çoğaltılan ve ardından saflaştırılan amplikonların dizi analizi, ABI3130 otomatik dört kapilerli elektroforezinde (AppliedBiosystem) gerçekleştirildi.

Dizi analizi reaksiyonu, saflaştırılan PZR ürünleri ile termal döngü cihazında yapıldı. Çalışmaların tümü buz üzerinde gerçekleştirildi.

5X tampon solüsyonu olan BigDye buffer (PZR için gerekli kimyasalları içerir), BigDye v3.1 (ddNTPleri ve AmpliTaq DNA polimeraz içermektedir), Primer(PZR da kullanılan primerlerden biri ya da iki çifti ayrı yönlü olarak (dizi okuma kalitesi için seçilir) saflaştırılmış PZR ürünü ve dH_2O ilavesiyle final hacmi 10µl olacak sekilde plak (plate - USA Scientific-800-522-8477) üzerinde bir kuyucuğa bir ürün gelecek şekildehazırlandı. Karışım termal döngü cihazında yürütüldü. Protokol toplam 25 döngüde; 96°C de 10 sn ile denatürasyon, 50°C de 5 sn ile bağlanma ve 60°C de 4 dk

ile sonlanma basamakları ile oluşturuldu. 4°C ye gelen cihazdan dizi reaksiyon ürünleri alındı.

BigDye dizi reaksiyonu ürünlerinin kullanılmayan primer ve diğer reaktiflerden temizliği için Zymo DNA Sequencing Clean-up (Cat No: D4051) kiti ile puriye edildi ve ABI3130 cihazında yürütüldü.

Kapiller Elektroforez

Saflaştırılan örnekler ABI3130 cihazı için uygun olan plak (MircoAmp Optical 96-Well Reaction Plate Lot: N8010560; Applied Biosystem) her bir kuyuya bir örnek gelecek şekilde yerleştirildi. Plak santrifüjünde (BIOSAN LMC300) 3000 RPM de 1 dakika çevrildi. Santrifüj bitince, plak ABI3130 cihazına yerleştirilip yürütme işlemine geçildi. Cihaz yürütme işleminde kalibrasyonu yapılmış dizileme boya seti olan Dye set seçildi.

Yürütme voltajı: 13,4 kVolts, ön yürütme voltajı: 15 kVolts, injeksiyon voltajı:1,6 kVolts, yürütme süresi:2.520 sn, ön yürütme süresi:180 sn, injeksiyon zamanı:8 sn ve veri gecikmesi (datadelay): 250 sn. ’ye ayarlanarak ürünler yürütüldü.

Kapiller Elektroforez Sonuçları ve Değerlendirmeleri

Kapiller Elektroforezi sonucunda alınan piklerin rengine göre değerlendirme yapıldı. Elektroferogramda pik rengi, Adenin ise yeşil, Guanin ise siyah, Sitozin ise mavi ve Timin ise kırmızı ile gösterildi. Pikler ABI Sequencing Analysis v5.4 yazılım ve SeqScape v2.7 (ABI) programlarında bilgisayar ortamında analiz edildi.

Analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde UCSC Genome Browser (https://genome.ucsc.edu/index.html), Ensembl Genome Browser (http://www.ensembl.org/index.html) vb. çeşitli web sitelerinden yararlanıldı.

SeqScape v2.7 programında analiz aşamasına geçmeden önce programa referans dizi yüklendi ve tanıtılan transkriptin ekzon ve intronik bölgeleri program içerisinde gösterildi. Dizileme işleminden sonra Fasta formatına alınan olgu dizisi programa yüklendi ve analiz komutu verildi. Bu işlemden sonra, olgu dizisinin hedef gen bölgesi üzerindeki yeri, dizilendiğiprimerin yönünün doğruluğu (ileri ya da geri primer veya her ikisi), saflaştırma kalitesi, dizilenen baz sayısı, görüntülenen pik kalitesi, pik yüksekliği ve arka alan kirliliği olup olmadığı kontrol edilerek değerlendirildi. Belirtilen kontrollerden sonra herhangi birinde farklılık var ise çalışma PZR aşaması veya yeterli örnek mevcutsa, dizi saflaştırma aşamasından itibaren tekrarlandı.

SeqScape v2.7 programında analiz aşamasında, elde edilen olgu dizisi ile referans dizi karşılaştırılarak tanımlanmış değişimler NCBI Entrez SNP (www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP), HGMD (http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/all.php) ve ENSEMBL GeneSNPView (www.ensembl.org/genesnpview) gibi veritabanları kullanılarak programda işaretlendi.

3.4. İstatistiksel Yöntemler

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile test edilmiştir. Sürekli değişkenleri tanımlamak için deskriptif istatistikler kullanılmıştır. (ortalama (Ort.), standart sapma (SS), minimum (Min.), medyan (Med.), maksimum (Maks.)).

Bağımsız ve normal dağılıma uygunluk göstermeyen iki değişkenin karşılaştırması Mann Whitney U testi ile yapılmıştır.

Kategorik değişkenler arasındaki ilişkinin incelenmesi amacıyla Ki-Kare (ya da uygun yerlerde Fisher Exact test) kullanılmıştır.

İstatistiksel anlamlılık düzeyi 0,05 olarak belirlenmiştir. Analizler MedCalc Statistical Software version 12.7.7 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; http://www.medcalc.org; 2013) Programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR:

Çalışmaya katılan hastaların yaş ortalaması 42,29±6,17'dır. Hasta grubunda 35 yaşın altında 1 hasta, kontrol grubunda 3 kişi mevcuttur. Gruba göre yaş dağılımı açısından istatistiksel anlamlı farklılık vardır ($p<0,05$). Hasta grubunu yaş ortalaması daha yüksektir.

	Total	**Kontrol**	**Hasta**	
	Ort.±SS Med. (Min.- Maks.)	**Ort.±SS Med. (Min.- Maks.)**	**Ort.±SS Med. (Min.- Maks.)**	**p**
Yaş	42,29±6,17 43 (28-59)	39,86±5,26 38,5 (33-51)	44,72±6,1 45 (28-59)	**<0,001**

Mann-Whitney U test

	Kontrol (50)	Meme Kanseri (50)
Val/Val (Normal)	8 (%16)	17 (%34)
Val/Met (Heterozigot)	34 (%68)	20 (%40)
Met/Met (Homozigot)	8 (%16)	13 (%26)

Tablo 7: Çalışmamızdaki vakaların COMT enzimi SNP leri dağılımı.

	Kontrol (50)	Meme Kanseri (50)
Pro/Pro (Normal)	26 (%52)	29 (%58)
Pro/Ser (Heterozigot)	21 (%42)	18 (%36)
Ser/Ser (Homozigot)	3 (%6)	3 (%6)

Tablo 8: Çalışmamızdaki vakaların NQO1 enzimi SNP leri dağılımı.

Çalışmamızda kontrol grubunda COMT enzimi polimorfizmleri Val/Val olarak %16, Val/Met olarak %34 ve Met/Met olarak %16 oranında izlenmiştir. Pre-menopozal, östrojen reseptör pozitif, meme kanserli Türk kadın popülasyonunda ise Val/Val olarak %17, Val/Met olarak %40 ve Met/Met olarak %26 oranında izlenmiştir.

Çalışmamızda kontrol grubunda NQO1enzimi polimorfizmleri Pro/Pro olarak %52, Pro/Ser olarak %42 ve Ser/Ser olarak %6 oranında izlenmiştir. Pre-menopozal, östrojen reseptör pozitif, meme kanserli Türk kadın popülasyonunda ise Pro/Pro olarak %58, Pro/Ser olarak %36 ve Ser/Ser olarak %6 oranında izlenmiştir.

