



T.C.

HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ

TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ

**İNVAZİV MEME KARSİNOMLARINDA FUT4 VE CXCR4
PROTEİNLERİNİN PROGNOSTİK PARAMETRELERLE
İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Tuğçe ERTÜRK

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Esin DOĞAN

HATAY-2022

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ

İNVAZİV MEME KARSİNOMLARINDA FUT4 VE CXCR4
PROTEİNLERİNİN PROGNOSTİK PARAMETRELERLE
İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Tuğçe ERTÜRK
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Esin DOĞAN

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP)
tarafından 21TU003 proje numarası ile desteklenmiştir.

TEZ ONAY SAYFASI

**T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

İNVAZİV MEME KARSİNOMLARINDA FUT4 VE CXCR4 PROTEİNLERİNİN PROGNOSTİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ

Dr. Tuğçe ERTÜRK

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

(İmza).....

Prof. Dr.....

Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

(İmza).....

..... Dr.

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

(İmza).....

Prof. Dr.Esin DOĞAN

Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1. Esin DOĞAN

2. Sibel HAKVERDİ

3. Tümay ÖZGÜR

III. İÇİNDEKİLER

III. İÇİNDEKİLER.....	iii
IV. TABLOLAR LİSTESİ.....	v
V. ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
VI. RESİMLER LİSTESİ	vii
VII. KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ.....	viii
VIII. TEŞEKKÜR	ix
IX. ÖZET	x
X. ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Meme.....	2
2.1.1. Embriyoloji.....	2
2.1.2. Anatomi	2
2.1.3. Histoloji.....	4
2.1.4. Etiyoloji.....	5
2.1.5. Meme Tümörlerinin Sınıflandırılması	5
2.1.6. Prognostik ve Prediktif Faktörler	8
2.1.7. Evreleme.....	9
2.1.8. Tedavi.....	10
2.2. Epitelyal Mezenşimal Dönüşüm	11
2.2.1. Meme Kanseri Kök Hücresi	13
2.2.2. Meme Tümör Mikroçevresi	14
2.2.3. Tümör Mikroçevresini Oluşturan Hücreler.....	14

2.2.4. Meme Kanseri Kök Hücresinin Mikroçevresinden Kaynaklanan Sinyaller	15
2.2.5. Tümör Mikroçevresinde C-X-C Kemokin Reseptör Tip 4	17
2.2.6. Tümör Mikroçevresinde Fukoziltransferaz IV (FUT4)	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Etik Kurul Onayı	20
3.2. Olgu Seçimi	20
3.3. Hematoksilen&Eozin Boyalı Kesitlerin Değerlendirilmesi	20
3.4. İmmünohistokimyasal Yöntem	21
3.5. RNA İzolasyonu	22
3.6. cDNA Sentezi	23
3.7. Real Time PCR Reaksiyonları	24
3.8. İmmünreaktivitenin Değerlendirilmesi	26
3.8.1. CXCR4 Antikoru ile Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi	26
3.8.2. FUT4 Antikoru ile Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi	26
3.9. İstatistiksel Analiz	27
4. BULGULAR	28
4.1. Klinikopatolojik Bulgular	28
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	29
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	37
7. KAYNAKLAR	38
8. EKLER	48
Ek-1. Etik Kurul Onay Belgesi	48
9. ÖZGEÇMİŞ	49

IV. TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Meme kanseri etyopatogenezinde etkili faktörler (16).	5
Tablo 2. İnvaziv meme karsinomlarının histolojik sınıflaması (2019 DSÖ Meme Tümörleri Sınıflaması).	6
Tablo 3. Meme tümörlerinde histolojik derecelendirme (Modifiye Bloom Richerdson).	7
Tablo 4. Meme karsinomların patolojik tümör (pT) evresi (AJCC 8. edisyon).	9
Tablo 5. Meme karsinomların patolojik lenf nodu (pN) evresi (AJCC 8. edisyon). .	10
Tablo 6. DNA eleminasyon hazırlık şeması.	24
Tablo 7. RNA ekstre şeması.	24
Tablo 8. Gen hacim tablosu.	25
Tablo 9. PCR protokolü.	25
Tablo 10. Hastaların histopatolojik ve moleküler özellikleri.	29
Tablo 11. CXCR4 değerlerinin hasta ve kontrol, pT ve pN durumları ve HER2 skorları arasında karşılaştırılması.	30
Tablo 12. Hasta ve kontrol grupları arasında FUT4 skorlarının karşılaştırılması.	32
Tablo 13. Hasta ve kontrol grupları arasında FUT4 ve CXCR4 gen ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.	32

V. ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Memenin fonksiyonel ünitesi (9).....	3
Şekil 2. Epitel hücrelerin mezenkimal hücrelere dönüşümü (30).....	11
Şekil 3. EMT’de bazal membranın bozulması (33).	11
Şekil 4. EMT indükleyici faktörler (37).....	12
Şekil 5. Epitelyal mezenkimal dönüşüm ve metastaz (37).	13
Şekil 6. CXCR4- CXCL12 kompleksi (3).	16
Şekil 7. IL-6 JAK-STAT yolağı (81).	17
Şekil 8. FUT4 MAPK yolağı (89).....	19

VI. RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. CXCR4 antikoru ile invaziv tümörde düşük ekspresyon (x200 büyütme).	31
Resim 2. CXCR4 antikoru ile invaziv tümörde yüksek ekspresyon (x200 büyütme).	31
Resim 3. FUT4 antikoru ile invaziv tümörde skor 1 görüntüsü (x200 büyütme).....	32
Resim 4. FUT4 antikoru ile invaziv tümörde skor 2 görüntüsü (x200 büyütme).....	33



VII. KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ

AJCC	: American Joint Committee on Cancer
ABC	: ATP Bağlayan Kaset (ABC)
AR	: Androjen Reseptörü
CXCR4	: Kemokin Reseptör Tip 4
CXCL12	: Kemokin C-X-C Motif Kemokin 12
ECM	: Ekstraselüler Matriks
EMT	: Epitelyal Mezenkimal Dönüşüm
ER	: Östrojen Reseptörü
FUT4	: Fukosiltransferaz IV
HER2	: Human Epidermal Growth Factor Receptor
IL	: İnterlökin
JAK/STAT	: Janus Kinas/Signal Transducer and Activator of Transcription
LA	: Lüминаl A
LB	: Lüминаl B
NF-KB	: Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells
OCT4	: Oktamer-Bağlayıcı Transkripsiyon Faktörü 4
PI3K	: Fosfotidil İnositol 3-Kinase
PR	: Progesteron Reseptörü
RT-PCR	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

VIII. TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tezimin her aşamasında ve ihtisasım süresince sabır ve hoş görüşle, bilgi ve becerisini benimle paylaşan tez danışmanı hocam; Prof. Dr. Esin DOĞAN ve diğer hocalarıma,

Her zaman yanımda olan ve sadece eğitimimde değil hayatımın her aşamasında desteklerini benden esirgemeyen anneme, babama ve kardeşime,

Zor zamanlarımda hep yanımda olan dostlarıma, uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalıştığım asistan arkadaşlarıma,

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMLE...

Dr. Tuğçe ERTÜRK

Hatay-2022

IX. ÖZET

İNVAZİV MEME KARSİNOMLARINDA FUT4 VE CXCR4 PROTEİNLERİNİN PROGNOSTİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ

Amaç: Bu çalışmada epitelyal-mezenşimal dönüşümde etkili rol oynayan proteinlerden olan FUT4 ve CXCR4'ün klinikopatolojik parametreler ile birlikte immünohistokimyasal olarak ekspresyonlarının ve FUT4 proteinin RT-PCR yöntemiyle mRNA seviyelerinin normal meme dokusu ve invaziv meme kanserli dokularda değerlendirilmesi amaçlandı.

Materyal ve Metod: Bu çalışmaya Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2010-2020 yılları arasında invaziv duktal karsinom tanısı almış 30 olgu ve redüksiyon mamoplasti ameliyatı olmuş 20 kontrol olgu dahil edilmiştir. Hastane veri tabanı sistemi üzerinden demografik bilgiler ve patoloji raporları tarandı. Raporlarda bulunan grade, invazyon derecesi, lenf nodu metastazı gibi bilgiler histopatolojik olarak doğrulandı. Biyopsilere ait kesitler tekrardan değerlendirilerek hematoksil-eozin boyaması ile histopatolojik incelemeler yapıldı. FUT4 geninin ifadesi RT-PCR analizi ile yapıldı ve CXCR4 ve FUT4 ekspresyonları immünohistokimyasal olarak değerlendirildi.

Bulgular: Hastaların yaş ortalaması 48,23±8,80 (min:32,00-max:66,00) yıl idi. Hastaların 16'sında (%53,3) lenfovasküler invazyon, 15'inde (%50) lenf nodu metastazı saptandı. CXCR4 medyan değerleri hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,001$). pN0 grubundaki vakaların CXCR4 medyan değerleri pN1a-N3a grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,001$). Hasta ve kontrol grupları arasında FUT4 skor oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,001$) Hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı 2,14 katlık bir FUT4 gen ekspresyon artışı saptandı ($p=0,004$).

Sonuç: CXCR4 ekspresyonunun lenf nodu metastazı ile korele olduğu ve meme tümörü olgularında FUT4'ün gen ifadesinde artış olduğu bulundu. Çalışmamız, FUT4'ün meme kanseri hücrelerinde yeni bir epitelyal-mezenkimal dönüşüm düzenleyicisi ve kanser tedavisi için umut verici bir hedef olma olasılığını desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Meme karsinomu, metastaz, prognoz, kemokin

X. ABSTRACT

THE RELATIONSHIP OF FUT4 AND CXCR4 PROTEINS WITH PROGNOSTIC PARAMETERS IN INVASIVE BREAST CARCINOMAS

Aims: The aim of this study was to evaluate the immunohistochemical expression of FUT4 and CXCR4, which are proteins that play an effective role in epithelial-mesenchymal transformation, together with clinicopathological parameters and FUT4 protein mRNA levels in normal breast tissue and invasive breast cancer tissues by RT-PCR method.

Materials and Methods: In this study, 30 cases diagnosed with invasive ductal carcinoma and 20 control cases who underwent reduction mammoplasty in Hatay Mustafa Kemal University, Department of Medical Pathology between 2010-2020 were included. Demographic information and pathology reports were scanned through the hospital database system. Information such as grade, degree of invasion, lymph node metastasis in the reports were confirmed histopathologically. The sections of the biopsies were reevaluated and histopathological examinations were performed with hematoxylin-eosin staining. Expressions of FUT4 gene was performed by RT-PCR analysis and FUT4 and CXCR4 expressions were evaluated immunohistochemically.

Results: The mean age of the patients was $48,23 \pm 8,80$ (min:32,00-max:66,00) years. Lymphovascular invasion was detected in 16 (53.3%) patients. Lymph node metastasis was found in 15 (50%) patients. CXCR4 median values were found to be significantly higher in the patient group compared to the control group ($p < 0,001$). The median CXCR4 values of the cases in the pN0 group were found to be significantly lower compared to the pN1a-N3a group ($p < 0,001$). A statistically significant difference was found between the patient and control groups in terms of FUT4 score rates ($p < 0,001$). A statistically significant 2,14 fold increase in FUT4 gene expression was detected in the patient group compared to the control group ($p = 0,004$).

Conclusion: CXCR4 expression correlates with lymph node metastasis found. It was found that there was an increase in the gene expression of FUT4 in breast tumor cases. Our study supports the possibility that FUT4 is a novel regulator of epithelial mesenchymal transformation in breast cancer cells and a promising target for cancer therapy.

Key words: Breast carcinoma, metastasis, prognosis, chemokine

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kadınlarda görülme sıklığı en yüksek olan, kanserin neden olduğu ölümlerde ise akciğer kanserinden sonra ikinci sırada gelen kanser meme kanseridir (1).

Tümör histopatolojisine bakıldığında; meme karsinom subtiplerinde moleküler bir heterojenite olduğu izlenmektedir. Epitelyal-mezenşimal dönüşüm epitel hücre özelliklerinin yerini mezenkimal hücre özelliklerinin alması olarak tanımlanır. Bu dönüşüm tümöre bazı özellikler kazandırır. Bu özelliklerden en önemlisi metastaz kapasitesidir (2-4).

Tümör mikroçevresindeki hücreler kemokin C-X-C motif kemokin 12'yi (CXCL12) eksprese eder. CXCL12'nin reseptörü C-X-C kemokin reseptör tip 4'tür (CXCR4). CXCL12-CXCR4 yolağı, tümör hücrelerinin hangi organa invaze olacağını gösterir. Meme kanserine sahip hastalarda, CXCR4'ün artmış ekspresyonu gösterilmiştir. Özellikle artmış CXCR4 ekspresyonu, lenf nodu metastazı olan hastalarda izlenmiştir (3).

FUT4 glikozilasyonda görev alır. Artmış fukosiltransferaz IV (FUT4) birçok kanser türünde görülür ve FUT4 ekspresyonunu spesifik sinyal yolu ile manipüle etmek hücre büyümesini inhibe eder ve apoptozu indükler (5).

Birçok tedaviye rağmen meme karsinomları kansere bağlı ölümlerde ilk sırayı yer almaktadır. Tümör epitelyal-mezenkimal dönüşüm mekanizmasının anlaşılması yeni tedavilerin önünü açacaktır. Bu çalışma ile epitelyal-mezenşimal dönüşümde etkili rol oynayan proteinlerden olan FUT4 ve CXCR4'ün klinikopatolojik parametreler ile birlikte immünohistokimyasal olarak ekspresyonlarının ve FUT4 proteinin RT-PCR yöntemiyle mRNA seviyelerinin normal meme dokusu ve invaziv meme kanseri tanımlı dokularda değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Meme

2.1.1. Embriyoloji

Meme dokusunun embriyonik gelişimi 5-6. haftada ektodermal elemanlardan süt çizgisinin gelişimi ile başlar. Epitelyal yapılar 10-12. haftada belirip; gelişimlerini doğuma dek sürdürür. Meme dokusu modifiye ter bezidir (4,6).

Embriyolojik olarak 12. haftada areola ve meme başı gelişimini tamamlar. 16. haftada ise montgomery bezleri olarak bilinen sebace ve apokrin glandları içeren kompleks gelişimini tamamlar. 32. haftada areolada renk oluşumu gözlenir (6).

Meme glandlarının embriyolojik gelişiminde steroid insülin like faktör başta olmak üzere birçok hormonun etkisi vardır (7).

