



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

Meme kanserli hastalarda SHARP1/SHARP2 (BHLHE41/40-DEC2/DEC1) transkripsiyon faktörlerinin ekspresyon düzeyinde değişimlerin araştırılması ve prediktif önemi

UZMANLIK TEZİ

Dr. Kayhan ÖZDEMİR

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. H. BELMA KOÇER

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitim süresince bilgisi, hoşgörüsü ve engin deneyimleri ile her zaman desteğini gördüğüm, mesleki gelişime çok değerli katkıları bulunan aynı zamanda tez danışmanım olan emeklerini hiçbir zaman ödeyemeyeceğim saygıdeğer hocam Prof. Dr. H. Belma KOÇER'e teşekkürlerimi sunarım.

Cerrahi asistanlığımın ilk yıllarında temel cerrahi eğitimi almamda, klinisyenliğimin ve cerrahi el becerimin gelişmesinde çok büyük katkıları olan; analitik düşünmemi sağlayan Klinik Eğitim Sorumlularım Prof. Dr. Fehmi ÇELEBİ'ye ve Prof. Dr. Fatih ALTINTOPRAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Cerrahi deneyim ve bilgilerinden yararlanma fırsatı bulduğum Prof. Dr. Metin ERCAN'a, Prof. Dr. Kerem KARAMAN'a, Doç.Dr. Zülfü BAYHAN'a, Doç. Dr. Volkan ÖTER'e teşekkürlerimi sunarım.

İhtisasımın ilk günlerinden uzmanlığıma kadar eğitimimin her aşamasında benden desteğini esirgemeyen, gerek cerrahi bilimi ve sanatını öğrenmemde katkılarını gördüğüm, yenilikçi ve ilerici cerrahi teknikleri öğrenmemde büyük katkısı olan ve birlikte çalışmaktan keyif aldığım değerli uzman abilerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Genel cerrahi asistanı olmanın zorluğunu ve zevkini birlikte yaşadığım kıdemlilerime, asistanlık dönemimde destek olan bir aile olduğumuz ve benden sonra da kliniğin yükünü omuzlayacak tüm arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Tez projemin çıkış noktasındaki fikirsel katkıları, tezimin olgunlaşma süreci ve tez projemin büyük bir bölümünü oluşturan laboratuvar kısmındaki önemli desteklerinden dolayı Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalından Doç Dr Gamze Güney ESKİLER'e teşekkür ederim.

Her an yanımda olan beni maddi ve manevi anlamda her türlü destekleyen ve bugüne gelmemde sonsuz özveride bulunan, hayattaki en değerli varlıklarım olan anneme babama ve bu zorlu süreçteki desteklerini asla unutamayacağım hayatımın en önemli parçaları olan sevgili eşime ve canım kızıma da çok teşekkür ederim.

Dr. Kayhan ÖZDEMİR

BEYAN

Bu alışma T.C. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakóltesi Etik Kurulu'ndan 71522473/050.01.04/30 sayı ile 26/02/2019 tarihinde onay olarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih: 04.01.2020

Dr. Kayhan ÖZDEMİR

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	2
BEYAN.....	3
İÇİNDEKİLER	4
GİRİŞ.....	5
GENEL BİLGİLER.....	6
AMAÇ-HİPOTEZ.....	17
MATERYAL METHOD.....	18
SONUÇLAR.....	21
TARTIŞMA.....	48
REFERANSLAR.....	55

GİRİŞ

Meme kanseri; kadınlarda en sık görülen, farklı klinikopatolojik ve moleküler karakteristik özelliklere sahip heterojen bir kanser tipidir; 2018 Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre (GLOBOCAN) halen yılda yaklaşık 2,1 milyon kadına meme kanseri tanısı konulduğu, yaklaşık 630 bin kadının meme kanseri nedeniyle hayatını kaybettiği bilinmektedir. Avrupa'da her 10 kadından biri, ABD'de ise her 8 kadından biri yaşamı boyunca meme kanserine yakalanma riski taşımaktadır.

SHARP1 (BHLHE41/DEC1) ve SHARP2 (BHLHE40/DEC2) basic heliks-loop-heliks (bHLH) transkripsiyon faktörleri olarak hücre proliferasyonu, apoptozis ve hipoksi gibi farklı mekanizmalarda rol almaktadır. SHARP1-2 farklı mekanizmalarla farklı genlerin ekspresyonunu düzenleyerek birbirleriyle karşıt görevler üstlenebilmektedir (1,2). Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada SHARP2 ekspresyonunun tümör hücrelerinde hücre proliferasyonunu, migrasyonunu ve invazyonunu azalttığı gösterilmiştir(3).