Meme kanseri olan hasta grubunda COMT enziminde homozigot ve heterozigot mutasyonu olanların oranı %66, kontrol grubunda ise homozigot ve heterozigot mutasyon oranı %84 olarak saptanmıştır. Ayrıca meme kanserli hasta grubunda NQO1 enzim homozigot ve heterozigot mutasyon oranı %42, kontrol grubunda ise bu oran %68 olarak saptanmıştır. Her iki enzimde saptanan, COMT ve NQO1 enzimlerinin hızını azaltan homozigot ve heterozigot mutasyonlar ile meme kanseri arasında ilişki saptanmamıştır. Her iki enzimde hız kısıtlayıcı alleleri olan kişiler birlikte değerlendirildiğinde de meme kanseri ile anlamlı ilişki saptanamamıştır. Gruba göre COMT_Mut, NQO1_Mut, COMT_NQO1(her ikisinde mutasyon olanlar) dağılımları açısından istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tüm Parametrelerin Dağılımları

		N	%
Grup	**Hasta**	50	50,0
	Kontrol	50	50,0
COMT	**Het**	54	54,0
	Hom	21	21,0
	Normal	25	25,0
COMT_alt	**Met/Met**	21	21,0
	Val/Met	54	54,0
	Val/Val	25	25,0
Aktivite_COMT	**Boş**	3	3,0
	Hızlı	25	25,0
	Orta	51	51,0
	Yavaş	21	21,0
NQO1	**Het**	39	39,0
	Hom	6	6,0
	Normal	55	55,0
NQO1_alt	**Pro/Pro**	55	55,0
	Pro/Ser	39	39,0
	Ser/Ser	6	6,0
Aktivite_NQO1	**Hızlı**	55	55,0
	Orta	39	39,0
	Yavaş	6	6,0
COMT_Mut	**Mutasyonsuz**	25	25,0
	Mutasyonlu	75	75,0
NQO1_Mut	**Mutasyonsuz**	55	55,0
	Mutasyonlu	45	45,0
COMT_NQO1 (her ikisinde mutasyon olanlar)	**Yok**	67	67,0
	Var	33	33,0

Tablo9: Tüm parametrelerin dağılımları

Gruba Göre Karşılaştırmalar

		Kontrol		Hasta		p
		N	%	N	%	
COMT_Mut	**Mutasyonsuz**	8	16,0	17	34,0	0,063*
	Mutasyonlu	42	84,0	33	66,0	
NQO1_Mut	**Mutasyonsuz**	26	52,0	29	58,0	0,688
	Mutasyonlu	24	48,0	21	42,0	
COMT_NQO1 (her ikisinde mutasyon olanlar)	**Yok**	31	62,0	36	72,0	0,395
	Var	19	38,0	14	28,0	

Tablo10: Gruba göre karşılaştırmalar *Ki-Kare test, *Fisher's Exact test* Gruba göre COMT_Mut, NQO1_Mut, COMT_NQO1(her ikisinde mutasyon olanlar) dağılımları açısından istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (p>0,05).

5.TARTIŞMA:

Son 20 yılda, literatüde yapılan çalışmalarda kanserlere genetik yatkınlık konusuna ilgi artmış, tümör oluşumunda yer alan genlerin polimorfizmleri üzerine yapılan çalışmalar daha fazla dikkat çekmiştir. Özellikle östrojen metabolizmasında görevli COMT enziminin katekol östrojenlerin, metoksi-östrojenlere dönüştürülmesindeki rolü göz önüne alındığında; bu enzimdeki genetik varyasyonların, katekol östrojen ve metoksi östrojen düzeylerindeki önemli değişikliklerin bir sonucu olarak meme kanseri riskini etkileyebileceği düşünülmüş (166) ve düşük aktiviteli COMT genotipine (AA veya Met / Met) sahip kadınların katekol östrojen ara ürünlerinin yüksek konsantrasyonları nedeniyle meme kanseri riskinin daha yüksek olabileceği öne sürülmüştür.(167-168).

Bu konuyla ilgili ABD'li beyaz kadınlar üzerinde yapılan çalışmada; Thompson ve arkadaşları (169) menopoz öncesi kadınlarda COMT-L alelinin artmış meme kanseri riski ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (OR = 2.4,% 95 CI = 1.4-4.3) ve postmenopozal kadınlarda ise risk azalmıştır (OR = 0.5 % 95 CI = 0.3-0.9). Huang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, (170) postmenopoz Tayvanlı kadınlarda COMT-L allel taşıyıcılarının meme kanseri için önemli ölçüde artmış risk gösterdiği görülmüştür (OR = 3.55,% 95 CI = 1.15–13.37). Yim ve arkadaşları yaptığı çalışmada (171), COMT-L alelinin menopoz öncesi ve sonrası meme kanseri açısından Koreli kadınlar için artmış bir risk gösterdiğini bildirmişlerdir (OR =% 1.7,95 CI = 1.04-2.78). Lavigne ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (166) sadece COMT-LL genotipini taşıyan obez, postmenopozal kadınlarda anlamlı derecede yüksek risk bulmuşlardır.

Mitrunen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (172) COMT-LL genotipinin, uzun süreli östrojen kullanan postmenopozal Finlandiyalı kadınlarda meme kanseri ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu bulmuşlardır (OR = 4.02;% 95 CI = 1.13-14.3). Fakat COMT Val158Met ile ilgili önceki meta analizler çelişkili sonuçlar göstermiştir (173).

Ding ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları 26 çalışmalık metaanalizde, (174) Avrupalı kadınlarda sınırda azalmış meme kanseri riski bulunmuştur(resesif model: Met / Met vs. Val / Val:VEYA = 0.90,% 95 CI = 0.90-1.00, Ph = 0.33). Sonuç olarak, bu meta-analiz COMT Val158Met polimorfizminin, beyaz populasyonda meme kanseri gelişimi için düşük penetranlı bir risk faktörü olabileceğini söylemiştir. Aslında, bu çalışmanın sonucu, COMT düşük aktivite SNP'inin bir risk faktörü değil koruyucu bir faktör olarak öne sürmesi açısından tartışmalıdır. (129)

Bununla birlikte, Ding ve arkadaşlarının yaptığı bu metaanalizde; Bergman-Jungestro ve arkadaşlarının (175), Ahsan ve arkadaşlarının (176), Dunning ve arkadaşlarının (177), Wen ve arkadaşlarının (178), Gaudet ve arkadaşlarının (179) orjinal yayınlarında bulunan datalardan farklı datalar ve hasta sayılarının kullanıldığı farkedilmiştir (173). Nitekim Xi ve arkadaşları (180) orijinal çalışmalarda sunulanlardan farklı veriler sunması da dahil olmak üzere Ding ve arkadaşlarının bu çalışmasını çeşitli yönlerden eleştirmiştir.

Mao ve arkadaşlarının (181), 2012 yılında yaptıkları metaanalizinde, 41 çalışma incelenmiş ve COMT polimorfizmi ile meme kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki olduğuna dair kanıt bulunamamıştır (Met / Met ve Val / Val için: OR = 0.96,% 95 CI = 0.88-1.04; baskın model için: OR = 0.97,% 95 CI = 0.92 Resesif model için: OR = 0.97,% 95 CI = 0.90-1.04). Etnik köken, menopozal duruma göre yapılan alt grup analizlerinde genetik modellerde anlamlı ilişki bulunamamıştır. Sonuç olarak, bu meta-analiz COMT Val158Met polimorfizminin artan meme kanseri riski ile ilişkili olmadığını kuvvetle önermiştir. Bununla birlikte, bu metaanalizde yer alan 2 makalenin (182, 183), dahil edilen diğer 2 çalışma ile örtüştüğü görülüp, metaanalizden çıkartılması gerektiği öne sürülmüştür. (184, 185)

Bu nedenle, Mao'nun (181) çalışması sadece 2 makale (182,183) hariç tutulduktan sonra 39 çalışmadan oluşmaktadır. Bununla birlikte, Mao ve arkadaşlarının yaptığı metaanalizde dataların; Song ve arkadaşları (186) ve Takata ve arkadaşlarının (187) orijinal makalelerindeki datalar ve hasta sayıları ile uyuşmadığı görülmüştür (173). Ayrıca Mao ve arkadaşlarının yaptığı metaanalize dahil edilme kriterleri taşıyan fakat dahil edilmemiş bir çalışma mevcut olduğu ve dikkat çekici bir şekilde, bu çalışmanın 2,176 meme kanseri vakası ile 2,012 kontrol grubuna sahip bir çalışma olduğu öne

sürülmüştür. Dolayısıyla, süregelen belirsizlik devam etmekte ve Mao ve arkadaşlarının metaanalizinin de tamamen güvenilir olmadığı gözler önüne serilmektedir(173).

He ve arkadaşları 30.199 meme kanseri vakası ve 38.922 kontrol grubu içeren 44 çalışmanın meta-analizini gerçekleştirmiş ve düşük aktivite alleli ile meme kanseri riski arasında bir ilişki bulamamışlardır (173). Buna karşılık, etnik köken, menopoz durumu ve aile öyküsü ile katmanlı bir analiz yapıldığında, COMT SNP'inin beyaz ırkta sınırda küçük bir koruyucu etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir. OR, 0.96; % 95 CI, 093–1.00(174). Bununla birlikte, bu SNP daha önce de belirtildiği gibi COMT aktivitesini biyolojik açıdan düşürdüğü için, bu sonuçlar COMT'un koruyucu rolü hakkında bildiklerimizle karşılaştırıldığında tutarsızdır (188).

34.358 meme kanseri vakası ve 45.429 kontrol dahil olmak üzere 56 çalışmanın 2012 yılında yapılan başka bir meta-analizinden elde edilen sonuçlar, herhangi bir genetik modelde COMT Val158Met polimorfizmi ve meme kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki olduğuna dair kanıt göstermemektedir. (189)

Son olarak 5.971 meme kanseri hastası ve 7.253 kontrolü içeren yirmi altı vaka-kontrol çalışmasını içeren Asya populasyonunda yapılmış yeni bir meta-analizde. Asya populasyonunda COMT Val158Met polimorfizminin heterozigot modeli dışında meme kanseri riski ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu göstermiştir (190).