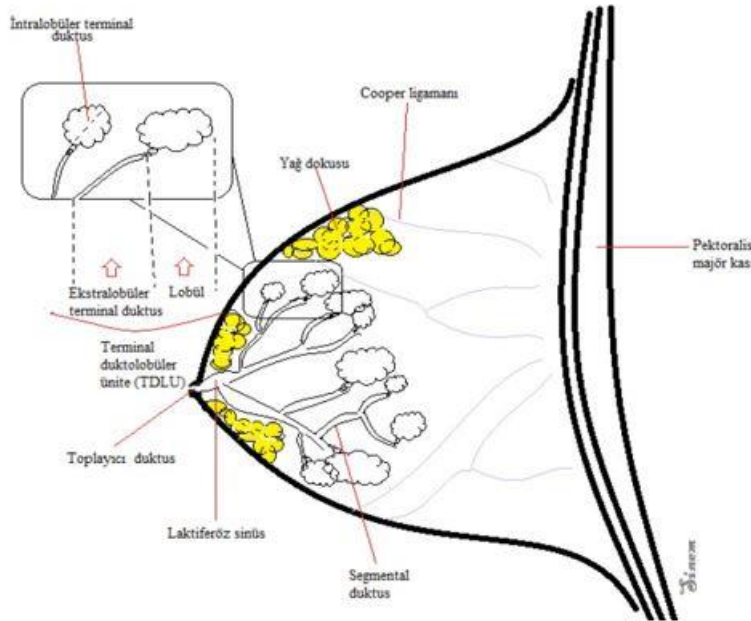
2.1.2. Anatomi

Meme dokusu 2. interkostal aralıktan başlayıp 6. interkostal boşluğa kadar uzanım göstermekte olup göğüs ön duvarında yer almaktadır. Meme aslında bir çeşit apokrin bir glanddır (8).

Meme, asinus, lobül ve loblardan meydana gelmektedir. Asinüsler lobülleri, lobüller de lob yapılarını oluşturmaktadır. Asinüsler terminal duktus adı verilen yapılara lobülleri oluşturduktan sonra açılırlar Memenin işlevselliğini oluşturan kısmını lobül ve lobülün uç kısmındaki ekstraterminal duktusundan oluşan terminal duktolobüler ünite (TDLU) oluşturmaktadır (9).

Bu işlevselliği sağlayan ünite terminal duktuslar, subsegmental duktusu subsegmental duktuslar da laktifer kanal yapılarını meydana getirir. En son oluşan laktifer duktus meme başına açılmadan önce genişler. Bu genişleme alanına sinüs adı verilir ve burdan dışarı açılır. Meme başı anatomik olarak 4. interkostal boşlukta yer almaktadır. Meme'nin lenfatik dolaşımın büyük kısmı aksiller nodlara çok küçük bir kısmı internal Mammarian nodlara gerçekleşmektedir. Aksiller lenfatik dolaşım 3 seviye şeklindedir.

1. seviyede anatomik olarak pektoralis minör kasının dış kısmında yer alan aksiller nodlar bulunmaktadır.
2. seviyede pektoralis minör kasının posteriorunda yer alan santral ve interpektoral kısım, 3.seviyede ise pektoralis minör kasının iç kısmında yer alan subklaviküler grup yer almaktadır.



Şekil 1. Memenin fonksiyonel ünitesi (9).

Memenin arteriyel dolaşımı İnternal mammaryan (torasik arter) arter; subklavyan arterden köken almaktadır. Memenin iç tarafındaki ve subareolar kısmının

dolaşımını sağlamaktadır. Lateral torasik arter pektoralis majör, serratus anterior kasın beslenmesi ve meme üst dış bölgenin dolaşımını sağlar.

Memenin venleri arterlere paralel olacak şekilde yer almaktadır. Meme venlerinin dağılımı anastomozları meme karsinomlarında tümörün metastaz yapacağı organı belirlemesi açısından çok önemlidir (10).

2.1.3. Histoloji

Eriřkin kadın memesi yařa ve kiřiye göre deęiřkenlik gösteren fibröz ve yaę dokudan oluşan stroma içerisinde duktolobüler sistemden oluşur.

Duktusların ve lobüllerin epitelini iki tip hücre oluşurmaktadır. İç tabaka lüminal tabaka dış tabaka miyoepitelyal tabakadır. Miyoepitelyal tabakanın varlığı benign lezyonları malign lezyonlardan ayrımında önemlidir (11). Bu iki hücreden basal membran boyunca uzanım gösteren myoepitelyal hücreler kasılarak süt ejeksiyonunda görev almaktadır. Diğer bir hücre tipi luminal hücrelerdir. Bu hücreler myoepitel hücrelerin üst kısmında yer alan küboidal ve kolumnar şekilli hücrelerdir (4). Memenin basal membran hücreleri Laminin, Tip IV kollogen ve retikulin boyaları ile boyanma göstermektedir. Memenin luminal kısmında yer alan epitel hücreleri düşük molekül ağırlıklı sitokeratinlerle (Sitokeratin14 (CK14), Sitokeratin5/6 (CK5/6) ve yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin (HMWCK)) boyanma izlenebilir (12).

Ayrıca bu hücrelerde, E-cadherin laktoalbumin, mammaglobin, milk flat globune membrane antigen ile de ekspresyon izlenebilmektedir. GCDFP (gross cystic disease fluid protein) ile özellikle apokrin metaplazinin görüldüğü alanlarda ekspresyon görülür (13). Bu hücreler ER, PR ile genelde pozitif boyanırlar (14).

Miyoepitelyal hücreler düz kas aktini (SMA), düz kas myosini (SMM), calponin, caldesmon, p63, CD10, P-cadherin ve S100 gibi miyoepitelyal belirteçler ile boyanırlar. Bu hücrelerde ER, PR ve AR ile ekspresyon genellikle görülmez (15).

2.1.4. Etiyoloji

Meme kanserinin etyopatogenezi multifaktoriyeldir. Meme kanserinin risk faktörleri değiştirilebilir ve değiştirilemez olmak üzere 2 alt grupta incelenir (16).

Tablo 1. Meme kanseri etyopatogenezinde etkili faktörler (16).

MEME KANSERİ RİSK FAKTÖRLERİ
• İleri Yaş • Irk • Cinsiyet • Endometrial atipi Hiperplazi tanısı • BRCA-1 BRCA 2 gen mutasyonları • 40 yaş öncesinde tanı almış invaziv meme karsinomu tanısı • Birinci derece akrabasında meme kanseri öyküsü • Radyasyon öyküsü • Uzun süre östrojene maruz kalma • Oral kontraseptif kullanımı

2.1.5. Meme Tümörlerinin Sınıflandırılması

Histomorfoloji ve prognoz temel alınarak hazırlanan bugün raporlamada kullanılan 2019 yılında yayınlanan Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tümör sınıflamasıdır. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2019 yılı meme karsinomları histolojik sınıflandırması Tablo 2'de yer almaktadır (17).

Tablo 2. İnvaziv meme kansinolarının histolojik sınıflaması (2019 DSÖ Meme Tümörleri Sınıflaması).

Benign Epitelyal Proliferasyonlar ve Öncü Lezyonlar • Olağan duktal hiperplazi • Kolumnar hücre lezyonları, flat epitelyal atipi dahil • Atipik duktal hiperplazi Adenozis ve Benign Sklerozan Lezyonlar • Sklerozan adenozis • Apokrin adenoma • Mikroglandüler adenozis • Radial skar/kompleks sklerozan lezyon Adenomlar • Tubuler adenom NOS • Laktasyon adenomu • Duktal adenom NOS Epitelyal-Miyoepitelyal Tümörler • Pleomorfik adenom • Adenomyoepitelyoma NOS • Karsinom içeren adenomyoepitelyoma • Epitelyal-Miyoepitelyal karsinom	Papiller Neoplaziler • İntraduktal papillom • Duktal Karsinoma İn Situ, papiller • Enkapsüle papiller karsinom • İnvazyon gösteren enkapsüle papiller karsinom • Solid papiller karsinoma in situ • İnvazyon gösteren solid papiller karsinoma • İnvazyon gösteren intraduktal papiller adenokarsinom Non-İnvaziv Lobüler Neoplazi • Atipik lobüler hiperplazi • Lobüler karsinoma in situ -Klasik lobüler karsinoma in situ -Florid lobüler karsinoma in situ -Pleomorfik lobüler karsinoma in situ Duktal Karsinoma İn Situ (DKİS) İnfiltrasyon göstermeyen intraduktal karsinom NOS • DKİS, düşük nükleer dereceli • DKİS, orta nükleer dereceli • DKİS, yüksek nükleer dereceli
İnvaziv Meme Karsinomları • İnfiltratif duktal karsinom NOS • Onkositik karsinom • Lipidden zengin karsinom • Glikojenden zengin karsinom • Sebase karsinom • Lobüler karsinom NOS • Tubuler karsinom • Kribriform karsinom NOS • Müsinöz adenokarsinom • Müsinöz kistadenokarsinom NOS • Memenin invaziv mikropapiller karsinomu • Apokrin adenokarsinom • Metaplastik karsinom NOS Nadir ve Tükrük Bezi Tipinde Tümörler	

- Asiner hücreli karsinom
- Adenoid kistik karsinom
 - Klasik adenoid kistik karsinom
 - Solid-bazaloid adenoid kistik karsinom
 - Yüksek dereceli transformasyon içeren adenoid kistik karsinom
- Sekretuar karsinom
- Mukoepidermoid karsinom
- Polimorfik adenokarsinom
- Ters polarite gösteren uzun hücreli karsinom

Nöroendokrin Neoplaziler

- Nöroendokrin tümör NOS
- Nöroendokrin tümör, derece 1
- Nöroendokrin tümör, derece 2
- Nöroendokrin karsinom NOS
- Nöroendokrin karsinom, küçük hücreli
- Nöroendokrin karsinom, büyük hücreli

Histolojik derecelendirme meme karsinomları için en önemli prognostik parametrelerden biridir (18). Gradelemde tubul ve gland formasyonu, nükleer pleomorfizm ve mitotik indeks kullanılmaktadır (19) (Tablo 3). Bu skorlama sisteminde 3-5 puan grade 1, 6-7 puan grade 2, 8-9 puan grade 3 kabul edilir.

Tablo 3. Meme tümörlerinde histolojik derecelendirme (Modifiye Bloom Richerdson).

Özellik	Skor
Tubul ve gland formasyonu	
>%75	1
%10-75	2
<%10	3
Nükleer pleomorfizm	
Küçük uniform hücreler	1
Nükleer büyüklük ve varyasyonda orta derecede artış	2
Belirgin varyasyon	3
Mitotik indeks	
Mikroskopik alan genişliğine bağlı olarak hesaplanır.	1-3

2.1.6. Prognostik ve Prediktif Faktörler

Meme tümörlerinde yaş, tümörün histolojik derecesi, evre, cerrahi sınırlarda tümörün olup olmadığı varsa cerrahi sınıra uzaklığı, lenfovasküler invazyon, tümörün hormonal profili, ki67 proliferasyon indeksi, tümörü infiltre eden lenfositler klinikopatolojik prognostik faktörlerdir. Bu faktörlerin önemi tedaviyi yönlendirmelerinden kaynaklanmaktadır (17).

ER, PR ekspresyonu meme karsinomu hastalarında endokrin tedaviyi belirlemek için kullanılmaktadır. ER ve PR ile tümör hücrelerinin %1 oranında ve daha fazla tümör hücresinde nükleer olarak pozitif boyanma izlenmesi halinde ER pozitif olarak rapora yazılması önerilmektedir.

ER, PR boyanması tümör hücresinin %1 oranının altında olan boyanma negatif olarak raporlanması önerilmektedir ve bu hastaların hormonal tedaviden yarar görmediği kanıtlanmıştır. Güçlü ER, PR ekspresyonu olan hastalar daha iyi prognoza sahiptir (20).

HER2 aşırı ekspresyonu kötü prognozla ilişkilidir. Her 2 immünohistokimyasal değerlendirmesinin şu şekilde yapılması önerilmektedir. Eğer hücrelerin %10'undan az bir oranda boyanma varsa ya da membranöz boyanma izlenmiyorsa skor 0, hücrelerin %10'undan fazla oranında membranöz boyanma mevcutsa ancak boyanma hücreyi tamamıyla sarmalamıyorsa skor 1 olarak sınıflanır. Tümör hücrelerinin %10'nundan fazlasında membranöz boyanma izlenecek ancak boyanma şiddeti zayıf bir şekilde izlenmesi durumunda skor 2 olarak sınıflandırılırken, tümör hücrelerinin %10'undan fazlasında membranı tamamıyla saran ve güçlü boyanma izlenen durumda skor 3 olarak kabul edilir (21).

Ki 67 proliferasyon indeksi prognozu öngörmede, tedaviye yanıtı ve moleküler alt tipleri ayırt etmede kullanılmaktadır. Cut-off değerine ilişkin belirgin bir konsensus sağlanmamıştır. Ancak luminal B tip ($Ki\ 67 > \%14$) Luminal A tipe ($Ki67 < \%14$) göre daha agresif seyretmektedir (22).

Tümör infiltrate eden lenfositler de prognostik belirteçlerden biri olup 2019 WHO sınıflamasında ele alınmıştır (23). Yüksek TİL oranının iyi prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (24).

2.1.7. Evreleme

Meme karsinom evrelenmesinde American Joint Committee on Cancer (AJCC) tarafından tanımlanan TNM evreleme sistemi kullanılır.

Tablo 4. Meme karsinomların patolojik tümör (pT) evresi (AJCC 8. edisyon).

Tx	Primer tümör değerlendirilemedi.
T0	Primer tümör kanıtı yok
Tis	İn-situ karsinom
Tis (DCIS)	İn-situ duktal karsinom
Tis (LCIS)	İn-situ lobüler karsinom
Tis (Paget)	İn-situ/ invaziv karsinom olmaksızın Paget hastalığı
T1	Tümör uzun çapı 2 cm veya daha azdır
Tmi	0,1 cm veya daha küçük çapta mikroinvazyon
T1a	Tümörün uzun çapı >1mm ≤5mm
T1b	Tümörün uzun çapı >5 mm, ≤10 mm
T1c	Tümörün uzun çapı >10 mm, ≤20 mm
T2	Tümörün uzun çapı >20 mm, ≤50 mm
T3	Tümörün uzun çapı >50 mm
T4	Göğüs duvarı ve/veya deriye doğrudan uzanan her boyutta tümör (ülserasyon veya cilt nodülü)
T4a	Göğüs duvarına uzanım (pektoral kasa invazyon yok)
T4b	Ülserasyon, ipsilateral satellit cilt nodülleri veya dermal ödem
T4c	T4a ve T4b kombine
T4d	İnflamatuvar karsinom

Tablo 5. Meme karsinomların patolojik lenf nodu (pN) evresi (AJCC 8. edisyon).