Farklı çalışmalardan elde edilen sonuçlarda SHARP2 ekspresyon seviyelerinin kolorektal kanser, orofarinks kanseri, karaciğer ve beyin tümörlerinde sağlıklı dokuyla kıyaslandığından anlamlı olarak arttığı ancak endometrium kanseri ve küçük hücreli akciğer kanserinde tümör dokusundaki seviyesinin sağlıklı dokudaki seviyesiyle aynı bulunduğu görülmüştür (4,5). Akciğerde küçük hücreli dışı kanserlerde, karaciğer ve özofagus kanserlerinde ekspresyon seviyesinin tanıdaki tümör evresiyle ters orantılı olduğu sağkalımda artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir(6,7).

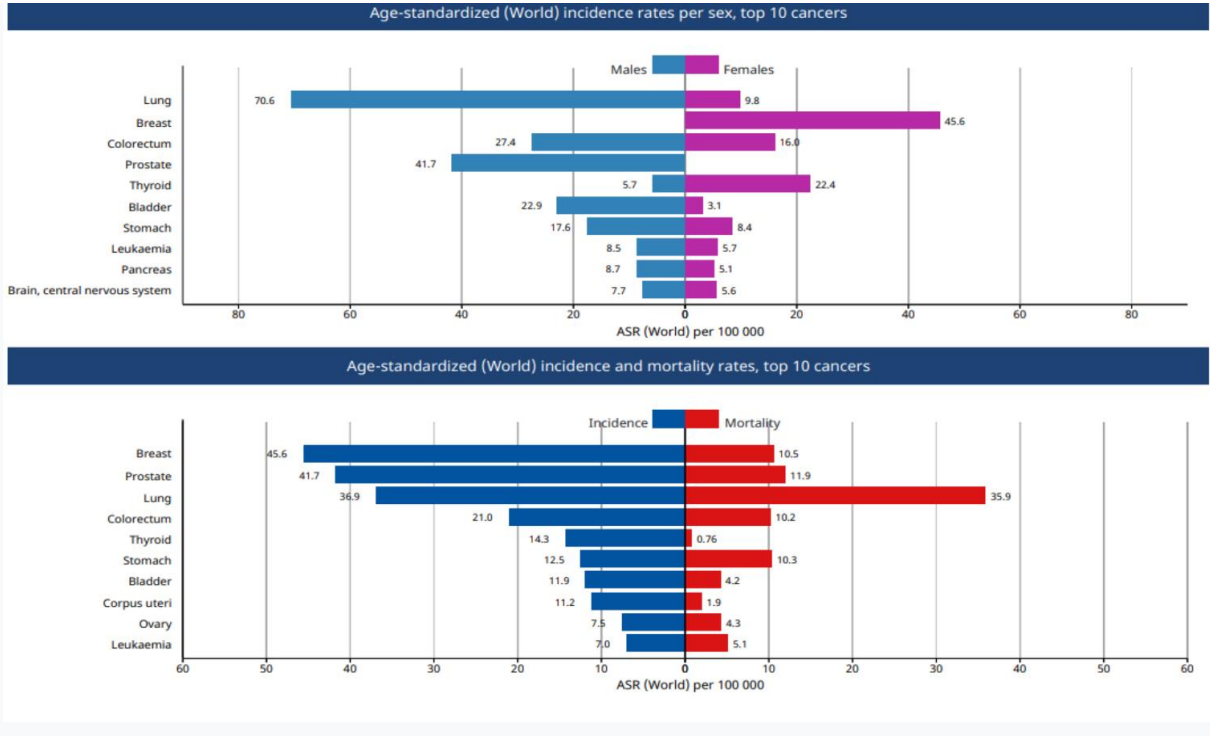
Son yıllarda farklı gen tiplerinin farklı kanser tipleri üzerinde yapılan çalışmalarda bu genlerin ekspresyon seviyelerinde değişimlerin prediktif faktör olma yolunda önemli olabileceği araştırılmaya başlanmıştır. SHARP1-2 farklı tümör tipleri üzerine yapılan çalışmalarda farklı onkojenik veya tümör baskılayıcı aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle ileri çalışmalar ile her bir kanser tipine özgü kanser hastalarında SHARP1-2'nin rollerinin aydınlatılması gerekmektedir. Çalışmamızda Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği'nde tanı konularak tedavi edilen meme kanseri olgularında tedavi öncesi ve sonrasında SHARP1-2 ekspresyon düzeylerinin araştırılması, bu düzeylerin klinikopatolojik verilerle karşılaştırılması ve prediktif öneminin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