COMT polimorfizmi ile ilgili bu çelişkili sonuçların yanısıra literatürde yine östrojen metabolizmasında görevli diğer bir enzim olan NQO1 polimorfizmi ve meme kanseri riski ile ilişkisi ile ilgili de pek çok makale yayınlanmıştır. Birkaç çalışma daha önce NQO1Pro187Ser polimorfizminin meme kanseri riskinde artış ile ilişkili olduğunu ileri sürmüştür (199,200) Ancak, diğer çalışmalar böyle bir ilişkiyi doğrulamamıştır (201,202). Ek olarak, Yuan ve arkadaşları (203) NQO1 Pro187Ser polimorfizminin beyaz ırkta meme kanseri gelişimine katkıda bulunabileceğini bulmuşlardır. Ancak, çalışmanın kanıtları sınırlı olarak değerlendirilmiş bunun sebebi o tarihte konu ile ilgili sadece 6 çalışmanın bulunması olarak belirtilmiştir.

Ayrıca, alt grup analizinde sadece etnik köken göz önüne alınmış ve bu çalışmada heterojenitenin kaynağı araştırılmamıştır. Ortaya çıkan bazı yeni çalışmalar (202,204,205), NQO1 Pro187Ser polimorfizmi ve meme kanseri riski arasındaki ilişkilerin en kapsamlı değerlendirmesini sağlamak için, mevcut tüm çalışmaların kapsamlı bir şekilde güncellenmiş bir meta-analizini, heterojenite kaynağını araştırıp ve alt grup analizlerini de ekleyip 2014 yılında Peng ve arkadaşları yapmıştır (206). 2.773 vaka ve 4.076 kontrole sahip 10 çalışma bu meta analize dahil edilmiştir. Tüm çalışmalar meta-analiz içinde toplu olarak değerlendirildiğinde NQO1 Pro187Ser polimorfizmi ve meme kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki gözlemlenmemiştir.

Etnik kökenlere göre alt grup analizinde, beyaz ırkta NQO1 polimorfizmi ile ilişkili belirgin artmış meme kanseri riski bulunmuştur (Ser / Pro vs. Pro / Pro: OR = 1.145,% 95 CI = 1.008–1.301, P = 0.038; Ser / Ser + Ser / Pro vs. Pro / Pro: OR = 1.177,% 95 CI = 1.041-1.331, P = 0.009).

Yukarıda ayrıntılı olarak anlatıldığı üzere, COMT ve NQO1 enzimlerine ait polimorfizmin meme kanseri ile ilişkisi daha önce pek çok etnik populasyonda yapılan çalışmalarda incelenmiş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Ülkemizde COMT enzim polimorfizmi ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi araştıran 3 çalışma yapılmıştır(207-209). Bunlardan sadece birinde pre-menapoz meme kanseri hastalarında COMT polimorfizminin meme kanseri ile ilişkisi anlamlı bulunmuş, diğer ikisinde anlamlı sonuç çıkmamıştır.

Kocabaş ve arkadaşlarının 2002 yılında yayınlanan çalışmasında faz I enzimi olan CYP1B1 ile faz II enzimi COMT polimorfizmi bir arada değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, COMT-L alleli ile meme kanseri arasında bir ilişki olmadığını öne sürmüşlerdir. CYP1B1'in SNP'inin ise sadece vücut kitle indeksi 24 kg/m² nin üzerinde olan hastalarda meme kanseri ile anlamlı ilişkisi olduğu ileri sürülmüştür. Sazcı ve arkadaşlarının 2004 yılında yayınlanan çalışmasında 130 pre-menopozal meme kanserli hasta ve 233 sağlıklı grupta COMT val/met polimorfizmi araştırılmış ve bu COMT SNP'i ile meme kanseri arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. (OR = 2.284; 95% CI= 1.267–4.116; chi-square = 7.819, d.f. = 1; P = 0.005).

Akışık ve arkadaşlarının 2007 yılında yayınlanan çalışmasında 126 meme kanserli hastada ve 108 kontrol grubunda IL1B polimorfizmi; 114 meme kanserli hastada ve 110 kişilik sağlıklı kontrol grubunda COMT-L alleli ve 150 meme kanserli hastada ve 141 kişilik kontrol grubunda Timidilat sentaz enzim polimorfizmi incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda COMT-L alleli ile meme kanseri arasında bir ilişki olmadığı ve sadece timidilat sentaz enziminde görülen polimorfizmin meme kanserinden koruyucu rolü olduğu ileri sürülmüştür.

Yapılan bu çalışmaların iki tanesinde çalışmaya alınan kişiler menopozal durumlarına göre seçilmemiş, ayrıca her üç çalışmada meme kanseri hastalarının östrojen reseptör pozitif veya negatif olup olmadığı belirtilmemiştir (207-209). Değişik etnik gruplarda NQO1 enzim polimorfizmi ile meme kanseri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar mevcut iken (206) literatürde Türk toplumunda NQO1 enzim polimorfizmi ile meme kanseri ilişkisini araştıran çalışmaya rastlanmamıştır.

Türk kadınları üzerinde yaptığımız bu çalışma ile literatürdeki bu çelişkili sonuçlara ışık tutulmaya ve literatüre katkıda bulunulmaya çalışılmıştır. Çalışmamızda COMT düşük aktivite alleleri ile meme kanseri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamız etnik olarak benzer, küçük bir grupta yapılmıştır. Küçük bir grup olması çalışmamızın bir kısıtlılığı olmakla birlikte daha önce geniş popülasyonlarda yapılan meta-analizlerdeki eleştrilerin aksine, etnik grup olarak rafine bir grup hasta üzerinde yapılmış ve mevcut literatür ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Türk kadını popülasyonunda, östrojen metabolizmasında önemli bir faz II enzim olan NQO1 enziminin polimorfizmi ilk olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca Türk kadınlarında yine literatürde östrojen metabolizmasına bakıldığında, yolağın iki önemli fazII enzimi olan NQO1 enziminin COMT enzimiyle beraber incelendiği ilk çalışmadır. Çalışmamızda NQO1 enzim polimorfizmi ile meme kanseri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız bu çalışmada, literatürle uyumlu olarak Türk kadınlarında östrojen metabolizmasında görevli COMT ve NQO1 enzimlerinin aktivitesinde azalmaya yol açan SNP'lerin meme kanseri ile ilişkisi gösterilememiştir.

Östrojen metabolizmasında görevli bu enzimleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin fenotipik olarak dışa vurumu; hastanın faz I enzimleri, metilasyon durumu, hayat tarzı ve alışkanlıkları, diğer çevresel maruziyetleri dahil epigenetiğini etkileyecek çok fazla değişkene bağlıdır. Bu değişkenlerin çoğunu aynı anda ele alacak ve eş zamanlı enzim aktivitesi ve östrojen metabolitlerini de değerlendirecek geniş kapsamlı çalışmalar, literatürde bugün varolan tartışmalara son verilmesi açısından gereklidir.

Referanslar:

1. World Health Organization Internetional Agency for Research on Cancer. The pglobal cancer observatory 2018 statistics.
2. Siegel R.L.,Miller K.D.,Jamal A. Cancer statistics 2020. CA.Cancer J.Clin.2020:70.7
3. Torre L.A. Bray F. Siegel R.L. et al.Global cancer statistics 2012.CA.Cancer J.Clin.2015:65:87
4. Siegel R.L. Miller K.D.Jemal A.Cancer statistics 2019.CA Cancer J.Clin.2019:69:7
5. Kohler B.A Ward E.Mc Carthy B.J.et al . Annual report to the nation on the status of cancer1975-2007 J.Natt.Cancer Inst.2011:103:714
6. Clinical features,diagnosis and staging of newly diagnosed breast cancer-uptodate
7. Gurney E.P.Nachtigail M.J. Nachtigail L.E.Naftolin F.The women's health initiative trial and related studies.10 year later a clinician's view.J.Steroid Biochem.Mol Biol 2014 :142:4
8. Chlebowski R.T. Aragaki A.K. Anderson G.L.Menopausal hormon therapy influence on breast cancer outcomes in the WHI J.Natl.Compr.Canc Netw 2015:13:917
9. Tabar L.Dean PB.Chen TH.et al The incidence of breast cancer measures the increased effectiveness of therapy in women participating in mamography screening.Cancer2019:125:515
10. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü-Türkiye Kanser İstatistikleri 2015 raporu
11. Singletary SE, Connolly JL. Breast cancer staging: working with the sixth edition of the AJCC Cancer Staging Manual. CA Cancer J Clin, 2006; 56:37-47. (PMID: 16449185)
12. Ellis IO, Cornelisse CJ, Schnitt SJ, Sasco AJ, Sastre-Garau X, Kaaks R. Invasive breast carcinomas. In: Tavassoli FA, Devilee P, editors. WHO Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Lyon: IARC Press, 2003. p 13-19.
13. Li CI, Uribe DJ, Daling JR. Clinical characteristics of different histologic types of breast cancer. Br J Cancer 2005; 93:1046.
14. Ozmen V. İnvaziv duktal karsinom. In: Cem Terzi, ed. Turk CerrahiDerneği Temel ve Klinik Cerrahi Kitabı. Available from: URL: http:// www.tcdcerrahi.org/fulltext.php?id=340