NX	Bölgesel lenf nodu saptanmadı.
N0	Bölgesel lenf noduna metastaz yok
N1mi	Mikrometastaz
N1a	1-3 metastatik aksiller lenf nodu (en az bir lenf nodunda >2mm)
N1b	Klinik olarak saptanamayan internal mammarian lenf nodları
N1c	N1a + N1b
N2a	4-9 metastatik aksiller lenf nodu (en az bir lenf nodunda >2mm)
N2b	Aksiller lenf nodu metastazı yokluğunda klinik olarak tespit edilen ipsilateral internal mammarian lenf nodlarında metastaz.
N3a	10 veya daha fazla ipsilateral aksiller lenf noduna metastaz veya infraklavikular lenf nodları/level 3 lenf nodlarına metastaz
N3b	N2b + N1a/N2a veya N2a + N1b
N3c	İpsilateral supraklavikular lenf nodlarına metastaz.

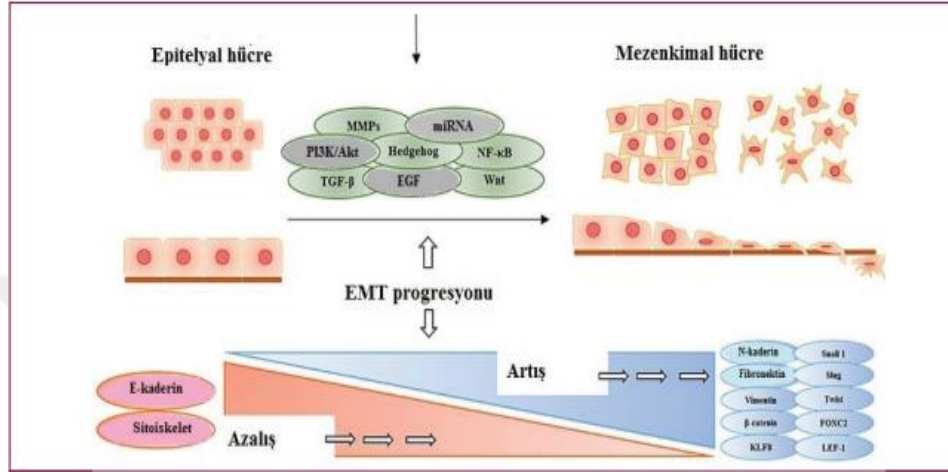
Tüm makrometastazları (metastaz >2 mm) belirlemek için lenf nodu 2 mm’lik dilimler halinde değerlendirilmelidir. Bir lenf nodunda 0,2 mm (veya 200 hücre) metastatik odaklar mikrometastaz olarak bilinir ve lenf nodu pozitif olarak tanımlanır (pN1mi). Sadece izole tümör hücrelerine sahip vakalar (25).

2.1.8. Tedavi

Meme karsinomu tedavisinde tedavinin nasıl olacağına tümörün histolojik tipi hastalığın yaygınlığına göre karar verilir. Tedavi seçenekleri arasında kemoterapi, cerrahi, hedefe yönelik tedavi yer almaktadır. İnvaziv meme karsinomu tanıılı hastalar için ilk seçilecek tedavi meme koruyucu cerrahi ve radyoterapidir (26). Neoadjuvan tedavi ise tümör boyutu büyük olan hastalarda tercih edilir tümör boyutu kemoterapi, hormonoterapi ile küçültüldükten sonra cerrahi tedavi uygulanır (27).

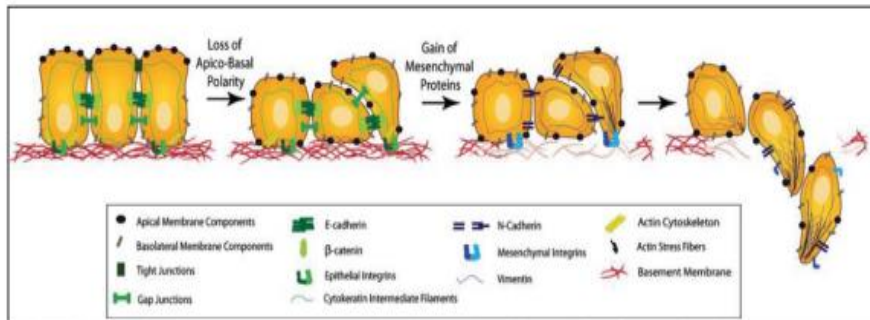
2.2. Epitelyal Mezenşimal Dönüşüm

Epitel hücrelerinin mezenşimal fenotip kazanmasına epitelyal mezenşimal dönüşüm denmektedir (28). Epitelyal mezenşimal dönüşüm tümör hücrelerinde, kötü prognoz, invazyon ve metastaz potansiyeli ile yakından ilişkili bulunmuştur (29).



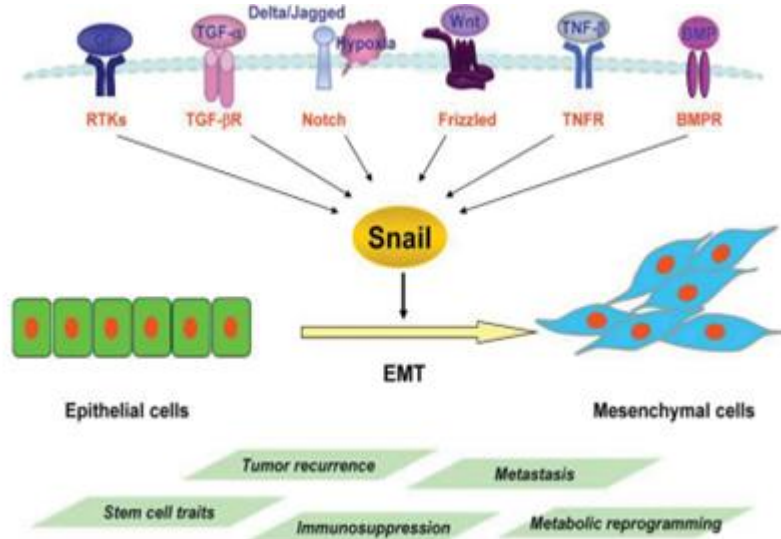
Şekil 2. Epitel hücrelerin mezenkimal hücrelere dönüşümü (30).

Epitelyal mezenşimal dönüşüm kompleks moleküler bir süreçten oluşmaktadır. Bu dönüşüm, intraselüler ve ekstraselüler sinyallerden oluşan kompleks yapının koordinasyonu ile olmaktadır. En son noktada bazal membran yapısının bozulup epitel hücre özelliklerinin kaybı ile sonlanır (31). Mezenkimal hücre özelliklerinin kazanılmasında hücreleri birbirine bağlayan E-kadherin desmoplakin gibi proteinlerin epitelyal iskeletin kaybı ve bazı mezenkimal proteinlerin vimentin gibi kazancıyla gerçekleşir. Mezenkimal özelliklerin kazanılmasıyla birlikte invazyon kapasiteleri artar ve apoptozise uğrama özellikleri azalır (32).



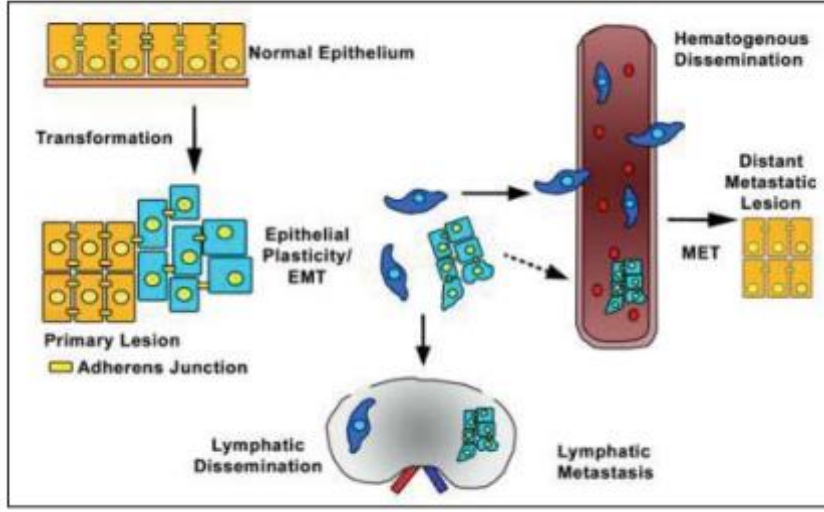
Şekil 3. EMT’de bazal membranın bozulması (33).

Mezenkimal dönüşümün başlayabilmesi için tümör içerisindeki snail, twist gibi proteinlerin dönüşümü indüklemeleri gerekir bunun yanı sıra e-cadherin proteini üretimini de durdururlar (34,35). Snail proteininin de aktiflenmesi gerekir bu uyarımı hipoksi, TGF-B sağlar (36).



Şekil 4. EMT indükleyici faktörler (37).

Epitelyal mezenşimal dönüşüm tümör hücrelerinin bazal membranı geçmesine ve çevredeki dokulara invaze olmasına imkan sağlar. Bu durum lenf nodu metastazına neden olarak tümörün evresini etkiler (37).



Şekil 5. Epitelyal mezenkimal dönüşüm ve metastaz (37).

Meme kanserinin prognozu tümörün metastatik potansiyeli ile ilişkilidir (38). Tümör hücrelerine invazyon yeteneğini kazandırarak metastazı sağlayan tümör hücrelerinin mezenkimal özellikleri kazanmasıdır (39).

2.2.1. Meme Kanseri Kök Hücresi

Kanser kök hücrelerinin kökeninin normal kök hücreler olduğunu savunan çalışmalar mevcuttur (40). Bu durumu destekleyen en önemli bulgu iki hücre tipinde de CD44 pozitifliği (41).

Hücrelerin mezenkimal özellik kazanılması aynı zamanda kanser kök hücrelerin gelişimini sağladığına yönelik çalışmalar mevcuttur. Normal meme ve meme karsinom dokusundaki hücreler, EMT ilişkili genleri eksprese etmektedir (42).

Mezenkimal dönüşümü başlatmak için gerekli olan sinyaller ve büyüme faktörleri meme kanser kök hücrelerinde bulunmaktadır. Bu yollardan en önemlisi MAPK yolağıdır (43). Tümör hücrelerindeki bazal E-kadherin ekspresyonunu c-myc azaltır (44). Tümör hücrelerinin lenfatik migrasyonunu Transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) sinyal yolağı artırmaktadır (45).

Wnt sinyal yolağı hem meme kök hücresine hem de tümör kök hücresine etki ederek mezenkimal dönüşümü gerçekleştirmektedir. Bu mekanizmayı sağlayan otokrin sinyal yeteneğidir (46). Mezenkimal dönüşüme etki ederek tümör hücrelerinin invazyon yeteneğini düzenleyen bir yolak Notch yolağıdır (47). Mezenkimal dönüşümün sürekliliğini sağlayan NF- κ B yolağıdır (48).

Mezenkimal dönüşümün temelini e-cadherin kaybı oluşturmaktadır. Bu durumu sağlayan faktör hipoksiyle indüklenen faktördür. HIF bir yandan e-cadherini baskılarken bir yandan da vimentin üretimini artırır ve aynı zamanda EMT'yi uyaran twist, snail, ZEB-1 proteinlerinin üretimini de uyarır (49).

2.2.2. Meme Tümör Mikroçevresi

Mikroçevre tümör kök hücrelerinin kanser oluşturma kapasitelerini etkilemektedir (50). Tümör oluşturma kapasiteleri için mutlaka bir mikroçevreye ihtiyaçları vardır (51).

Meme kanserinin mikroçevresi, primer tümörler ve tümörün metastaz yaptıkları bölgede mevcuttur. Metastatik bölgedeki kök hücrelerin uyarılması mikroçevreden gelen uyarılara bağlıdır (52).

Tümör mikroçevresi immün ilişkili ve immün ilişkisiz hücrelerden oluşmaktadır. Mikroçevreyi oluşturan hücreler ekstraselüler matriks, fibroblastlar, meme kök hücreleri tümör hücreleridir (53).

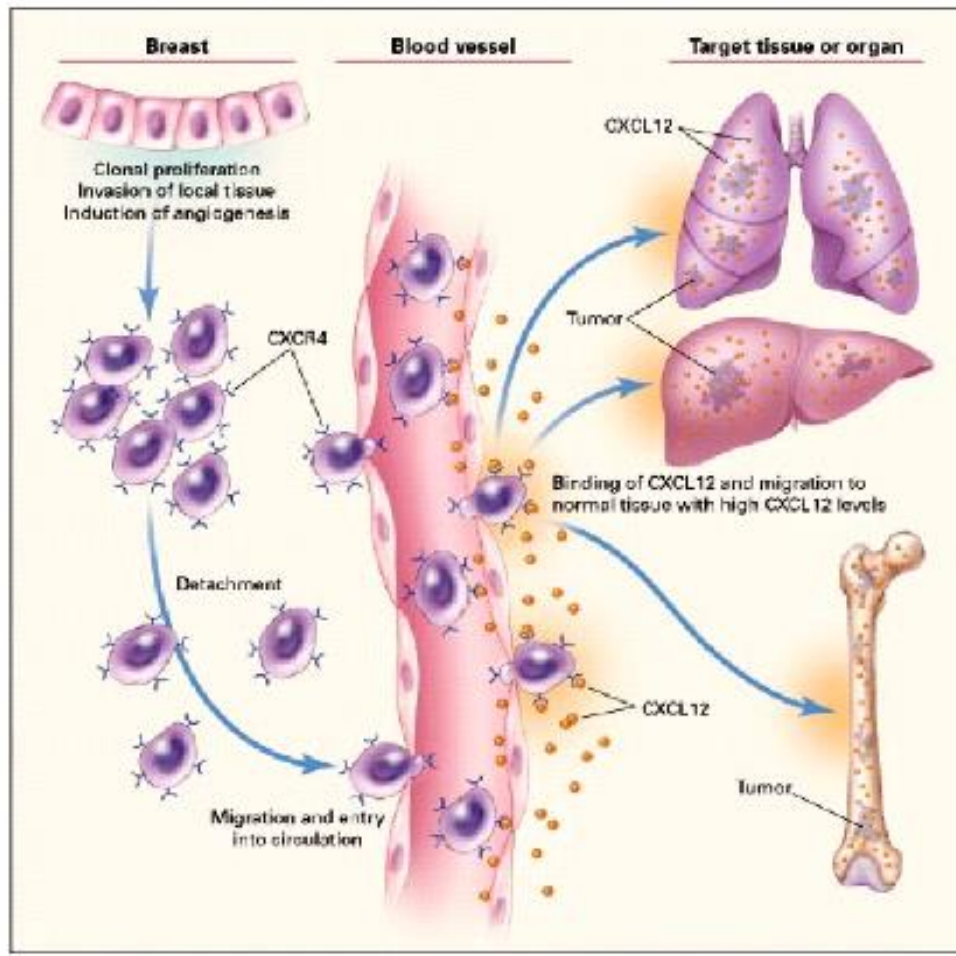
2.2.3. Tümör Mikroçevresini Oluşturan Hücreler

Meme kanseri kök hücresi mikroçevresindeki mezenkimal kök hücreler stromal dokudan köken alır. Mezenkimal kök hücreler, metastatik özelliklerini çevreden gelen sinyaller aracılığıyla artırır (54-56). Mezenkimal kök hücreler, kanser hücrelerinin hareket, invazyon ve metastaz yeteneğini arttıran Kemokin (C-X-C motif) sinyal moleküllerini sentezler (57). Mezenkimal kök hücreler, fibroblastlara dönüşebilir (58,59). Tümör mikroçevresindeki hücreler CXCR4'e bağlanarak invazyon

kapasitelerini artırmalarını sağlayan CXCL 12'yi üretirler (60). Mikroçevrede bulunan fibroblastlar kolon kanserinin gelişiminde yol alan Wnt yolağını etkiler. Bu yolla kök hücreleri uyarır (61). Karsinogenezde en önemli bulgulardan biri yeni damar oluşumudur. Yeni damar oluşumunu mikroçevredeki endotel hücreleri sağlamaktadır (62,63).