15. Gurdal SO, Karanlik H, Cabioglu N, Ozcinar B, Yavuz E, Tuzlali S,Ozmen V. Positive or close margins in breast conserving surgery: Is reexcision always necessary? Eur J Surg Oncol 2012; 38:399-406. (PMID:22440741)
16. Ellis IO, Humphreys S, Michell M, Pinder SE, Wells CA, Zakhour HD;UK National Coordinating Commmittee for Breast Screening Pathology; European Commission Working Group on Breast Screening Pathology. Best Practice No 179. Guidelines for breast needle core biopsy handlingand reporting in breast screening assessment. J Clin Pathol. 2004; 57:897-902. (PMID: 15333647)
17. Molino A, Giovannini M, Auriemma A, Fiorio E, Mercanti A, Mandara M, Caldara A, Micciolo R, Pavarana M, Cetto GL. Pathological, biological and clinical characteristics, and surgical management of elderly women with breast cancer. Crit Rev Oncol Hematol 2006; 59:226-233. (PMID: 16533603)
18. Dillon DA, Guidi AJ, Schnitt SJ. Pathology of invasive breast cancer. In: Diseases of the Breast, 4th edition, Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK (Eds), Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia 2009. p.386.
19. Breast Cancer in Turkey: Clinical and Histopathological Characteristics (Analysis of 13.240 Patients) Vahit Ozmen J Breast Health 2014; 10: 98-105*DOI: 10.5152/tjbh.2014.1988*
20. Molecular Classification of Breast Carcinoma: From Traditional, Old-Fashioned Way to A New Age, and A New Way . Nuket Eliyatkın1, Evrim Yalçın2, Baha Zengel3, Safiye Aktaş4, Enver Vardar1 *J Breast Health 2015; 11: 59-66 DOI: 10.5152/tjbh.2015.1669*
21. Tumor, Node, Metastasis (TNM) staging classification for breast cancer Harold J Burstein,MD, PhD Uptodate
22. AJCC (American Joint Committee on Cancer) Cancer Staging Manual; 8th edition, 3rd printing, Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al (Eds), Springer, Chicago 2018.
23. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, et al. Prospective Validation of a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. N Engl J Med 2015; 373:2005.
24. Breast cancer risk factors Marzena Kamińska1, Tomasz Ciszewski1, Karolina Łopacka-Szatan1, Paweł Miotła2, Elżbieta Starosławska1Prz Menopauzalny 2015; 14(3): 196-202
25. Factors that modify breast cancer risk in women Wendy Y Chen, MD, MPH Uptodate
26. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. CA Cancer J Clin 2020; 70:7.

27. Ahlgren M, Melbye M, Wohlfahrt J, Sørensen TI. Growth patterns and the risk of breast cancer in women. N Engl J Med 2004; 351:1619.
28. Green J, Cairns BJ, Casabonne D, et al. Height and cancer incidence in the Million Women Study: prospective cohort, and meta-analysis of prospective studies of height and total cancer risk. Lancet Oncol 2011; 12:785.
29. van den Brandt PA, Spiegelman D, Yaun SS, et al. Pooled analysis of prospective cohort studies on height, weight, and breast cancer risk. Am J Epidemiol 2000; 152:514.
30. Ritte R, Lukanova A, Tjønneland A, et al. Height, age at menarche and risk of hormone receptor-positive and -negative breast cancer: a cohort study. Int J Cancer 2013; 132:2619.
31. Antoniou A, Pharoah PD, Narod S, et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. Am J Hum Genet 2003; 72: 1117-1130.
32. Mohamad HB, Apffelstaedt JP. Counseling for male BRCA mutation carriers:a review. Breast 2008; 17: 441-450.
33. Ban KA, Godellas CV. Epidemiology of breast cancer. Surg Oncol Clin N Am 2014; 23: 409-422.
34. Young SR, Pilarski RT, Donenberg T, et al. The prevalence of BRCA1 mutations among young women with triple-negative breast cancer. BMC Cancer 2009; 9: 86.
35. Oosterwijk JC, de Vries J, Mourits MJ, et al. Genetic testing and familial implications in breast-ovarian cancer families. Maturitas 2014; 78:252-257.
36. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. Lancet 2001; 358:1389.
37. Braithwaite D, Miglioretti DL, Zhu W, et al. Family History and Breast Cancer Risk Among Older Women in the Breast Cancer Surveillance Consortium Cohort. JAMA Intern Med 2018; 178:494.
38. Nichols HB, Berrington de González A, Lacey JV Jr, et al. Declining incidence of contralateral breast cancer in the United States from 1975 to 2006. J Clin Oncol 2011; 29:1564.
39. Reiner AS, Sisti J, John EM, et al. Breast Cancer Family History and Contralateral Breast Cancer Risk in Young Women: An Update From the Women's

Environmental Cancer and Radiation Epidemiology Study. J Clin Oncol 2018; 36:1513.
40. Hsieh CC, Trichopoulos D, Katsouyanni K, Yuasa S. Age at menarche, age at menopause, height and obesity as risk factors for breast cancer: associations and interactions in an international case-control study. Int J Cancer 1990; 46: 796-800.
41. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Lancet 1997; 350: 1047.
42. Rosner B, Colditz GA, Willett WC. Reproductive risk factors in a prospective study of breast cancer: The Nurses' Health Study. Am J Epidemiol 1994; 139: 819-835.
43. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Menarche, menopause, and breast cancer risk: individual participant meta-analysis, including 118 964 women with breast cancer from 117 epidemiological studies. Lancet Oncol 2012; 13:1141.
44. Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive factors and breast cancer. Epidemiol Rev 1993; 15:36.
45. Rosner B, Colditz GA, Willett WC. Reproductive risk factors in a prospective study of breast cancer: the Nurses' Health Study. Am J Epidemiol 1994; 139:819.
46. RBruzzi P, Negri E, La Vecchia C, et al. Short term increase in risk of breast cancer after full term pregnancy. BMJ 1988; 297:1096.
47. Rossing MA, Daling JR, Weiss NS, Moore DE, Self SG. Risk of breast cancer in a cohort of infertile women. Gynecol Oncol 1996; 60: 3-7.
48. Modan B, Ron E, Lerner-Geva L, Blumstein T, Menczer J, Rabinovici J, Oelsner G, Freedman L, Mashiach S, Lunenfeld B. Cancer incidence in a cohort of infertile women. Am J Epidemiol 1998; 147: 1038-1042.
49. Stuebe AM, Willett WC, Xue F, Michels KB. Lactation and incidence of premenopausal breast cancer: a longitudinal study. Arch Intern Med 2009; 169: 1364-1371.
50. Jernstrom H, Lubinski J, Lynch HT, Ghadirian P, Neuhausen S, Isaacs CWeber BL, Horsman D, Rosen B, Foulkes WD, Friedman E, Gershoni- Baruch R, Ainsworth P, Daly M, Garber J, Olsson H, Sun P, Narod SA. Breast-feeding and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. J Natl Cancer Inst 2004; 96: 1094-1098.

51. Hartmann LC, Sellers TA, Frost MH, et al. Benign breast disease and the risk of breast cancer. N Engl J Med 2005; 353: 229-237.
52. McCormack VA, dos Santos Silva I. Breast density and parenchymal patterns as markers of breast cancer risk: a meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2006; 15:1159.
53. McCormack VA, dos Santos Silva I. Breast density and parenchymal patterns as markers of breast cancer risk: a meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2006; 15:1159.
54. Boyd NF, Guo H, Martin LJ, et al. Mammographic density and the risk and detection of breast cancer. N Engl J Med 2007; 356:227.
55. Boyd NF, Rommens JM, Vogt K, et al. Mammographic breast density as an intermediate phenotype for breast cancer. Lancet Oncol 2005; 6:798.
56. Wong CS, Lim GH, Gao F, et al. Mammographic density and its interaction with other breast cancer risk factors in an Asian population. Br J Cancer 2011; 104:871.
57. Ziv E, Tice J, Smith-Bindman R, et al. Mammographic density and estrogen receptor status of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2004; 13:2090.
58. Yaghjyan L, Colditz GA, Collins LC, et al. Mammographic breast density and subsequent risk of breast cancer in postmenopausal women according to tumor characteristics. J Natl Cancer Inst 2011; 103:1179.
59. Boyd NF, Dite GS, Stone J, et al. Heritability of mammographic density, a risk factor for breast cancer. N Engl J Med 2002; 347:886.
60. Vachon CM, Sellers TA, Carlson EE, et al. Strong evidence of a genetic determinant for mammographic density, a major risk factor for breast cancer. Cancer Res 2007; 67:8412.
61. Irwin ML, Aiello EJ, McTiernan A, et al. Physical activity, body mass index, and mammographic density in postmenopausal breast cancer survivors. J Clin Oncol 2007; 25:1061.
62. Boyd NF, Greenberg C, Lockwood G, et al. Effects at two years of a low-fat, high-carbohydrate diet on radiologic features of the breast: results from a randomized trial. Canadian Diet and Breast Cancer Prevention Study Group. J Natl Cancer Inst 1997; 89:488.
63. McTiernan A, Martin CF, Peck JD, et al. Estrogen-plus-progestin use and mammographic density in postmenopausal women: Women's Health Initiative randomized trial. J Natl Cancer Inst 2005; 97:1366.

64. Slanetz PJ, Grandpre LE, Yeh ED, et al. Effect of tamoxifen on breast tissue density in premenopausal breast cancer. Breast J 2004; 10:27.
65. Cuzick J, Warwick J, Pinney E, et al. Tamoxifen and breast density in women at increased risk of breast cancer. J Natl Cancer Inst 2004; 96:621.
66. Tamimi RM, Byrne C, Colditz GA, Hankinson SE. Endogenous hormone levels, mammographic density, and subsequent risk of breast cancer in postmenopausal women. J Natl Cancer Inst 2007; 99:1178.
67. Konopka P. Rak, układ odpornościowy a odżywianie. Poradnik dlapacjentów. MedPharm, Wrocław 2009.
68. Thiébaut AC, Kipnis V, Chang SC, et al. Dietary fat and postmenopausalinvasive breast cancer in the National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study cohort. J Natl Cancer Inst 2007; 99: 451
69. Saxe GA, Rock CL, Wicha MS, et al. Diet and risk for breast cancer recurrenceand survival. Breast Cancer Res Treat 1999; 53: 241-253.
70. Lynch BM, Neilson HK, Friedenreich CM. Physical activity and breast cancer prevention. Recent Results Cancer Res 2011; 186: 13-42.
71. Pizot C, Boniol M, Mullie P, et al. Physical activity, hormone replacement therapy and breast cancer risk: A meta-analysis of prospective studies. Eur J Cancer 2016; 52:138.
72. Maruti SS, Willett WC, Feskanich D, et al. A prospective study of age-specific physical activity and premenopausal breast cancer. J Natl Cancer Inst 2008; 100:728.
73. Willett WC, Rockhill B, Hankinson SE, et al. Nongenetic factors in the causation of breast cancer. In: Diseases of the Breast, 3rd edition, Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK (Eds), Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia 2004. p.253.
74. Thune I, Brenn T, Lund E, Gaard M. Physical activity and the risk of breast cancer. N Engl J Med 1997; 336:1269.
75. Brinton LA, Bernstein L, Colditz GA. Summary of the workshop: Workshop on Physical Activity and Breast Cancer, November 13-14, 1997. Cancer 1998; 83:595.
76. Irwin ML, Varma K, Alvarez-Reeves M, et al. Randomized controlled trial of aerobic exercise on insulin and insulin-like growth factors in breast cancer survivors: the Yale Exercise and Survivorship study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2009; 18:306.
77. Fairey AS, Courneya KS, Field CJ, et al. Effects of exercise training on fasting insulin, insulin resistance, insulin-like growth factors, and insulin-like growth

factor binding proteins in postmenopausal breast cancer survivors: a randomized controlled trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2003; 12:721.
78. Ligibel JA, Campbell N, Partridge A, et al. Impact of a mixed strength and endurance exercise intervention on insulin levels in breast cancer survivors. J Clin Oncol 2008; 26:907.
79. Bagnardi V, Rota M, Botteri E, et al. Light alcohol drinking and cancer:a meta-analysis. Ann Oncol 2013; 24: 301-308.
80. Gaudet MM, Carter BD, Brinton LA, et al. Pooled analysis of active cigarette smoking and invasive breast cancer risk in 14 cohort studies. Int J Epidemiol 2017; 46:881.
81. Gram IT, Park SY, Kolonel LN, et al. Smoking and Risk of Breast Cancer in a Racially/Ethnically Diverse Population of Mainly Women Who Do Not Drink Alcohol: The MEC Study. Am J Epidemiol 2015; 182:917.
82. Johnson KC, Miller AB, Collishaw NE, et al. Active smoking and secondhand smoke increase breast cancer risk: the report of the Canadian Expert Panel on Tobacco Smoke and Breast Cancer Risk (2009). Tob Control 2011; 20:e2.
83. Gaudet MM, Gapstur SM, Sun J, et al. Active smoking and breast cancer risk: original cohort data and meta-analysis. J Natl Cancer Inst 2013; 105:515.
84. Anderson LN, Cotterchio M, Mirea L, et al. Passive cigarette smoke exposure during various periods of life, genetic variants, and breast cancer risk among never smokers. Am J Epidemiol 2012; 175:289.
85. Shiftwork. IARC Monographs Volume 98. http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol98/mono98-8.pdf (Accessed on November 01, 2012).
86. Travis RC, Balkwill A, Fensom GK, et al. Night Shift Work and Breast Cancer Incidence: Three Prospective Studies and Meta-analysis of Published Studies. J Natl Cancer Inst 2016; 108.
87. Wang F, Yeung KL, Chan WC, et al. A meta-analysis on dose-response relationship between night shift work and the risk of breast cancer. Ann Oncol 2013; 24:2724.
88. Hansen J, Stevens RG. Case-control study of shift-work and breast cancer risk in Danish nurses: impact of shift systems. Eur J Cancer 2012; 48:1722.
89. Schernhammer ES, Hankinson SE. Urinary melatonin levels and breast cancer risk. J Natl Cancer Inst 2005; 97:1084.
90. Schernhammer ES, Berrino F, Krogh V, et al. Urinary 6-sulfatoxymelatonin levels and risk of breast cancer in postmenopausal women. J Natl Cancer Inst 2008; 100:898.

91. Henderson TO, Amsterdam A, Bhatia S, et al. Systematic review: surveillance for breast cancer in women treated with chest radiation for childhood, adolescent, or young adult cancer. Ann Intern Med 2010; 152:444.
92. Kenney LB, Yasui Y, Inskip PD, et al. Breast cancer after childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. Ann Intern Med 2004; 141:590.
93. Guibout C, Adjadj E, Rubino C, et al. Malignant breast tumors after radiotherapy for a first cancer during childhood. J Clin Oncol 2005; 23:197.
94. Pukkala E, Kesminiene A, Poliakov S, et al. Breast cancer in Belarus and Ukraine after the Chernobyl accident. Int J Cancer 2006; 119:651
95. Ostroumova E, Preston DL, Ron E, et al. Breast cancer incidence following low-dose rate environmental exposure: Techa River Cohort, 1956-2004. Br J Cancer 2008; 99:1940.
96. John EM, Kelsey JL. Radiation and other environmental exposures and breast cancer. Epidemiol Rev 1993; 15:157.
97. Key TJ, Appleby PN, Reeves GK, et al. Steroid hormone measurements from different types of assays in relation to body mass index and breast cancer risk in postmenopausal women: Reanalysis of eighteen prospective studies. Steroids 2015; 99:49.
98. Missmer SA, Eliassen AH, Barbieri RL, Hankinson SE. Endogenous estrogen, androgen, and progesterone concentrations and breast cancer risk among postmenopausal women. J Natl Cancer Inst 2004; 96:1856.
99. Beattie MS, Costantino JP, Cummings SR, et al. Endogenous sex hormones, breast cancer risk, and tamoxifen response: an ancillary study in the NSABP Breast Cancer Prevention Trial (P-1). J Natl Cancer Inst 2006; 98:110.
100. Farhat GN, Cummings SR, Chlebowski RT, et al. Sex hormone levels and risks of estrogen receptor-negative and estrogen receptor-positive breast cancers. J Natl Cancer Inst 2011; 103:562.
101. Sieri S, Krogh V, Bolelli G, et al. Sex hormone levels, breast cancer risk, and cancer receptor status in postmenopausal women: the ORDET cohort. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2009; 18:169.
102. Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group, Key TJ, Appleby PN, et al. Sex hormones and risk of breast cancer in premenopausal women: a collaborative reanalysis of individual participant data from seven prospective studies. Lancet Oncol 2013; 14:1009.