2.2.4. Meme Kanseri Kök Hücresinin Mikroçevresinden Kaynaklanan Sinyaller

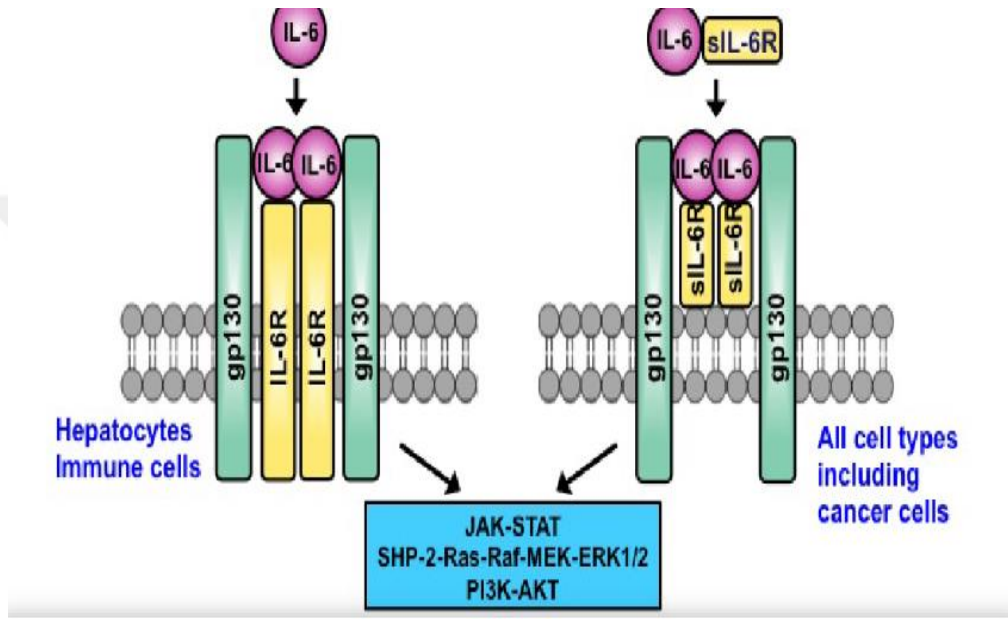
Tümör kök hücresi ve mikroçevre birbirini sinyaller aracılığıyla sürekli uyarmaktadır (64). Meme mikroçevresinde hücreler arası etkileşimi sağlayan hyalüronik asit sinyaller oluşturur (65). Metastatik alanlarda adezyon çok önemlidir. Adezyon moleküllerini de hyalüronik asit uyardığı için bu bölgelerde hyalüronik asitin arttığı kanıtlanmıştır. Metastatik potansiyeli sağlayan diğer önemli bir özellik kök hücre belirteci CD44'tür. Bu nedenle metastazı düzenleyen 2 önemli faktör HA ve CD44'tür (66,67). Bu 2 proteinin birlikteliği HER-2 yolağı için de önemlidir. HER-2 uyarımını artırır (68). Hyalüronik asit ile CD44 etkileşimi sonucu tümör hücrelerinde ilaç direnç gelişimi mekanizması oluşur (69). İntegrin- $\alpha 6$ ligandları proliferasyonu sağlar aynı zamanda apoptozu engelleyerek tedaviye direnç oluşturur (70). Bu protein kötü prognoz ve metastazla ilişkili bulunmuştur (71). Mikroçevredeki hücreler kemokin üretirler. Bu kemokinlerden en önemlisi CXCR4 ve reseptörü CXCL12'dir (72). CXCL12-CXCR4 birlikteliği invazyondan sorumlu olup tümör hücrelerinin metastatik kapasitelerini artırır (3).



Şekil 6. CXCR4- CXCL12 kompleksi (3).

Meme kanseri hastalarında, CXCR4 pozitif hücre sayısının fazla olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle lenf nodu metastazı ve uzak organ metastazı olan vakalarda CXCR4 seviyesi çok yüksektir (73). CCL5 [Kemokin (C-C motifi) ligand 5], tümör kök hücrelerinde bulunan fibroblastlar tarafından salgılanmaktadır (74). CCL5'in etki gösterebilmesi için CCR3 ve CCR5'e ihtiyacı vardır (75). Meme tümörünün yalnızca HER-2 eksprese eden moleküler tipinde, CCL5 ve CCR5'in ekspresyonunun arttığı görülmüştür. ER negatif hastalarda CCL5 seviyeleri çok yüksektir. CCL5 ekspresyonunun, invazyon ve metastaz yeteneğiyle ilgili olduğunu akciğer metastazı olan osteosarkom vakalarında artmış seviyesinin gözlenmesinden anlayabiliriz. HIV tedavisinde kullanılan ilaçlar CCR5 antagonisti olup invaze olma yeteneğini engellemektedir. Bu ilaçlar meme kanserinde de kullanılarak metastaz yetenekleri engellenebilir (76). IL-6 da meme kanseri kök hücrelerinin rejenerasyonunu

sağlayan sitokinler arasında yer alır (77). IL-6, Oct-4'ün salgılanmasını artırır. IL-6, JAK yolağı üzerinden normal kök hücrelerinin tümör kök hücresine dönüşümünü sağlar (78). Bu durumun yanısıra IL-6 mezenkimal dönüşüme de etki eder (79). HER2 ekspresyonu yüksek olan tümörlerde IL-6 seviyesinin de yüksek olduğu bulunmuştur. HER2 ve IL-6 seviyelerinin yüksekliği tümörün kötü gidişatı ile yakından ilişkilidir (80).



Şekil 7. IL-6 JAK-STAT yolağı (81).

2.2.5. Tümör Mikroçevresinde C-X-C Kemokin Reseptör Tip 4

CXCR4 kemokini, mikroçevrede yer alan birçok hücreden normal durumda da salgılanmaktadır. CXCR4 birçok organda normal dokuda eksprese olmasına rağmen normal meme glandlarında ekspresyonu düşüktür ya da yoktur (82).

CXCR4 sadece meme tümöründe değil akciğer, melanom, kolon gibi birçok kanserde de eksprese edildiği gözlemlenmiştir ve tümör büyümesine, anjiyojenez, metastaz ve tedavi direnci sağladığı gösterilmiştir (83).

Kök hücre içerisinde bulunan fibroblastlar CXCR4'e bağlanarak CXCL12 üretimini artırır ve CXCR4-CXCL12 kompleksini oluşturur (60).

CXCL12, CXCR4 varlığında etki gösterebilmektedir (72). CXCL12/CXCR4 sinyali meme kanserinde hem doğal hem de adaptif bağışıklığı etkiler ve Treg alımı yoluyla immünosupresyonu destekler. CXCL12/CXCR4 sinyali eme kanseri hücre hareketliliğini indükler ve her tür meme kanseri metastazında rol oynar (84). CXCR4 seviyesi meme karsinomu moleküler alt tiplerinde farklı seviyelerde gözlemlenmiştir. Bazal benzeri moleküler alt tipte CXCR4 ekspresyonun diğer tiplere oranla fazla olduğu gösterilmiştir. CXCR4 pozitif hücre oranı ile lenf nodu metastazı varlığı, ileri evre ve HER2 pozitifliği arasında ilişki bulunmuştur (85).

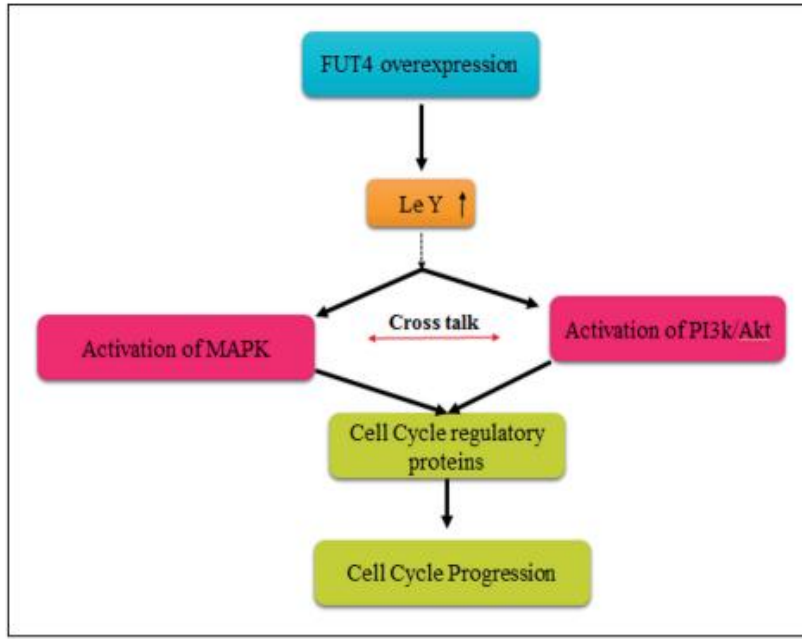
2.2.6. Tümör Mikroçevresinde Fukoziltransferaz IV (FUT4)

Glikozilasyon, mikro çevreye özgü post-translasyonel modifikasyondur. Glikan yapılarındaki post-translasyonel modifikasyonun mezenkimal özelliklerin kazanılması ile yakından ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. Glikanlar üzerinde gerçekleşen değişiklikler tümör hücrelerinin immün sistemden kaçmalarını sağlayarak karsinogeneizde anahtar rol oynamaktadır. Bu nedenle kanser tedavisinde glikanlar çok önemli bir yer tutmaktadır (86).

Oligosakkaritlerde çeşitli modifikasyonlar gözlemlenebilir. Bunlardan en önemlisi de fukosilasyon adı verilen fukoz un şekere bağlanması durumudur .Bu transporterı sağlayan FUT proteinidir (87).

Meme, over, pankreas, kolon ve küçük hücre dışı akciğer karsinomu başta olmak üzere birçok karsinomda fut proteinin overekspresyonu gözlenmektedir (88).

Yapılan çalışmalarda FUT4'ün Mitogen-activated protein kinases (MAPK) ve PI3K/Akt yolağı üzerinden meme epiteli hücrelerini EMT için sensitize ettiği kanıtlanmıştır. FUT4'ün EMT üzerinden tümör metastazı üzerinde önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (89).



Şekil 8. FUT4 MAPK yolağı (89).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Çalışmamız, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 11/03/2021 tarih 26 sayılı kurul kararı ile onaylandı (Ek-1).

3.2. Olgu Seçimi

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde yer alan 2010-2020 yılları arasında invaziv duktal karsinom tanısı almış 30 olgu ve redüksiyon mammoplasti ameliyatı olmuş 20 kontrol olgusu çalışmaya dahil edilmiştir. Tümör içeren parafin bloklarına ulaşılamayan 1 papiller karsinom 1 lobüler karsinom tanılı olgu çalışma dışı bırakılmıştır.

Hastalar ile ilgili klinik bilgiler (yaş, cinsiyet) Hastane Bilgi Yönetim Sistemi (HBYS)’nden, histolojik derece lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon patolojik evre, ER durumu, PR durumu, HER2 durumu gibi bilgiler ise hastalara ait patoloji raporlarından temin edildi. Raporlarda bulunan grade, invazyon derecesi, lenf nodu metastazı gibi bilgiler histopatolojik olarak doğrulandı.

3.3. Hematoksilen&Eozin Boyalı Kesitlerin Değerlendirilmesi

Çalışmamızdaki biyopsilere ait kesitler tekrardan değerlendirilerek WHO 2019 yılına göre yeniden değerlendirildi. Tümör alanını en iyi değerlendirebileceğimiz bloklar ve kontrol grubu için redüksiyon mammoplasti materyaline ait kesitler kullanılmıştır. Seçilen %10'luk formalin solüsyonunda fiks edilmiş parafin immünohistokimyasal çalışma için polilizin kaplı lamlara 3-4 mikron kalınlığında

kesitler hazırlanmıştır. Bu kesitlere aşağıda tariflenen şekilde immünohistokimyasal olarak FUT4 ve CXCR4 antikorları uygulanmıştır. İmmünohistokimyasal bulgular, klinik, histopatolojik ve prognostik parametreler ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

3.4. İmmünohistokimyasal Yöntem

Histopatolojik değerlendirilmesi yapılarak çalışmaya alınan tümör ve kontrol grubu olguları Olympus BX50 marka ışık mikroskopunda incelenerek belirlendi. İmmünohistokimyasal boyama işlemi parafin bloklardan 3-4 mikron kalınlıkta rotary mikrotom cihazında kesitler alındı. Hazırlanan kesitler, streptavidin biotin-peroksidaz ve mikrodalga antigen retrieval kombinasyon metodu ile, SSEA-1 / CD15 (FUT4) (1:100 dilution, NOVUS-NBP2-49878-0.1MG), CXCR4 (NOVUS - NBP1-77067SS-0.025MGx2) antikorları kullanılarak boyandı. İmmünohistokimyasal olarak boyanan lamalar, ışık mikroskopunda (Olympus BX50) iki araştırmacı tarafından aynı anda kör olarak incelendi.

İmmünohistokimyasal boyama aşamaları:

1. 24 saat önceden 3 mikron kalınlığında hazırlanan kesitler etüvde 70 santigrad derecede deparafinizasyon işlemine tabi tutuldu.
2. Hazırlanan kesitler sıcak soğuk ksilende ve alkolde 5'er dakika bekletildi.
3. %3'lük hidrojen peroksitte yarım saat 25 derecede bekletildi.
4. Distile su içerisinde 5'er dakikadan 3 sefer yıkandı.
5. %10'luk sitrat buffer solüsyonuna yerleştirildi. Daha sonra mikrodalga fırında beş dakika ısıtıldı.
6. Kesitler üç kez distile suda beşer dakika yıkandı. Daha önceden hazırlanmış olan fosfat buffered solüsyonunda (PBS 0,01 Ph 7,2) üç defa beşer dakika süre ile yıkandı.
7. Nonspesifik antikor bağlanmasını engellemek amacıyla Large Volume Ultra V Block (LabVision) solüsyonu damlatıldı ve 10 dakika bekletildi.
8. Kesitler PBS solüsyonunda 3'er kez 5'er dakikadan yıkandı

9. Kesitler buharlı kabine dizilerek üzerlerini tamamen kapatacak şekilde primer antikorlar SSEA-1/CD15 (FUT4) (1:100 dilution, NOVUS-NBP2-49878-0.1MG), CXCR4 (NOVUS-NBP1-77067SS-0.025MGx2) antikorları damlatıldı. Oda sıcaklığında nemli ortamda 90 dakika bekletildi.
10. Kesitlerin üzerindeki fazla solüsyon dökülerek, PBS solüsyonunda üç defa beşer dakika şalede yıkandı. Dokuları çevresindeki fazla solüsyon silinerek uzaklaştırıldı.
11. Kesitler buharlı kabine dizilerek üzerlerini tamamen kapatacak şekilde sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-Polyvalent/LabVision) damlatıldı ve 20 dakika bekletildi.
12. Kesitlerin üzerindeki fazla solüsyon dökülerek, PBS solüsyonunda üç defa beşer dakika yıkandı. Dokuların çevresindeki fazla solüsyon silinerek uzaklaştırıldı.
13. Kesitler buharlı kabine dizilerek üzerlerini tamamen kapatacak şekilde Streptavidin peroksidaz solüsyonu damlatıldı ve 30 dakika bekletildi.
14. PBS sıvısı içerisinde 3'er kez 5'er dakika tutuldu.
15. Kesitlere tarife göre hazırlanan AEC substrat içinde AEC kromojen (3- amino-9-ethyl karbazol) (AEC Substrat Sistem, LabVision TA-125-HA) bol miktarda damlatıldı ve 10 dakika bekletildi.
16. Kesitler PBS solüsyonunda, ardından da distile suda yıkandı.
17. Mayer Hematoksilen ile 30-60 saniye süreyle zemin boyanması yapıldı.
18. Son olarak su ile yıkandı.
19. Oda sıcaklığında kurumaya bırakılan kesitler özel kapama maddesiyle (Large volume ultra-mount/LabVision) ile kapatılarak mikroskopik incelemeye hazır hale getirildi.

3.5. RNA İzolasyonu

RNA izolasyonu için ticari olarak satın alınmış spin kolon yöntemi ile çalışan kit kullanılmıştır (Qiagen). Bunun için üreticinin aşağıdaki protokolü izlenmiştir.

1. 30 mg'a kadar doku içerisine 600 µl Buffer RLT eklendi. Homojenizatör cihazına koyularak dokular iyice parçalanmıştır.

2. Lizat 3 dk en yüksek hızda santrifüj edildi. Süpernatant yeni bir tüpe aktarıldı.
3. Lizat ile aynı miktarda %70 etanol üzerine eklendi ve pipetaj yapıldı.
4. 700 µl örnek spin kolona aktarıldı. 15 sn $\geq 8000 \times g$ ($\geq 10,000$ rpm)'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası alttaki sıvı boşaltıldı.
5. Örnek miktarı 700 µl'den fazla olduğunda bu basamak tekrar edildi.
6. Spin kolona 700 µl Buffer RW1 eklenir ve 15 sn $\geq 8000 \times g$ ($\geq 10,000$ rpm)'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası alttaki sıvı boşaltıldı.
7. Spin kolona 500 µl Buffer RPE eklendi ve 15 sn $\geq 8000 \times g$ ($\geq 10,000$ rpm)'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası alttaki sıvı boşaltıldı.
8. Spin kolona 500 µl Buffer RPE eklendi ve 2 dk $\geq 8000 \times g$ ($\geq 10,000$ rpm)'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası alttaki sıvı boşaltıldı.
9. Olası RPE kalıntısını engellemek için spin kolon yeni bir toplama tüpüne alındı, 1 dk en yüksek hızda santrifüj edildi.
10. Spin kolon 1,5 ml toplama tüpüne alındı. Spin kolon membranı üzerine 30–50 µl RNase-free su eklendi. 1 dk $\geq 8000 \times g$ ($\geq 10,000$ rpm)'de santrifüj edildi.
11. Santrifüj sonrasında spin kolon atıldı ve RNA ileri aşamalarda kullanılmak üzere saklandı.

3.6. cDNA Sentezi

RNA'ların ileri aşamalarda kullanılabilmesi için daha stabil form olan cDNA'ya çevrilmesi gerekmektedir. Bunun için için ticari olarak satın alınmış "Reverse Transcription Kit" kullanılmıştır (Qiagen). Bunun için üreticinin aşağıdaki protokolü izlenmiştir.

1. RNA buz üzerinde çözdürüldü. Sonrasında RNA konsantrasyonları spektrofotometrik olarak ölçüldü.
2. Genomik DNA eliminasyonu için aşağıdaki tabloya göre miks hazırlandı

Tablo 6. DNA eliminasyon hazırlık şeması.

Bileşen	Hacim (µl)/Reaksiyon
gDNA Wipeout Buffer, 7x	2 µl
Template RNA	*1 µg'a kadar
RNase-free water	Değişken
Toplam Hacim	14 µl

*RNA konsantrasyonlarına göre 10 pg-1µg'a kadar RNA örneği kullanılmıştır.

3. Tüpler 42°C'de 2 dk inkübe edildi. Sonrasında tüpler buz üstüne alındı.
4. Sonrasında Reverse Transcription işlemi için aşağıdaki miks hazırlandı.

Tablo 7. RNA ekstre şeması.

Bileşen	Hacim (µl)/Reaksiyon
Quantiscript Reverse Transcriptase	1 µl
Quantiscript RT Buffer, 5x	4 µl
RT Primer Mix	1 µl
Template RNA (önceki basamaktan gelen)	14 µl
Toplam Hacim	20 µl

5. Tüpler 42°C'de 15 dk, 95°C'de 2 dk inkübasyon ile örneklerin cDNA çevrimi tamamlandı. Örnekler ileri aşamalarda kullanılmak üzere saklandı.

3.7. Real Time PCR Reaksiyonları

İlgili genlerin ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi için Real Time PCR Reaksiyonları yapıldı. Bunun için ticari olarak satın alınmış Primer Assay'ler ve SYBR Green Real Time PCR Master Miks kullanıldı (Qiagen). FUT4 geninin ekspresyonu bellirlendi. GAPDH geni ise Housekeeping gen olarak kullanıldı. Bunun için üreticinin aşağıdaki protokolü izlendi.

1. cDNA örnekleri üzerine 90 µl Dnase-free water eklendi.
2. Her bir gen için ayrı ayrı aşağıdaki tabloya göre reaksiyonlar hazırlandı.

Tablo 8. Gen hacim tablosu.

Bileşen	Hacim (µl)/Reaksiyon
2x QuantiTect SYBR Green PCR Master Mix	12.5 µl
10x QuantiTect Primer Assay	2.5 µl
Template cDNA	5 µl
RNase-free water	5 µl
Toplam Hacim	25 µl

3. Tüpler Real Time PCR cihazına koyularak aşağıdaki protokole göre reaksiyonlar gerçekleştirildi.

Tablo 9. PCR protokolü.

Basamak	Süre	Sıcaklık
Ön aktivasyon	5 dk	95°C
Denaturasyon*	5 sn	95°C
Annealing/Extension*	10 sn	95°C
*35-40 döngü		
Toplam Hacim		25 µl

4. Daha sonrasında GAPDH genine göre örnekler normalize edildi ve istatistiksel olarak gen ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldı.

3.8. İmmünreaktivitenin Değerlendirilmesi

3.8.1. CXCR4 Antikoru ile Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi

CXCR4 antikoru ile invaziv ve in situ tümör alanındaki ve normal meme dokusundaki hücrelerin boyanma yoğunluğu ve tümör hücrelerinin boyanma yüzdesi araştırıldı. Nükleer membranöz ve sitoplazmik boyanma yoğunluğuna göre hücreler 4 skor altında değerlendirildi.

- 0- boyanma yok
- 1- hafif boyanma,
- 2-orta boyanma,
- 3- kuvvetli boyanma

Pozitif tümör hücresinin yüzdesi ise aşağıdaki gibi kategorize edildi:

- Skor 0: $\leq 1\%$
- Skor 1: $1\%-25\%$
- Skor 2: $25\%-50\%$
- Skor 3: $50\%-75\%$
- Skor 4: $>75\%$

Sonucu belirlemek için yoğunluk ve yüzde puanlarının çarpımı (boyama indeksi) kullanıldı. >6 boyama indeksi yüksek ekspresyon, <6 ise düşük ekspresyon olarak tanımlandı.

3.8.2. FUT4 Antikoru ile Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi

FUT4 antikoru ile invaziv ve in situ tümör alanındaki ve normal meme dokusundaki hücrelerin boyanma yoğunluğu ve tümör hücrelerinin boyanma yüzdesi araştırıldı. Membranöz ve sitoplazmik boyanma yoğunluğuna göre hücreler 3 skor altında değerlendirildi:

- Skor 1: <%10 soluk kesintili ya da hiç membranöz boyanmanın izlenmemesi
- Skor 2: >%10 mebranöz veya sitoplazmik boyanmanın gözlenmesi
- Skor 3: >%10 güçlü sitoplazmik boyanmanın gözlenmesi

3.9. İstatistiksel Analiz

Araştırmada değerlendirilen olguların demografik ve klinik özellikleri betimleyici istatistiksel analizlerle (sayı, yüzde, ortalama, standart sapma, ortanca, minimum-maksimum vb.) incelendi. Hasta ve kontrol grupları arasında CXCR4, FUT4 ve FUT4 gen PCR değerlerinin karşılaştırılması, skor, PT ve N durumuna göre CXCR4, FUT4 ve FUT4 gen PCR ortalamalarının karşılaştırılması Mann Whitney U testi ile yapıldı. Hasta ve kontrol gruplarında FUT 4 gen PCR değerlerinin değişimi Wilcoxon İşaretili Sıralar testi ile incelendi. Hasta ve kontrol grupları arasında FUT4 oranlarının karşılaştırılmasında Ki-Kare Analizi kullanılmıştır. Tüm analizler için anlamlılık seviyesi $p < 0,05$ olarak belirlendi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu basıklık ve çarpıklık değerleriyle ($\pm 1,5$) kontrol edildi. Analizlerin uygulamasında IBM SPSS 22.0 programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Klinikopatolojik Bulgular

Çalışmamızda Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde yer alan 2010-2020 yılları arasında invaziv karsinom tanısı almış 30 hasta ve redüksiyon mammoplasti ameliyatı olmuş 20 kontrol dahil edildi. Araştırmada değerlendirilen vakaların yaş ortalaması $48,23 \pm 8,80$ (Min=32,00-Maks=66,00) yıl olarak saptandı.

Hastaların histopatolojik ve moleküler özellikleri Tablo 10'da yer almaktadır. Hastaların 19'sunun (%63,3) histolojik derecesinin 2, 11'inin (%36,7) histolojik derecesinin 3 olduğu saptandı. Hastalardan 1'inin (%3,3) pT1b, 9'unun (%30) pT1c, 17'sinin (%56,7) pT2, 3'ünün (%10) pT3 pT evresine sahip olduğu saptandı. Hastalardan 15'inin (%50) pN0, 8'inin (%26,6) pN1a, 2'sinin (%6,7) N2a, 5'inin (%16,6) pN3a pN özelliğine sahip olduğu saptandı. Hastalardan 19'unun (%63,3) ER durumunun pozitif olduğu, 16'sının (%53,3) PR durumunun pozitif olduğu, 4'ünün (%13,3) HER2 skor 0, 9'unun (%30) HER2 skor 1, 14'ünün (%46,7) HER2 skor 2, 3'ünün (%10) HER2 skor 3 olduğu saptandı. Hastaların 16'sında (%53,3) lenfovasküler invazyon, 15'inde (%50) lenf nodu metastazı saptandı (Tablo 10).

Tablo 10. Hastaların histopatolojik ve moleküler özellikleri.

Değişkenler		n (%)
Histolojik Derece	2	19 (63,3)
	3	11 (36,7)
pT Evresi	pT1b	1 (3,3)
	pT1c	9 (30,0)
	pT2	17 (56,7)
	pT3	3 (10,0)
pN	pN0	15 (50,0)
	pN1a	8 (26,6)
	pN2a	2 (6,7)
	pN3a	5 (16,6)
ER Durumu	Negatif	11 (36,7)
	Pozitif	19 (63,3)
PR Durumu	Negatif	14 (46,7)
	Pozitif	16 (53,3)
HER2 Durumu	Skor 0	4 (13,3)
	Skor 1	9 (30,0)
	Skor 2	14 (46,7)
	Skor 3	3 (10,0)
Lenfovasküler İnvazyon	İzlendi	16 (53,3)
	İzlenmedi	14 (46,7)
Lenf Nodu Metastazı	Var	15 (50,0)
	Yok	15 (50,0)

n:Sayı

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

CXCR4 boyama yoğunluğu ve yaygınlığı ile oluşturulan boyama indeksi kullanıldı. >6 boyama indeksi yüksek ekspresyon, <6 ise düşük ekspresyon olarak tanımlandı. Bu gruplar ile klinik ve patolojik parametreler karşılaştırıldı.

Hasta grubun CXCR4 medyan değerlerinin, kontrol grubunun CXCR4 medyan değerlerinden istatistiksel açıdan anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptandı ($p<0,001$, Tablo 11).

pT durumuna göre CXCR4 medyan değerlerinin istatistiksel açıdan anlamlı seviyede farklılık göstermediği saptandı ($p=0,588$, Tablo 11).

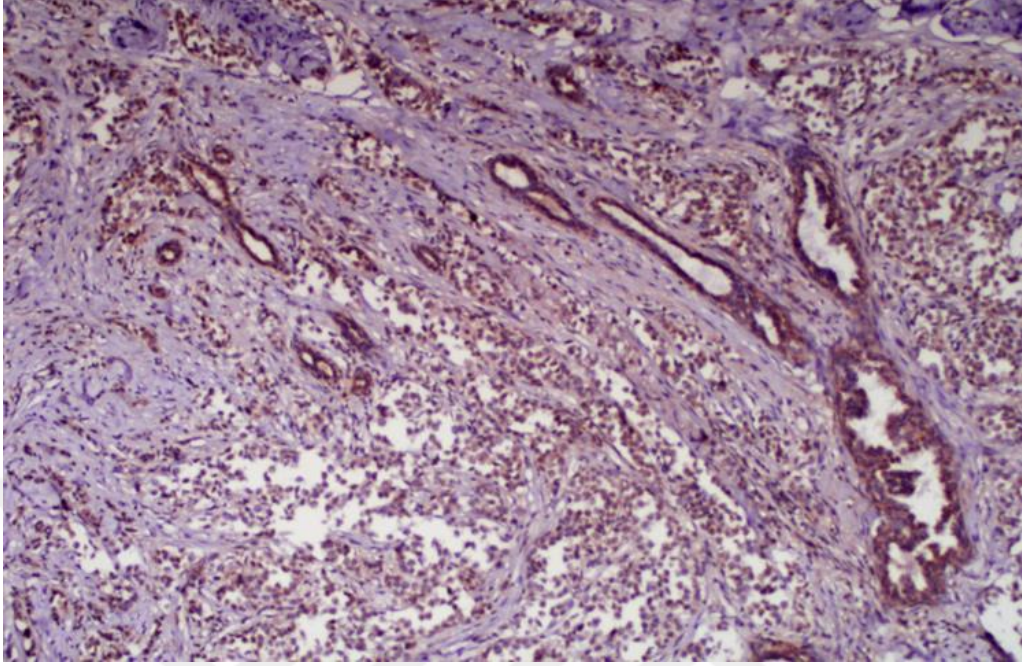
pN0 grubundaki vakaların CXCR4 medyan değerlerinin, pN1a-N3a grubundaki vakaların medyan değerlerinden istatistiksel açıdan anlamlı derecede daha düşük olduğu saptandı ($p<0,001$, Tablo 11).