103. Eliassen AH, Missmer SA, Tworoger SS, et al. Endogenous steroid hormone concentrations and risk of breast cancer among premenopausal women. J Natl Cancer Inst 2006; 98: 1406-1415.
104. Kaaks R, Berrino F, Key T, et al. Serum sex steroids in premenopausal women and breast cancer risk within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 2005; 97:755-765.
105. Fortner RT, Eliassen AH, Spiegelman D, et al. Premenopausal endogenous steroid hormones and breast cancer risk: results from the Nurses' Health Study II. Breast Cancer Res 2013; 15: R19.
106. Farhat GN, Cummings SR, Chlebowski RT, et al. Sex hormone levels and risks of estrogen receptor-negative and estrogen receptor-positive breast cancers. J Natl Cancer Inst 2011; 103: 562-570.
107. Ban KA, Godellas CV. Epidemiology of breast cancer. Surg Oncol Clin N Am 2014; 23: 409-422
108. Westhoff CL. Breast cancer risk: perception versus reality. Contraception 1999; 59 (1 Suppl): 25S-28S.
109. Marchbanks PA, McDonald JA, Wilson HG, et al. Oral contraceptives and the risk of breast cancer. N Engl J Med 2002; 346: 2025-2032.
110. Marchbanks PA, Curtis KM, Mandel MG, et al. Oral contraceptive formulation and risk of breast cancer. Contraception 2012; 85: 342-350.
111. Dinger J, Bardenheuer K, Minh TD. Levonorgestrel-releasing and copper intrauterine devices and the risk of breast cancer. Contraception 2011;83: 211-217.
112. Prentice RL, Chlebowski RT, Stefanick ML, et al. Conjugated equine estrogensand breast cancer risk in the Women's Health Initiative clinical trial and observational study. Am J Epidemiol 2008; 167: 1407-1415.
113. Fournier A, Berrino F, Clavel-Chapelon F. Unequal risks for breast cancer associated with different hormone replacement therapies: results from the E3N cohort study. Breast Cancer Res Treat 2008; 107: 103-111.
114. Tamimi RM, Hankinson SE, Chen WY, et al. Combined estrogen and testosterone use and risk of breast cancer in postmenopausal women. Arch Intern Med 2006; 166: 1483-1489
115. Santen RJ, Boyd NF, Chlebowski RT, Cummings S, Cuzick J, Dowsett M, Easton D, Forbes JF, Key T, Hankinson SE, *et al*: Critical assessment of new risk factors for breast cancer: Considerations for development of an improved risk prediction model. Endocr Relat Cancer 14: 169-187, 2007.

116. Hofseth LJ, Raafat AM, Osuch JR, Pathak DR, Slomski CA and Haslam SZ: Hormone replacement therapy with estrogen or estrogen plus medroxyprogesterone acetate is associated with increased epithelial proliferation in the normal postmenopausal breast. J Clin Endocrinol Metab 84: 4559-4565, 1999.
117. Cavalieri E and Rogan E: The molecular etiology and prevention of estrogen-initiated cancers: Ockham's Razor: Pluralitas non est ponenda sine necessitate. Plurality should not be posited without necessity. Mol Aspects Med 36: 1-55, 2014
118. Devanesan P, Santen RJ, Bocchinfuso WP, Korach KS, Rogan EG and Cavalieri E: Catechol estrogen metabolites and conjugates in mammary tumors and hyperplastic tissue from estrogen receptor-alpha knock-out (ERKO)/Wnt-1 mice: Implications for initiation of mammary tumors. Carcinogenesis 22: 1573-1576, 2001.
119. Cavalieri EL, Stack DE, Devanesan PD, Todorovic R, Dwivedy I, Higginbotham S, Johansson SL, Patil KD, Gross ML, Gooden JK, *et al*: Molecular origin of cancer: Catechol estrogen-3,4-quinones as endogenous tumor initiators. Proc Natl Acad Sci USA 94: 10937-10942, 1997.
120. Li KM, Todorovic R, Devanesan P, Higginbotham S, Köfeler H, Ramanathan R, Gross ML, Rogan EG and Cavalieri EL: Metabolism and DNA binding studies of 4-hydroxyestradiol and estradiol-3,4-quinone in vitro and in female ACI rat mammary gland in vivo. Carcinogenesis 25: 289-297, 2004.
121. Cavalieri EL and Rogan EG: Depurinating estrogen-DNA adducts in the etiology and prevention of breast and other human cancers. Future Oncol 6: 75-91, 2010
122. Fussell KC, Udasin RG, Smith PJ, Gallo MA and Laskin JD: Catechol metabolites of endogenous estrogens induce redox cycling and generate reactive oxygen species in breast epithelial cells. Carcinogenesis 32: 1285-1293, 2011
123. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M and Mazur M: Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact 160: 1-40, 2006.
124. Lee AJ, Cai MX, Thomas PE, Conney AH and Zhu BT: Characterization of the oxidative metabolites of 17beta-estradiol and estrone formed by 15 selectively expressed human cytochrome p450 isoforms. Endocrinology 144: 3382-3398, 2003

125. Jefcoate CR, Liehr JG, Santen RJ, Sutter TR, Yager JD, Yue W, Santner SJ, Tekmal R, Demers L, Pauley R, *et al*: Tissue-specific synthesis and oxidative metabolism of estrogens. J Natl Cancer Inst Monogr: 95-112, 2000
126. Rahman M, Lax SF, Sutter CH, Tran QT, Stevens GL, Emmert GL, Russo J, Santen RJ and Sutter TR: CYP1B1 is not a major determinant of the disposition of aromatase inhibitors in epithelial cells of invasive ductal carcinoma. Drug Metab Dispos 36: 963-970, 2008.
127. Evaluation of serum estrogen-DNA adducts as potential biomarkers for breast cancer risk. Pruthi S, Yang L, Sandhu NP, Ingle JN, Beseler CL, Suman VJ, Cavalieri EL and Rogan EG: J Steroid Biochem Mol Biol 132: 73-79, 2012
128. Unifying mechanism in the initiation of breast cancer by metabolism of estrogen (Review) Chunjıe Wen, Lanxıang Wu, Lıjuan Fu, Bıng Wang, Honghao Zhou
129. Yager JD: Catechol-O-methyltransferase: Characteristics, polymorphisms and role in breast cancer. Drug Discov Today Dis Mech 9: e41-e46, 2012.
130. Lavigne JA, Goodman JE, Fonong T, Odwin S, He P, Roberts DW and Yager JD: The effects of catechol-O-methyltransferase inhibition on estrogen metabolite and oxidative DNA damage levels in estradiol-treated MCF-7 cells. Cancer Res 61: 7488-7494, 2001
131. Zahid M, Saeed M, Lu F, Gaikwad N, Rogan E and Cavalieri E: Inhibition of catechol-O-methyltransferase increases estrogen-DNA adduct formation. Free Radic Biol Med 43: 1534-1540, 2007.
132. Zhu BT and Conney AH: Is 2-methoxyestradiol an endogenous estrogen metabolite that inhibits mammary carcinogenesis? Cancer Res 58: 2269-2277, 1998
133. Gaikwad NW, Rogan EG and Cavalieri EL: Evidence from ESI-MS for NQO1-catalyzed reduction of estrogen ortho-quinones. Free Radic Biol Med 43: 1289-1298, 2007.
134. Z. Huang, M.J. Fasco, H.L. Figge, K. Keyomarsi, L.S. Kaminsky, Expression of cytochromes P450 in human breast tissue and tumors, Drug Metab. Dispos. 24 (1996) 899–905.
135. B.T. Zhu, A.H. Conney, Functional role of estrogen metabolism in target cells: review and perspectives, Carcinogenesis 19 (1998) 1–27.
136. C.H. van Aswegen, R.H. Purdy, J.L. Wittliff, Binding of 2-hydroxyestradiol and 4-hydroxyestrdiol to estrogen receptor human breast cancers, J. Steroid Biochem. 32 (1989) 485–492.

137. J. Schneider, M.M. Huh, H.L. Bradlow, J. Fishman, Antiestrogen action of 2-hydroxyestrone on MCF-7 human breast cancer cells, J. Biol. Chem. 259(1984) 4840–4845.
138. M. Gupta, A. McDougal, S. Safe, Estrogenic and antiestrogenic activities of 16alpha- and 2-hydroxy metabolites of 17 beta-estradiol in MCF-7 and T47D human breast cancer cells, J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 67 (1998)413–419.
139. N.T. Telang, M. Katdare, H.L. Bradlow, M.P. Osborne, Estradiol metabolism: an endocrine biomarker for modulation of human mammary carcinogenesis, Environ. Health Perspect. 105 (1997) 559–564.
140. B. Vandewalle, J. Lefebvre, Opposite effects of estrogen and catecholestrogen on hormone-sensitive breast cancer cell growth and differentiation, Mol. Cell.Endocrinol. 61 (1989) 239–246.
141. H.L. Bradlow, N.T. Telang, D.W. Sepkovic, M.P. Osborne, 2-hydroxyestrone:the 'good' estrogen, J. Endocrinol. 150 (1996) S259–S265.
142. J.G. Liehr, D. Roy, Free radical generation by redox cycling of estrogens, Free Radical Biol. Med. 8 (1990) 415–423.
143. J.A. Lavigne, J.E. Goodman, T. Fonong, S. Odwin, P. He, D.W. Roberts, J.D. Yager,The effects of catechol-Omethyltransferase inhibition on estrogen metabolite and oxidative DNA damage levels in estradiol-treated MCF-7 cells, Cancer Res. 61 (2001) 7488–7494.
144. N.J. Lakhani, M.A. Sarkar, J. Venitz, W.D. Figg, 2-methoxyestradiol, a promising anticancer agent, Pharmacotherapy 23 (2003) 165–172.
145. M. Cushman, H.M. He, J.A. Katzenellenbogen, C.M. Lin, E. Hamel, Synthesis,antitubulin and antimitotic activity, and cytotoxicity of analogs of 2-methoxyestradiol, an endogenous mammalian metabolite of estradiol that inhibits tubulin polymerization by binding to the colchicine binding site, J.Med. Chem. 38 (1995) 2041–2049.
146. S. Dawling, N. Roodi, F.F. Parl, Methoxyestrogens exert feedback inhibition on cytochrome P450 1A1and 1B1, Cancer Res. 63 (2003) 3127–3132.
147. V. Kerlan, Y. Dreano, J.P. Bercovici, P.H. Beaune, H.H. Floch, E. Berthou, Nature of cytochrome P450 involved in the 2-/4-hydroxylations of estradiol human liver microsomes, Biochem. Pharmacol. 44 (1992) 1745–1756.
148. E.L. Cavalieri, D.E. Stack, P.D. Devanesan, R. Todorovic, I. Dwivedy, S. Higginbotham, S.L. Johansson, K.D. Patil, M.L. Gross, J.K. Gooden, R. Ramanathan, R.L. Cerny, E.G. Rogan, Molecular origin of cancer: catechol estrogen-3,4-quinones as endogenous tumor initiators, Proc. Natl. Acad. Sci.USA 94 (1997) 10937–10942.