HER2 skor durumuna göre CXCR4 medyan değerlerinin istatistiksel açıdan anlamlı seviyede farklılık göstermediği saptandı ($p=0,170$, Tablo 11).

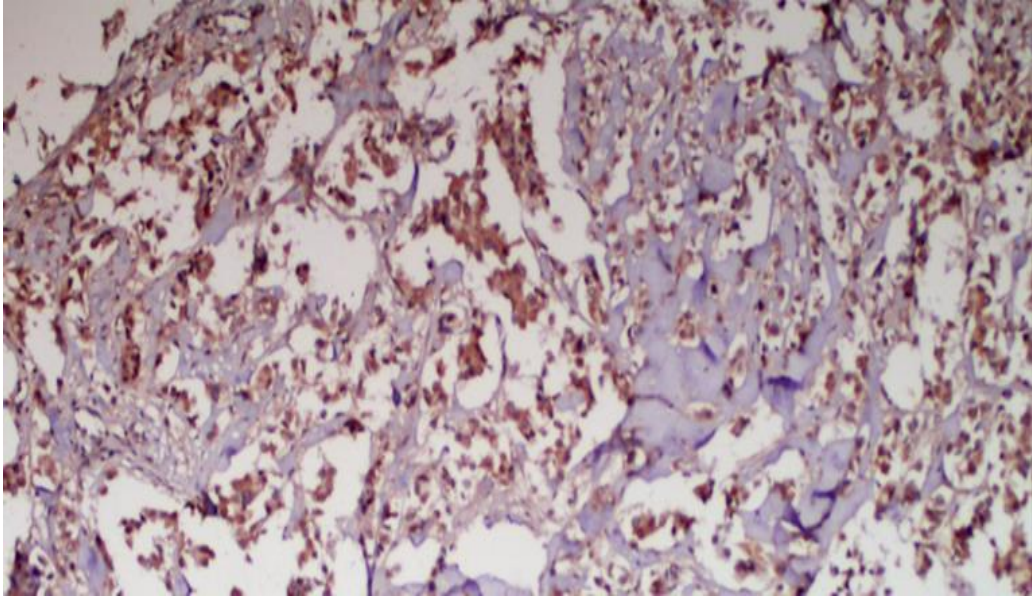
Tablo 11. CXCR4 değerlerinin hasta ve kontrol, pT ve pN durumları ve HER2 skorları arasında karşılaştırılması

Gruplar	CXCR4	p*
	Medyan (IQR: %25-%75)	
Hasta	7,00 (4,00-8,00)	<0,001
Kontrol	2,00 (0,00-2,00)	
pT1b-c	6,00 (4,00-8,00)	0,588
pT2-3	8,00 (5,00-8,00)	
pN0	4,00 (4,00-6,00)	<0,001
pN1a-N3a	8,00 (8,00-12,00)	
Skor 0-1	6,00 (4,00-8,00)	0,170
Skor 2-3	8,00 (6,00-8,00)	

* Mann Whitney U testi



Resim 1. CXCR4 antikoruna ile invaziv tümörde düşük ekspresyon (x200 büyütme).



Resim 2. CXCR4 antikoruna ile invaziv tümörde yüksek ekspresyon (x200 büyütme).

Pearson ki-kare analizine göre, hasta ve kontrol grupları arasında FUT4 skor oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,001$, Tablo 12).

Tablo 12. Hasta ve kontrol grupları arasında FUT4 skorlarının karşılaştırılması.

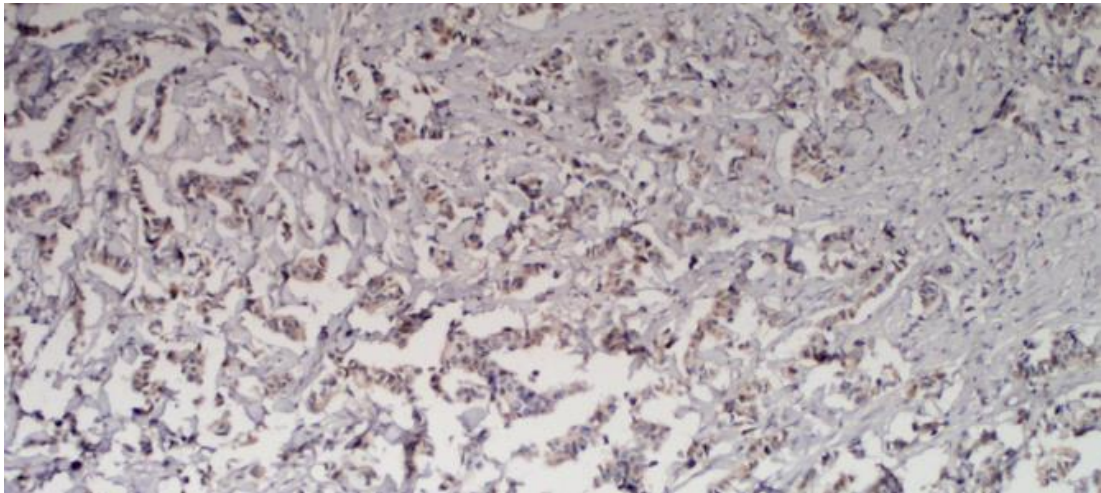
		Hasta (n=30)	Kontrol (n=20)	p*
		n (%)	n (%)	
FUT4	Skor 0	0 (0,0)	19 (95,0)	<0,001
	Skor 1	14 (46,7)	1 (5,0)	
	Skor 2	4 (13,3)	0 (0,0)	
	Skor 3	12 (40,0)	0 (0,0)	

n:Sayı, * Pearson ki-kare testi

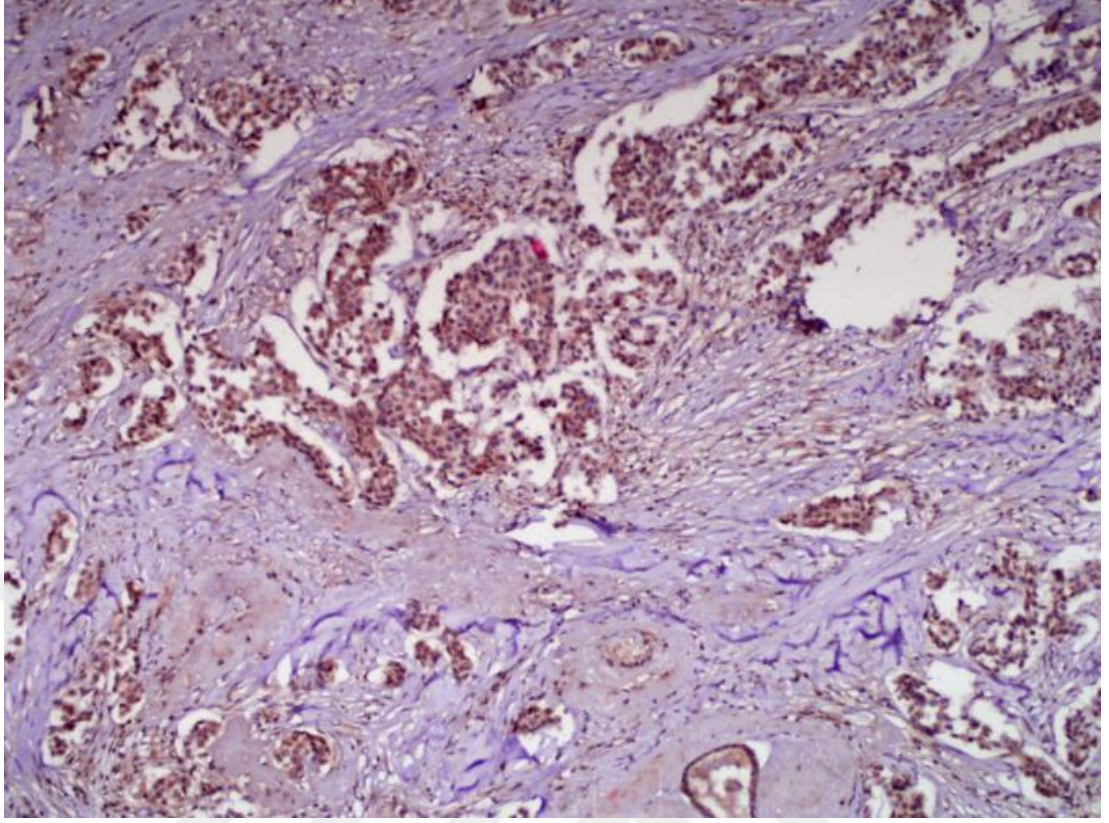
Meme kanseri grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı 2,14 katlık bir FUT4 gen ekspresyon artışı saptandı ($p=0,004$, Tablo 13).

Tablo 13. Hasta ve kontrol grupları arasında FUT4 ve CXCR4 gen ekspresyon oranlarının karşılaştırılması.

Gen	Fold Regulation	P value
FUT4	2,14	0,004
CXCR4	1,00	non



Resim 3. FUT4 antikoruna ile invaziv tümörde skor 1 görüntüsü (x200 büyütme).



Resim 4. FUT4 antikoruna ile invaziv tümörde skor 2 görüntüsü (x200 büyütme).

5. TARTIŞMA

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen malignite olmaya devam etmektedir. Her ne kadar erken aşamadaki meme tümörlerinin %70-80'i tedavi edilebilir olsa da metastazı bulunan lenf nodu tutulumu bulunan hastalar halen tedavi edilemez durumdadır ve ölümlerin %90'ından sorumludur. Hastalığın karmaşık moleküler biyolojisi nedeniyle yönetimi zordur (90). Meme tümörünün kendine özgü mikroçevresini anlamak hastalığın yönetimi ve tedavi seçenekleri açısından çok önemlidir. Mikroçevrede yer alan CXCR4 ve FUT4 proteinleri yeni bir araştırma sahasını oluşturmaktadır.

CXCR4 birçok tümörün karsinogenezisinde anahtar bir role sahiptir. Bu tümörlerden en önemlisi de meme karsinomudur (91). CXCR4 oranı yüksek olan meme kanser tanılı hastaların lenf nodlarında da tümör izlenmiştir. Anja ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hastalıksız meme dokusunda CXCR4 ekspresyonu izlenmezken, invaziv duktal karsinom tanılı hastalarda yüksek ekspresyon mevcuttur. Bizim çalışmamızda CXCR4 ekspresyonunun kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak meme kanserli olgularında arttığı saptanmıştır (92). Bulgularımız literatürle uyumlu olup çalışmamızı diğer çalışmalardan ayıran nokta ise, bizim çalışma grubumuzdaki hastaların tamamı primer meme kanserli hasta grubu oluşturmaktadır. CXCR4 ekspresyonu ile hormon profili arasında belirgin bir ilişki bulunmamıştır. Bununla birlikte CXCR4 pozitif hücre oranının yüksek olduğu vakalar yaşam surveyinin daha kötü olduğu bildirilmiştir (93). Bizim çalışmamızda incelenen 30 invaziv karsinom olgusunda literatüre benzer şekilde ER, PR ve HER2 durumu ile arasında bir anlamlılık saptanmazken lenfovasküler invazyon ve lenf nodu metastazı olan vakalarda CXCR4'ün arttığı gözlenmiştir. Son yapılan çalışmalarda CXCR4 ve CXCL12 aksının meme kanseri prognozu açısından çok önemli iki faktör olduğunu gösterilmiştir (94). CXCL12'nin salgılandığı yer kemik iliğidir. Burda bulunan stromal hücreler CXCL12 üretir. Meme karsinomunun metastazının görüldüğü bölgelerde yüksek seviyede CXCL12 tespit edilmiştir. Meme tümörü hücreleri,

CXCR4 eksprese ederler. CXCR4'te kemotaksis yoluyla CXCL12'ye doğru göç eder. CXCL12 de kemik iliğinde üretildiğinden CXCR4 de buraya doğru gelir (95). CXCL12'ye yanıt olarak oluşan CXCR4, tümörün kemotaktik ve invazyon kapasitesini arttırır (3). CXCR4 ve CXCL12 esas olarak tümörün invaze olma yeteneği üzerinde etki göstermektedirler. Bu durum da metastatik meme kanserleri ile CXCR4 arasındaki bağlantıyı desteklemektedir (96). CXCR4 ile tümör mikroçevresi arasındaki ilişki kök hücrelerde CXCR4 üretimi ve CXCR4 kemokinin de mikroçevre oluşumunu indüklemesi şeklinde açıklanabilir (96). Kanser kök hücrelerinin kök hücreye benzeyen özellikleri mevcuttur (97). CXCR4 ve CXCL12 kanser kök hücrelerinin metastatik yeteneği ve proliferasyonunda görev alan kanser kök hücrelerinin kemotaksisini düzenlemektedir (98). CXCR4, meme kanseri hastalarında metastazı ve prognozu öngörmede önemli bir biomarker olarak kullanılabilir. Bu nedenle CXCR4 antagonistleri tümör mikroçevresini inhibe ederek özellikle metastatik meme karsinomlu vakalarda tedavi için kullanılabilir. Böylece meme kanseri vakasında CXCR4 inhibitörlerinin prognozu iyileştirebileceği söylenebilir (99). Bizim çalışmamızda normal meme dokularıyla karşılaştırıldığında CXCR4 ekspresyonu invaziv karsinomlarda anlamlı şekilde yüksek tespit edilmiştir. Sonuç olarak CXCR4 ekspresyonunun inhibe edilmesi kanser terapisine bir alternatif oluşturabilir (100). CXCR4 aynı zamanda tedaviye direnç mekanizmasında da önemli bir noktadır. Tamoksifen tedavisine direnç gösteren vakalarda CXCR4 hem kanser kök hücrelerinde üretilirken hem kanser kök hücre üretimini indükleyerek çifte etki göstermektedir (96). Kanser kök hücreleri kök hücrelerle aynı orjinden geldiği düşünülmektedir ve hem kendilerini hem de tümör hücrelerini rejenere etme özellikleri vardır (97). CXCR4 pozitif hücreler tümörün tekrarlama riskinden ve hastanın ilaç tedavisine yanıtızlığından sorumludur (98). Bu nedenle meme kanserli hastalarda CXCR4 durumu değerlendirilerek tedavi ve prognoz konusunda bilgi sahibi olunabilir.

AMD3100 CXCR4 antagonisti bir ilaçtır ve yapılan çalışmalarda metastatik meme karsinomlu hastalarda ilaç metastatik bölgeye de primer tümöre de etki göstermiştir. Bu nedenle CXCR4 antagonisti hedefe yönelik tedavinin mikroçevre içerisindeki sinyal yolağına etki ederek primer ve metastatik meme kanserli vakalarında tedavide kullanılabilecektir. Böylece meme kanseri hastalarında CXCR4

inhibitörlerinin yaşam şansı ve seyri konusunda pozitif bir yönde etki göstereceği söylenebilir (101, 102).

Bir başka çalışmada CXCR4'ün, tristetraprolin (TTP/ZFP36) ve HuR (ELAVL1) gibi RNA bağlayan proteinlere bağlanan proteinler içerdiği gösterilmiştir. Invaziv meme kanserinde CXCR4'ün aberan aşırı ekspresyonu mRNA stabilizasyonuna yol açmaktadır (93,98).

Fukosiltransferaz, tümörün metastaz yapabilme yeteneği ve prognozu ile ilişkilidir (103). Miyoshi ve arkadaşları alfa 1,6-fukosiltransferaz'ın hepatik karsinom dokularında normal karaciğer dokusuna göre daha fazla eksprese edildiğini bildirmiştir (104). Petretti ve arkadaşları gastrik karsinom vakalarında normal mide dokusuna göre RT-PCR yöntemi ile artmış FUT4 ekspresyonu bildirmiştir (105).

Kudo arkadaşları ve Martin satue arkadaşları akciğer ve kolon karsinomlarında yüksek FUT4 ekspresyonu bildirmişlerdir [106]. Yan xiomaei ve arkadaşları meme dokusunda hem immünohistokimyasal hem de RT-PCR yöntemi ile normal meme dokusuna göre FUT4 ekspresyonunun arttığını bildirmiştir (5). Bizim tez çalışmamızda da normal meme dokusuna göre RT-PCR yöntemi ile 2,1 kat arttığı saptanmıştır. İmmünohistokimyasal olarak da normal meme dokusuna oranla meme kanseri vakalarında anlamlı farklılık saptanmıştır.

FUT4'ün PI3K/Akt aktivasyonu yoluyla epitelyal mezenkimal geçişte ayrıca NF-κB sinyal yolağında rol oynadığı gösterilmiştir (107). NF-κB sinyal yolağı kanser progresyonunda ve invazyon kapasitesi açısından mezenkimal genlerin kontrolünde önemli bir role sahiptir (108).

Bu konuda literatürde yapılan çalışmaların kısıtlı olması nedeniyle çalışmamızın literatüre yaptığı katkı açısından önemlidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız, FUT4 ün meme kanseri hücrelerinde yeni bir EMT düzenleyicisi ve kanser tedavisi için umut verici bir hedef olma olasılığını desteklemektedir. Sonuç olarak bu bilgiler ışığında, çalışmamızı FUT4 ve CXRCR4'ün meme tümörleri için olası prognostik prediktif etkilerini ortaya koyabilmek ve bu konuda literatüre katkı sağlayabilmek için planladık. Bütüncül bir yaklaşımla, önemli hücre siklus düzenleyicilerinin invaziv meme karsinomlarındaki etkileşimlerini, farklı yollar üzerinden gelişen meme tümörlerindeki farklı ekspresyon durumlarını ve olası prognostik-prediktif etkilerini ortaya koyacak, geniş olgu serilerini içeren her çalışmanın değerli olacağına inanıyoruz.

7. KAYNAKLAR

1. Hacikamiloglu EGM, Boztas G, Utku E, Ergun A, Sevinc A, et al. Türkiye Kanseri İstatistikleri (Cancer Statistics in Turkey). Ankara: TC Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu;2017.
2. Karaczyn AA, Adams TL, Cheng RY, Matluk NN, Verdi JM. Human NUMB6 Induces Epithelial-Mesenchymal Transition and Enhances Breast Cancer Cells Migration and Invasion. *Journal of cellular biochemistry*. 2017;118(2):237-251.
3. Sun X, Cheng G, Hao M, Zheng J, Zhou X, Zhang J, et al. CXCL12/CXCR4/CXCR7 chemokine axis and cancer progression. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2010;29(4):709-722.
4. Mills S. Histology for pathologists. Lippincott Williams & Wilkins;2019.
5. Yan X, Lin Y, Liu S, Yan, Q. Fucosyltransferase IV (FUT4) as an effective biomarker for the diagnosis of breast cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2015;70:299-304.
6. De Silva NK and Henning M. Breast disorders in children and adolescents, in Sanfilippo's Textbook of Pediatric and Adolescent Gynecology Second Edition. 2019;151-164.
7. Hynes NE and Watson CJ. Mammary gland growth factors: roles in normal development and in cancer. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2010;2(8):a003186.
8. Russo F, Van Mieghem T and Deprest J. Fetal medicine, fetal anaesthesia, and fetal surgery. *Oxford Textbook of Obstetric Anaesthesia*. 2016;102.
9. Demir R. Histoloji ve hücre biyolojisi. Palme Yayıncılık, Ankara; 2006.
10. Tot T, Tabar L and Dean P. The pressing need for better histologic-mammographic correlation of the many variations in normal breast anatomy. *Virchows Archiv*. 2000;437(4):338-344.
11. Cardiff RD, Jindal S, Treuting PM, Going JJ, Gusterson B, Thompson HJ. Mammary gland. *Comparative Anatomy and Histology*. 2018;487-509.

12. Rosai J. Special techniques in surgical pathology. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 2004;37-91.
13. Rakhshani N and Daryakar A. Are mammaglobin and GCDFP-15 sensitive markers for diagnosis of metastatic basal-like triple negative breast carcinomas? Turk Patoloji Derg. 2014;30(1):18-22.
14. Jones C, Mackay A, Grigoriadis A, Cossu A, Reis-Filho JS, Fulford L, et al. Expression profiling of purified normal human luminal and myoepithelial breast cells: identification of novel prognostic markers for breast cancer. Cancer research. 2004;64(9):3037-3045.
15. Clarke C, Sandle J and Lakhani SR. Myoepithelial cells: pathology, cell separation and markers of myoepithelial differentiation. Journal of mammary gland biology and neoplasia, 2005;10(3):273-280.
16. Okur F. Meme kanseri risk faktörlerine sahip olma durumu ile mamografi çekirme davranışı arasındaki ilişki: Retrospektif değerlendirme. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2015.
17. Lokuhetty D, White VA, Watanabe R, Cree IA. WHO classification of tumours editorial board. Breast tumours. WHO classification of tumours of the breast, 5th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer (WHO classification of tumours series, 5th ed; 2019.
18. Sarode VR, Han JS, Morris DH, Peng Y, Rao R. A comparative analysis of biomarker expression and molecular subtypes of pure ductal carcinoma in situ and invasive breast carcinoma by image analysis: relationship of the subtypes with histologic grade, Ki67, p53 overexpression, and DNA ploidy. International journal of breast cancer; 2011.
19. Elston E and Ellis I. Method for grading breast cancer. Journal of clinical pathology. 1993;46(2):189.
20. Allison KH, Hammond MEH, Dowsett M, McKernin SE, Carey LA, Fitzgibbons PL, et al. Estrogen and progesterone receptor testing in breast cancer: ASCO/CAP guideline update. Journal of Clinical Oncology. 2020;38(12):1346-1366.
21. Shah S and B Chen. Testing for HER2 in breast cancer: a continuing evolution. Pathology research international; 2011.
22. Nielsen TO, Leung SCY, Rimm DL, Dodson AB, Badve S, Hayes DF. Assessment of Ki67 in breast cancer: updated recommendations from the international Ki67 in breast cancer working group. JNCI: Journal of the National Cancer Institute. 2021; 113(7):808-819.

23. Annaratone L, Cascardi E, Vissio E, Sarotto I, Chmielik E, Sapino A, Marchiò C. The multifaceted nature of tumor microenvironment in breast carcinomas. *Pathobiology*. 2020;87(2):125-142.
24. Stanton SE, Adams S and Disis ML. Variation in the incidence and magnitude of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer subtypes: a systematic review. *JAMA oncology*. 2016;2(10):1354-1360.
25. Tan PH, Ellis I, Allison K, Brogi E, Fox SB, Lakhani S, et al. A. The 2019 WHO classification of tumours of the breast. *Histopathology*; 2020.
26. Vicini FA, Sharpe M, Kestin L, Martinez A, Mitchell CK., Wallace MF, et al. Optimizing breast cancer treatment efficacy with intensity-modulated radiotherapy. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*. 2002;54(5):1336-1344.
27. Maughan K, Lutterbie M and Ham P. Breast Cancer Treatment. *American Family Physician*. 2010;81(11):1339-46.
28. Roussos ET, Keckesova Z, Haley JD, Epstein DM, Weinberg RA, Condeelis JS. AACR special conference on epithelial-mesenchymal transition and cancer progression and treatment; 2010.
29. Foroni C, Broggin M, Generali D, Damia G. Epithelial–mesenchymal transition and breast cancer: Role, molecular mechanisms and clinical impact. *Cancer treatment reviews*. 2012;38(6):689-697.
30. Lee HM, Hwang KA and Choi KC. Diverse pathways of epithelial mesenchymal transition related with cancer progression and metastasis and potential effects of endocrine disrupting chemicals on epithelial mesenchymal transition process. *Molecular and cellular endocrinology*. 201;457:103-113.
31. Bill R and Christofori G. The relevance of EMT in breast cancer metastasis: Correlation or causality? *FEBS letters*. 2015;589(14):1577-1587.
32. Chaffer CL, Thompson EW and Williams ED. Mesenchymal to epithelial transition in development and disease. *Cells Tissues Organs*. 2007;185(1-3): 7-19.
33. Micalizzi DS, Farabaugh SM and Ford HL. Epithelial-mesenchymal transition in cancer: parallels between normal development and tumor progression. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*. 2010;15(2):117-134.
34. Vesuna F, van Diest P, Chen JH, Raman V. Twist is a transcriptional repressor of E-cadherin gene expression in breast cancer. *Biochemical and biophysical research communications*. 2008;367(2):235-241.

35. Yang J, Mani SA, Donaher JL, Ramaswamy S, Itzykson RA, Come C, et al. A.Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *cell*. 2004;117(7):927-939.
36. Laffin B, Wellberg E, Kwak HI, Burghardt RC, Metz RP, Gustafson T, et al. Loss of single-minded-2s in the mouse mammary gland induces an epithelial-mesenchymal transition associated with up-regulation of slug and matrix metalloprotease 2. *Molecular and cellular biology*. 2008;28(6):1936-1946.
37. Wang Y, Shi J, Chai K, Ying X, Zhou B. The role of snail in EMT and tumorigenesis. *Current cancer drug targets*. 2013;13(9):963-972.
38. Woodward WA, Strom EA, Tucke SL, McNeese MD, Perkins GH, Schechter NR, et al. Changes in the 2003 American Joint Committee on Cancer staging for breast cancer dramatically affect stage-specific survival. *Journal of clinical oncology*. 2003;21(17):3244-3248.
39. Guarino M, Rubino B and Ballabio G. The role of epithelial-mesenchymal transition in cancer pathology. *Pathology*. 2007;39(3):305-318.
40. Hartwig FP, Nedel F, Collares T, Tarquinio SBC, Nör JE, Demarco FF. Oncogenic somatic events in tissue-specific stem cells: a role in cancer recurrence? *Ageing research reviews*. 2014;13:100-106.
41. Tomita H, Tanaka K, Tanaka T, Hara A. Aldehyde dehydrogenase 1A1 in stem cells and cancer. *Oncotarget*. 2016; 7: 11018–32.
42. Czerwinska P and Kaminska B. Review Regulation of breast cancer stem cell features. *Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia*. 2015;(1):7-15.
43. Okada T, Sinha S, Esposito I, Schiavon G, López-Lago MA, Su W, et al. The Rho GTPase Rnd1 suppresses mammary tumorigenesis and EMT by restraining Ras-MAPK signalling. *Nature cell biology*. 2015;17(1):81-94.
44. Liu M, Zhu H, Yang S, Wang Z, Bai J, Xu N. c-Myc suppressed E-cadherin through miR-9 at the post-transcriptional level. *Cell biology international*. 2013;37(3):197-202.
45. Liu M, Casimiro MC, Wang C, Shirley LA, Jiao X, Katiyar S, Pestell RG. p21CIP1 attenuates Ras-and c-Myc-dependent breast tumor epithelial mesenchymal transition and cancer stem cell-like gene expression in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(45):19035-19039.
46. Wang Y and Zhou BP. Epithelial-mesenchymal transition in breast cancer progression and metastasis. *Chinese journal of cancer*. 2011;30(9):603.

47. Shao S, Zhao X, Zhang X, Luo M, Zuo X, Huang S, Zhao X. Notch1 signaling regulates the epithelial–mesenchymal transition and invasion of breast cancer in a Slug-dependent manner. *Molecular cancer*. 2015;14(1):1-17.
48. Huber MA, Azoitei N, Baumann B, Grünert S, Sommer A, Pehamberger H, et al. NF- κ B is essential for epithelial-mesenchymal transition and metastasis in a model of breast cancer progression. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(4):569-581.
49. Liu Z, Semenza GL and Zhang HF. Hypoxia-inducible factor 1 and breast cancer metastasis. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*. 2015;16(1):32-43.
50. Albini A, Bruno A, Gallo C, Pajardi G, Noonan DM, Dallaglio K. Cancer stem cells and the tumor microenvironment: interplay in tumor heterogeneity. *Connective tissue research*. 2015;56(5):414-425.
51. Hale JS, Li M and Lathia JD. The malignant social network: cell-cell adhesion and communication in cancer stem cells. *Cell adhesion & migration*. 2012;6(4):346-355.
52. Plaks V, Kong N and Werb Z. The cancer stem cell niche: how essential is the niche in regulating stemness of tumor cells? *Cell stem cell*. 2015;16(3):225-238.
53. Ye J, Wu D, Wu P, Chen Z., Huang J. The cancer stem cell niche: cross talk between cancer stem cells and their microenvironment. *Tumor Biology*. 2014;35(5):3945-3951.
54. Guan J and Chen J. Mesenchymal stem cells in the tumor microenvironment. *Biomedical reports*, 2013;1(4): 517-521.
55. Cortez E, Roswall P and Pietras K. Functional subsets of mesenchymal cell types in the tumor microenvironment. in *Seminars in cancer biology*; 2014.
56. Aster JC, Pear WS and Blacklow SC. The varied roles of notch in cancer. *Annual review of pathology*. 2017;12:245.
57. Cukierman E and Bassi DE. The mesenchymal tumor microenvironment: a drug-resistant niche. *Cell adhesion & migration*. 2012;6(3):285-296.
58. Paunescu V, Bojin FM, Tatu CA, Gavriliuc OI, Rosca A, Gruia AT, .et al. Tumour-associated fibroblasts and mesenchymal stem cells: more similarities than differences. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2011;15(3):635-646.
59. Barcellos-de-Souza P, Comito G, Pons-Segura C, Taddei ML, Gori V, Becherucci V, et al. Mesenchymal stem cells are recruited and activated into carcinoma-

associated fibroblasts by prostate cancer microenvironment-derived TGF- β 1. Stem cells. 2016;34(10):2536-2547.