149. J.G. Liehr, M.J. Ricci, 4-hydroxylation of estrogens as marker of human mammary tumors, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93 (1996) 3294–3296.
150. N.W. Gaikwad, L. Yang, P. Muti, J.L. Meza, S. Pruthi, J.N. Ingle, E.G. Rogan, E.L.Cavalieri, The molecular etiology of breast cancer: evidence from biomarkers of risk, Int. J. Cancer 122 (2008) 1949–1957
151. J.A. Lavigne, J.E. Goodman, T. Fonong, S. Odwin, P. He, D.W. Roberts, J.D. Yager,The effects of catechol-O-methyltransferase inhibition on estrogen metabolite and oxidative DNA damage levels in estradiol-treated MCF-7 cells, Cancer Res. 61 (2001) 7488–7494.
152. H.L. Bradlow, R.E. Hershcopf, J.F. Fishman, Oestradiol 16 alpha-hydroxylase: a risk marker for breast cancer, Cancer Surv. 5 (1986) 573–583.
153. N.T. Telang, A. Suto, G.Y. Wong, M.P. Osborne, H.L. Bradlow, Induction by estrogen metabolite 16alpha-hydroxyestrone of genotoxic damage and aberrant proliferation in mouse mammary epithelial cells, J. Natl. Cancer Inst. 84 (1992) 634–638.
154. Suto, H.L. Bradlow, G.Y. Wong, M.P. Osborne, N.T. Telang,Experimental down regulation of intermediate biomarkers of carcinogenesis in mouse mammary epithelial cells, Breast Cancer Res.Treat. 27 (1993) 193–202
155. Suto, H.L. Bradlow, G.Y. Wong, M.P. Osborne, N.T. Telang, Persistent estrogen responsiveness of ras oncogene-transformed mouse mammary epithelial cells, Steroids 57 (1992) 262–268.H.L.
156. Bradlow, R.J. Hershcopf, C.P. Martucci, J. Fishman, Estradiol 16 alphahydroxylation in the mouse correlates with mammary tumor incidence and presence of murine mammary tumor virus: a possible model for the hormonal etiology of breast cancer in humans, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82 (1985) 6295–6299.
157. M.P. Osborne, H.L. Bradlow, G.Y. Wong, N.T. Telang, Upregulation of estradiol C16 alpha-hydroxylation in human breast tissue: a potential biomarker of breast cancer risk, J. Natl. Cancer Inst. 85 (1993) 1917–1920.
158. H.C. Guldberg, C.A. Marsden, Catechol-O-methyl ransferase: pharmacological aspects and physiological role, Pharmacol. Rev. 27 (1975) 135–206.
159. D.E. Stack, J. Byun, M.L. Gross, E.G. Rogan, E.L. Cavalieri, Molecular characteristics of catechol estrogen quinones in reactions with deoxyribonucleosides, Chem. Res. Toxicol. 9 (1996) 851–859.
160. M.L. Circu, T.Y. Aw, Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis, Free Radic. Biol. Med. 48 (2010) 749–762.

161. M.H. Grossman, B.S. Emanuel, M.L. Budarf, Chromosomal mapping of the human catechol-O-methyltransferase gene to 22q11.1–q11.2, Genomics. 12(1992) 822–825.
162. Genetic Polymorphisms in Catechol-0-ethyltransferase, Menopausal Status, and Breast Cancer Risk Patricia A. Thompson, Peter G. Shields, Jo I.. Freudenheim, Angie Stone, John E. Vena, James R. Marshall,Saxon Graham, Rosemary Laughlin, Takuma Nemoto, Fred F. Kadlubar, and Christine B. Ambrosone2 [CANCER RESEARCH 58. 2107-2110. May 15. IWX]
163. H.M. Lachman, D.F. Papolos, T. Saito, Y.M. Yu, C.L. Szumlanski, R.M.Weinshilboum, Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics:description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders, Pharmacogenetics 6(1996) 243–250.
164. S. Dawling, N. Roodi, R.L. Mernaugh, X. Wang, F.F. Parl, Catechol-Omethyltransferase (COMT)-mediated metabolism of catechol estrogens:comparison of wild-type and variant COMT isoforms, Cancer Res.61 (2001) 6716–6722
165. D.S. Yim, S.K. Parkb, K.Y. Yoo, K.S. Yoon, H.H. Chung, H.L. Kang, S.H.Ahn, D.Y. Noh, K.J. Choe, I.J. Jang, S.G. Shin, P.T. Strickland, A. Hirvonen,D. Kang, Relationship between the Val158Met polymorphism of catecholOmethyl transferase and breast cancer, Pharmacogenetics 11 (2001)279–286.
166. J.A. Lavigne, K.J. Helzlsouer, H.Y. Huang, P.T. Strickland, D.A. Bell, O. Selmin,M.A. Watson, S. Hoffman, G.W. Comstock, J.D. Yager, An association between the allele coding for a low activity variant of catechol-methyltransferase and the risk for breast cancer, Cancer Res. 57 (1997) 5493–5497
167. P.A. Thompson, P.G. Shields, J.L. Freudenheim, A. Stone, J.E. Vena, J.R. Marshall,S. Graham, R. Laughlin, T. Nemoto, F.F. Kadlubar, C.B. Ambrosone, Genetic polymorphisms in catechol-O-methyltransferase, menopausal status, and breast cancer risk, Cancer Res. 58 (1998) 2107–2110
168. K. Mitrunen, N. Jourenkova, V. Kataja, M. Eskelinen, V.M. Kosma, S.Benhamou, D. Kang, H. Vainio, M. Uusitupa, A. Hirvonen, Polymorphiccatechol-Omethyltransferase gene and breast cancer risk, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 10 (2001) 635–640.
169. Thompson PA, Shields PG, Freudenheim JL, Stone A, Vena JE,Marshall JR, Graham S, Laughlin R, Nemoto T, Kadlubar FF,Ambrosone CB (1998) Genetic polymorphisms in catechol-O-methyltransferase, menopausal status, and breast cancer risk.Cancer Res 58:2107–2110

170. Huang CS, Chern HD, Chang KJ, Cheng CW, Hsu SM, Shen CY (1999) Breast cancer risk associated with genotype polymorphism of the estrogen-metabolizing genes CYP17, CYP1A1, and COMT: a multigenic study on cancer susceptibility. Cancer Res 59:4870–4875
171. Yim DS, Parkb SK, Yoo KY, Yoon KS, Chung HH, Kang HL,Ahn SH, Noh DY, Choe KJ, Jang IJ, Shin SG, Strickland PT,Hirvonen A, Kang D (2001) Relationship between the Val108/158Met polymorphism of catechol-O-methyl transferase and breast cancer. Pharmacogenetics 11:279–286
172. Mitrunen K, Jourenkova N, Kataja V, Eskelinen M, Kosma VM,Benhamou S, Kang D, Vainio H, Uusitupa M, Hirvonen A (2001) Polymorphic catechol-O-methyltransferase gene and breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10:635–640
173. Association between the COMT Val158Met polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis of 30,199 cases and 38,922 control Xiao-Feng He,Wu Wei, Shao-Xia Li, Jiao Su, Ying Zhang, Xiang-Hua Ye,Yi Liu,Wei Wang Mol Biol Rep (2012) 39:6811–6823 DOI 10.1007/s11033-012-1506-2
174. Ding HX, Fu YY, Chen WX, Wang ZW (2010) COMT Val158Met polymorphism and breast cancer risk: evidence from 26 case–control studies. Breast Cancer Res Treat 123:265–270
175. Bergman-Jungestrom M, Wingren S (2001) Catechol-O-methyltransferase (COMT) gene polymorphism and breast cancer risk in young women. Br J Cancer 85:859–862
176. Ahsan H, Chen Y, Whittemore AS, Kibriya MG, Gurvich I, Senie RT, Santella RM (2004) A family-based genetic association study of variants in estrogen-metabolism genes COMT and CYP1B1 and breast cancer risk. Breast Cancer Res Treat 85:121–131
177. Dunning AM, Dowsett M, Healey CS, Tee L, Luben RN, Folkerd E, Novik KL, Kelemen L, Ogata S, Pharoah PD, Easton DF, Day NE, Ponder BA (2004) Polymorphisms associated with circulating sex hormone levels in postmenopausal women. J Natl Cancer Inst 96:936–945
178. Wen W, Cai Q, Shu XO, Cheng JR, Parl F, Pierce L, Gao YT,Zheng W (2005) Cytochrome P450 1B1 and catechol-O-methyltransferase genetic polymorphisms and breast cancer risk in Chinese women: results from the shanghai breast cancer study and a meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:329–335
179. Gaudet MM, Bensen JT, Schroeder J, Olshan AF, Terry MB, Eng SM, Teitelbaum SL, Britton JA, Lehman TA, Neugut AI, Ambrosone CB, Santella RM,