60. Mukherjee D and Zhao J. The role of chemokine receptor CXCR4 in breast cancer metastasis. American journal of cancer research. 2013;3(1):46.
61. Vermeulen L, De Sousa E Melo F, Van Der Heijden M, Cameron K, De Jong JH, Borovski T, .et al. Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment. Nature cell biology. 2010;12(5):468-476.
62. Mao Y, Keller ET, Garfield DH, Shen K, Wang J. Stromal cells in tumor microenvironment and breast cancer. Cancer and Metastasis Reviews. 2013;32(1):303-315.
63. Dudley AC. Tumor endothelial cells. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2012;2(3): a006536.
64. Korkaya H, Liu S and Wicha MS. Breast cancer stem cells, cytokine networks, and the tumor microenvironment. The Journal of clinical investigation. 2011;121(10):3804-3809.
65. Diamond DM, Campbell AM, Park CR, Halonen J, Zoladz PR. The temporal dynamics model of emotional memory processing: a synthesis on the neurobiological basis of stress-induced amnesia, flashback and traumatic memories, and the Yerkes-Dodson law. Neural plasticity; 2007.
66. Misra S, Heldin P, Hascall VC, Karamanos NK, Skandalis SS, Markwald RR, et al. S journal. 2011;278(9):1429-1443.
67. Jiang W, Zhang Y, Kane KT, Collins MA, Simeone DM, di Magliano MP, et al. T. CD44 Regulates Pancreatic Cancer Invasion through MT1-MMP/CD44 in Pancreatic Cancer. Molecular Cancer Research. 2015;13(1):9-15.
68. Bourguignon LY, Zhu H, Chu A, Iida N, Zhang L, Hung MC. Interaction between the adhesion receptor, CD44, and the oncogene product, p185 HER2, promotes human ovarian tumor cell activation. Journal of Biological Chemistry. 1997;272(44): 27913-27918.
69. Chanmee T, Ontong P, Kimata K, Itano N. Key roles of hyaluronan and its CD44 receptor in the stemness and survival of cancer stem cells. Frontiers in Oncology. 2015;5:180.
70. Cariati M, Naderi A, Brown JP, Smalley MJ, Pinder SE, Caldas C, et al. Alpha-6 integrin is necessary for the tumorigenicity of a stem cell-like subpopulation

within the MCF7 breast cancer cell line. International journal of cancer. 2008;122(2):298-304.

71. Stewart RL and. O'connor KL. Clinical significance of the integrin $\alpha 6 \beta 4$ in human malignancies. Laboratory investigation. 2015;95(9):976-986.
72. de Oliveira KB, Guembarovski RL, Guembarovski AM, da Silva do Amaral Herrera A, Sobrinho WJ, Ariza CB, et al. CXCL12, CXCR4 and IFN γ genes expression: implications for proinflammatory microenvironment of breast cancer. Clinical and Experimental Medicine. 2013;13(3): 211-219.
73. Zakikhani M, Dowling RJ, Sonenberg N, Pollak MN. The effects of adiponectin and metformin on prostate and colon neoplasia involve activation of AMP-activated protein kinase. Cancer prevention research. 2008;1(5):369-375.
74. Chiu JJ, Sgagias MK and Cowan KH. Interleukin 6 acts as a paracrine growth factor in human mammary carcinoma cell lines. Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research. 1996;2(1):215-221.
75. Long H, Xie R, Xiang T, Zhao Z, Lin S, Liang Z, Zhu B. Autocrine CCL5 signaling promotes invasion and migration of CD133⁺ ovarian cancer stem-like cells via NF- κ B-mediated MMP-9 upregulation. Stem cells. 2012;30(10):2309-2319.
76. Velasco-Velazquez M. THE DISTILLERY.
77. Sanguinetti A, Santini D, Bonafè M, Taffurelli M, Avenia N. Interleukin-6 and pro inflammatory status in the breast tumor microenvironment. World Journal of Surgical Oncology. 2015;13(1):1-6.
78. Stirling F, Naydich A, Bramante J, Barocio R, Certo M, Wellington H, et al. Synthetic cassettes for pH-mediated sensing, counting, and containment. Cell Reports. 2020;30(9): 3139-3148.
79. Sullivan NJ, Sasser AK, Axel A, Vesuna F, Raman V, Ramirez N, et al. Interleukin-6 induces an epithelial–mesenchymal transition phenotype in human breast cancer cells. Oncogene. 2009;28(33):2940-2947.
80. Rich JN. Cancer stem cells in radiation resistance. Cancer research, 2007;67(19):8980-8984.
81. Heo T, Wahler HJ and Suh N. Potential therapeutic implications of IL-6/IL-6R/gp130-targeting agents in breast cancer. Oncotarget. 2016;7(13):15460.

82. Werner L, Guzman-Gur H and Dotan I. Involvement of CXCR4/CXCR7/CXCL12 Interactions in Inflammatory bowel disease. *Theranostics*. 2013;3(1):40.
83. Ho TK, Shiwen X, Abraham D, Tsui J, Baker D. Stromal-cell-derived factor-1 (SDF-1)/CXCL12 as potential target of therapeutic angiogenesis in critical leg ischaemia. *Cardiology Research and Practice*; 2012.
84. De Clercq E. AMD3100/CXCR4 inhibitor. *Frontiers in immunology*. 2015;6:276.
85. Xiang J, Hurchla MA, Fontana F, Su X, Amend SR, Esser AK, et al. CXCR4 Protein Epitope Mimetic Antagonist POL5551 Disrupts Metastasis and Enhances Chemotherapy Effect in Triple-Negative Breast Cancer Preclinical Evaluation of POL5551 in Breast Cancer Models. *Molecular cancer therapeutics*. 2015;14(11):2473-2485.
86. Thomas D, Rathinavel AK and Radhakrishnan P. Altered glycosylation in cancer: A promising target for biomarkers and therapeutics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*. 2021;1875(1):188464.
87. Li J, Hsu HC, Mountz JD, Allen JG. Unmasking fucosylation: from cell adhesion to immune system regulation and diseases. *Cell chemical biology*. 2018;25(5):499-512.
88. Escrevente C, Machado E, Brito C, Reis CA, Stoeck A, Runz S, et al. Different expression levels of α 3/4 fucosyltransferases and Lewis determinants in ovarian carcinoma tissues and cell lines. *International journal of oncology*. 2006;29(3):557-566.
89. Yang XS, Liu SA, Liu JW, Yan Q. Fucosyltransferase IV Enhances Expression of MMP-12 Stimulated by EGF via the ERK1/2, p38 and NF- κ B Pathways in A431 Cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2012;13(4):1657-1662.
90. Zielińska KA and Katanaev VL. The signaling duo CXCL12 and CXCR4: Chemokine fuel for breast cancer tumorigenesis. *Cancers*. 2020;12(10):3071.
91. Gadalla R, Hassan H, Ibrahim SA, Abdullah MS, Gaballah A, Greve B, et al. Tumor microenvironmental plasmacytoid dendritic cells contribute to breast cancer lymph node metastasis via CXCR4/SDF-1 axis. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2019;174(3):679-691.
92. Müller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *nature*. 2001;410(6824):50-56.

93. Balkwill FR. The chemokine system and cancer. *The Journal of pathology*. 2012;226(2):148-157.
94. Wendel CH, Krasnyanska J, Mees ST, Kochetkova, et al.
95. Ekmekci S and Aktas S. The Concept and Mechanisms of Metastasis, in *Biomarkers in Carcinoma of Unknown Primary*. 2022;21-45.
96. Dubrovskaya A, Hartung A, Bouchez LC, Walker JR, Reddy VA, Cho CY, et al. CXCR4 activation maintains a stem cell population in tamoxifen-resistant breast cancer cells through AhR signalling. *British journal of cancer*. 2012;107(1):43-52.
97. Economopoulou P, Kaklamani VG and Siziopikou K. The role of cancer stem cells in breast cancer initiation and progression: potential cancer stem cell-directed therapies. *The oncologist*. 2012;17(11):1394-1401.
98. Domanska UM, Kruizinga RC, Nagengast WB, Timmer-Bosscha H, Huls G, de Vries EG, et al. A review on CXCR4/CXCL12 axis in oncology: no place to hide. *European journal of cancer*. 2013;49(1):19-230.
99. Kotb RM, Ibrahim SS, Mostafa OM, Shahin NN. Potential role of CXCR4 in trastuzumab resistance in breast cancer patients. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2022;166520.
100. Zhang W, Liu L, Zhao S, Chen L, Wei Y, Chen W, Ge F. Research progress on RNA-binding proteins in breast cancer. *Oncology Letters*. 2022;23(4):1-14.
101. Liles WC, Broxmeyer HE, Rodger E, Wood B, Hübel K, Cooper S, et al. Mobilization of hematopoietic progenitor cells in healthy volunteers by AMD3100, a CXCR4 antagonist. *Blood*. 2003;102(8):2728-2730.
102. Gil M, Seshadri M, Komorowski MP, Abrams SI, Kozbor D. Targeting CXCL12/CXCR4 signaling with oncolytic virotherapy disrupts tumor vasculature and inhibits breast cancer metastases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(14):E1291-E1300.
103. Saitoh O, Wang WC, Lotan R, Fukuda M. Differential glycosylation and cell surface expression of lysosomal membrane glycoproteins in sublines of a human colon cancer exhibiting distinct metastatic potentials. *Journal of biological chemistry*. 1992;267(8):5700-5711.
104. Miyoshi E, Noda K, Yamaguchi Y, Inoue S, Ikeda Y, Wang W, et al. The α 1-6-fucosyltransferase gene and its biological significance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 1999;1473(1):9-20.

105. Petretti T, Schulze B, Schlag PM, Kemmner W. Altered mRNA expression of glycosyltransferases in human gastric carcinomas. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 1999;1428(2-3):209-218.
106. Yang X, Zhang Z, Jia S, Liu Y, Wang X, Yan, Q. Overexpression of fucosyltransferase IV in A431 cell line increases cell proliferation. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2007;39(9):1722-1730.
107. Yang X, Wang J, Liu S, Yan, Q. HSF1 and Sp1 regulate FUT4 gene expression and cell proliferation in breast cancer cells. *Journal of cellular biochemistry*. 2014;115(1):168-178.
108. Yang X, Liu S and Yan Q. Role of fucosyltransferase IV in epithelial–mesenchymal transition in breast cancer cells. *Cell death & disease*. 2013; 4(7):e735-e735.

8. EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onay Belgesi

HMKÜ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL
KARAR FORMU

	Karar No: 16	Tarih: 11/03/2021
KARAR BİLGİLERİ	KARAR 16- Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Esin DOĞAN'ın (Arş.Gör.Dr. Tuğçe ERTÜRK'ün uzmanlık tezi) "İnvaziv meme kansinomlarında FUT4 ve CXCR4 proteinlerinin prognostik faktörlerle ilişkisi" isimli çalışması görüşlmüş olup; çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve etik kurallara uygun bulunmuş olup; çalışmanın finans kaynağı olarak gösterilen, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nden (BAP) gerekli belgelerin Kurulumuza ulaştıktan sonra Çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.	
ETİK KURUL ÜYELERİ		
Çalışma Esası:	İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu	
Etik Kurul Başkanı	Prof.Dr.İbrahim Halil ÇERÇİ	

ETİK KURUL ÜYELERİ							
Ünvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki		Katılım	İmza
Prof.Dr.İbrahim Halil ÇERÇİ Başkan	Veteriner	HMKÜ Veteriner Fakültesi	E	E ☐	H ☒	E ☒	H
Prof.Dr.Hülya YALÇIN Başkan Yrd.	Nükleer Tıp	HMKÜ Tıp Fakültesi	K	E ☐	H ☒	E ☒	H
Prof.Dr. A.Güler OKYAY Başkan Yrd.	Kadın Hast. Ve Doğum	HMKÜ Tıp Fakültesi	E	E ☐	H ☒	E ☒	H
Prof.Dr.Alper ASLAN Üye	Beden Eğitimi	HMKÜ BESYO	E	E ☐	H ☒	E ☐	H
Prof.Dr.Tümay ÖZGÜR Üye	Patoloji	HMKÜ Tıp Fakültesi	K	E ☐	H ☒	E ☒	H
Doç.Dr.Cengiz ARLI Üye	Kulak Burun Boğaz	HMKÜ Tıp Fakültesi	E	E ☐	H ☒	E ☒	H
Dr.Öğr.Üyesi Fatma ÖZ Üye	Anatomi	HMKÜ Tıp Fakültesi	K	E ☐	H ☒	E ☒	H
Dr.Öğr.Üyesi F. B. ZORTUK Üye	Diş Hekimi	HMKÜ Diş Hekimliği Fakültesi	K	E ☐	H ☒	E ☒	H
Doç.Dr. Oğuzhan ÖZCAN Üye	Tıbbi Biyokimya	HMKÜ Tıp Fakültesi	E	E ☐	H ☒	E ☒	H
Doç.Dr. Oğuz AKKUŞ Üye	Kardiyoloji	HMKÜ Tıp Fakültesi	E	E ☐	H ☒	E ☒	H
Doç.Dr.Sibel SEVİNÇ Üye	Hemşirelik	HMKÜ Sağlık Hiz. YO.	K	E ☐	H ☒	E ☒	H

9. ÖZGEÇMİŞ

■■■■■■■■■■ yılında ■■■■■■■■■■ ilçesinde dünyaya geldim. İlkokul eğitimimi Vali Teoman İlköğretim okulu ve Bedii Sabuncu İlköğretim okullarında tamamladım. Lise eğitimimi İskenderun Tosçelik Fen Lisesi'nde aldım. 2017 yılında tıp fakültesi eğitimimi İzmir Katip Çelebi Üniversitesi'nde tamamlayarak mezun oldum. Aralık 2018'de Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak göreve başladım. İhtisasımın son senesinde İsveç Uppsala Üniversitesi 'nde gözlemci olarak çalıştım. Halen Mustafa Kemal Üniversitesi 'ndeki görevime devam etmekteyim.