Gammonn MD (2006) Catechol-Omethyltransferase haplotypes and breast cancer among women on Long Island, New York. Breast Cancer Res Treat 99:235–240

180. Xi B, et al. Catechol-O-methyltransferase Val158Met polymorphism in breast cancer risk. Breast Cancer Res Treat. 2011; 126:839–840. author reply 841. [PubMed: 21221767]

181. Mao C, Wang XW, Qiu LX, Liao RY, Ding H, Chen Q (2010) Lack of association between catechol-O-methyltransferase Val108/158Met polymorphism and breast cancer risk: a metaanalysis of 25,627 cases and 34,222 controls. Breast Cancer Res Treat 121:719–725

182. Onay VU, Briollais L, Knight JA, Shi E, Wang Y, Wells S, Li H, Rajendram I, Andrulis IL, Ozcelik H (2006) SNP–SNP interactions in breast cancer susceptibility. BMC Cancer 6:114

183. Hu Z, Song CG, Lu JS, Luo JM, Shen ZZ, Huang W, Shao ZM (2007) A multigenic study on breast cancer risk associated with genetic polymorphisms of ER Alpha, COMT and CYP19 gene in BRCA1/BRCA2 negative Shanghai women with early onset breast cancer or affected relatives. J Cancer Res Clin Oncol 133:969–978

184. Song CG, Hu Z, Yuan WT, Di GH, Shen ZZ, Huang W, Shao ZM (2006) Prevalence of Val108/158Met polymorphism in COMT gene on non-BRCA1/2 hereditary breast cancer. Zhonghua Wai Ke Za Zhi 44:1310–1313

185. Onay UV, Aaltonen K, Briollais L, Knight JA, Pabalan N,Kilpivaara O, Andrulis IL, Blomqvist C, Nevanlinna H, Ozcelik H (2008) Combined effect of CCND1 and COMT polymorphisms and increased breast cancer risk. BMC Cancer 8:6

186. Song CG, Hu Z, Yuan WT, Di GH, Shen ZZ, Huang W, Shao ZM(2006) Prevalence of Val108/158Met polymorphism in COMT gene on non-BRCA1/2 hereditary breast cancer. Zhonghua WaiKe Za Zhi 44:1310–1313

187. Takata Y, Maskarinec G, Le Marchand L (2007) Breast density and polymorphisms in genes coding for CYP1A2 and COMT: the multiethnic cohort. BMC Cancer 7:30

188. Catechol-*O*-methyltransferase: characteristics, polymorphisms and role in breast cancer James D. Yager Drug Discov Today Dis Mech. ; 9(1-2): e41–e46. doi:10.1016/j.ddmec.2012.10.002

189. X. Qin, Q. Peng, A. Qin, Z. Chen, L. Lin, Y. Deng, L. Xie, J. Xu, H. Li, T. Li, S. Li, J.Zhao, Association of COMT Val158Met polymorphism and breast cancer risk:an updated meta-analysis, Diagnostic Pathol. 7 (2012) 136.

190. Impact of Catechol-O-Methyltransferase Val 158Met (rs4680) Polymorphism on Breast Cancer Susceptibility in Asian Population Vandana Rai*, Upendra Yadav, Pradeep Kumar
191. Schlager JJ, Powis G: Cytosolic NAD(P)H: (quinone-acceptor)oxidoreductase in human normal and tumor tissue: effects of cigarette smoking and alcohol. Int J Cancer 1990, 45:403–409.
192. Siegel D, Gustafson DL, Dehn DL, Han JY, Boonchoong P, Berliner LJ,Ross D: NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1: role as a superoxide scavenger. Mol Pharmacol 2004, 65:1238–1247.
193. Winski SL, Koutalos Y, Bentley DL, Ross D: Subcellular localization of NAD (P)H:quinone oxidoreductase 1 in human cancer cells. Cancer Res 2002, 62:1420–1424.
194. Rosvold EA, McGlynn KA, Lustbader ED, Buetow KH: Identification of anNAD(P)H:quinone oxidoreductase polymorphism and its association with lung cancer and smoking. Pharmacogenetics 1995, 5:199–206.
195. Traver RD, Siegel D, Beall HD, Phillips RM, Gibson NW, Franklin WA, Ross D:Characterization of a polymorphism in NAD(P)H: quinone oxidoreductase (DT-diaphorase). Br J Cancer 1997, 75:69–75.
196. Siegel D, McGuinness SM, Winski SL, Ross D: Genotype-phenotype relationships in studies of a polymorphism in NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1. Pharmacogenetics 1999, 9:113–121.
197. Moran JL, Siegel D, Ross D: A potential mechanism underlying the increased susceptibility of individuals with a polymorphism in NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) to benzene toxicity. Proc Natl Acad Sci U S A 1999, 96:8150–8155.
198. Ross D, Siegel D: NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1, DT-diaphorase),functions and pharmacogenetics. Methods Enzymol 2004, 382:115–144.
199. Sarmanova J, Susova S, Gut I, Mrhalova M, Kodet R, Adamek J, Roth Z,Soucek P: Breast cancer: role of polymorphisms in biotransformation enzymes. Eur J Hum Genet 2004, 12:848–854.
200. Menzel HJ, Sarmanova J, Soucek P, Berberich R, Grunewald K, Haun M, Kraft HG: Association of NQO1 polymorphism with spontaneous breast cancer in two independent populations. Br J Cancer 2004, 90:1989–1994.
201. Singh V, Upadhyay G, Rastogi N, Singh K, Singh MP: Polymorphism of xenobiotic-metabolizing genes and breast cancer susceptibility in North Indian women. Genet Test Mol Biomarkers 2011, 15:343–349.

202. Hong CC, Ambrosone CB, Ahn J, Choi JY, McCullough ML, Stevens VL,Rodriguez C, Thun MJ, Calle EE: Genetic variability in iron-related oxidative stress pathways (Nrf2, NQ01, NOS3, and HO-1), iron intake, and risk of postmenopausal breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2007,16:1784–1794.
203. Yuan W, Xu L, Chen W, Wang L, Fu Z, Pang D, Li D: Evidence on the association between NQO1 Pro187Ser polymorphism and breast cancer risk in the current studies: a meta-analysis. Breast Cancer Res Treat 2011,125:467–472.
204. Yao S, Xu H, Chen Y, Shen X, Ju X, Wu W, Huang H, Dai L: Relationshipbetween genetic polymorphisms of quinone oxidoreductase 1 andsusceptibility and chemosensitivity of breast cancer. Chin J Exp Surg 2013,125:684–687
205. Lajin B, Alhaj Sakur A, Alachkar A: Association between polymorphisms in apoptotic genes and susceptibility for developing breast cancer in Syrian women. Breast Cancer Res Treat 2013, 138:611–619
206. The NQO1 Pro187Ser polymorphism and breast cancer susceptibility: evidence from an updated meta-analysis Qiliu Peng1, Yu Lu1, Xianjun Lao1, Zhiping Chen2, Ruolin Li3, Jingzhe Sui1, Xue Qin1* and Shan Li1Peng et al. Diagnostic Pathology 2014, 9:100
207. Kocabas NA, Sardas S, Cholerton S, Daly AK, Karakaya AE(2002) Cytochrome P450 CYP1B1 and catechol-O-methyltransferase(COMT) genetic polymorphisms and breast cancer susceptibility in a Turkish population. Arch Toxicol 76:643–649
208. Sazci A, Ergul E, Utkan NZ, Canturk NZ, Kaya G (2004) Catechol-O-methyltransferase Val 108/158 Met polymorphism in premenopausal breast cancer patients. Toxicology 204:197–202
209. Akisik E, Dalay N (2007) Functional polymorphism of thymidylate synthase, but not of the COMT and IL-1B genes, is associated with breast cancer. J Clin Lab Anal 21:97–102