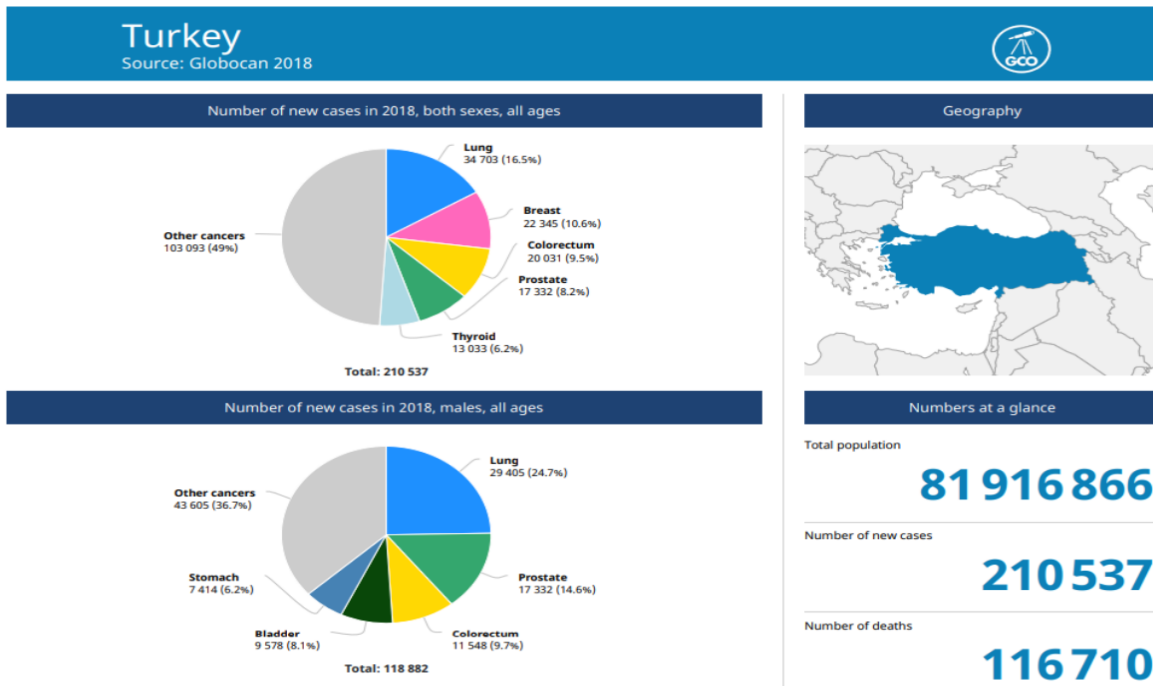
İNSİDANS-EPİDEMİYOLOJİ

Kadınlar arasında meme kanseri en sık teşhis edilen kanserdir ve kanserden ölümlerin önde gelen nedenidir. Dünyanın farklı bölgelerinde Dünya Sağlık Örgütü liderliğinde ‘Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı’ tarafından üretilen GLOBOCAN 2018 kılavuzu kanser insidansı ve mortalite tahminlerini kullanarak dünya çapında kanserin küresel yükü hakkında bir durum raporu sunmaktadır. Ortalama 5 yılda bir güncellenen bu kılavuz halen literatürdeki en güvenilir kaynaklardan biri olup bu kılavuza göre her yıl teşhis edilen yaklaşık 18,1 milyon yeni kanser vakasının %11,6’sını meme kanserleri oluşturmaktadır (1). Yaşa göre standardize edilmiş insidans ve mortalite oranları incelendiğinde en sık insidansa sahip kanser tipi meme kanseri olup en mortal kanserler arasında ise akciğer ve prostat kanserinin ardından 3.sırada yer almaktadır. (Tablo 1) Artan insidans ve tedavi sonuçlarındaki gelişmeler nedeniyle prevalans artmaktadır. Çoğu Batı ülkesinde, gelişmiş tedavi ve erken teşhis nedeniyle ölüm oranı son yıllarda, özellikle genç yaş gruplarında azalmıştır (10,11). Mamografi taramasının artmasından ve ortalama yaşam süresinin uzamasından dolayı teşhis edilen meme kanseri sıklığı artmıştır.

Ülkemizde ise yılda ortalama yaklaşık 210 bin kişiye kanser tanısı konulurken bunlardan %10,6’sını meme kanseri oluşturmaktadır. Kadın popülasyonda bu oran %24,4’e kadar çıkmaktadır (Tablo 2). Tüm yaş gruplarındaki 5 yıllık prevalansı 68200 olarak tespit edilmiştir (Tablo 3).



Tablo 1: Yaşa göre standardize edilmiş mortalite ve insidans sıralamasında ilk 10 kanser tipi ve yüzdeleri



Tablo 2: Türkiye 2018 yılında görülen kanser türleri, sayısı ve oranları

Incidence, Mortality and Prevalence by cancer site

Cancer	New cases				Deaths				5-year prevalence (all ages)	
	Number	Rank	(%)	Cum.risk	Number	Rank	(%)	Cum.risk	Number	Prop.
Lung	34 703	1	16.5	4.48	33 683	1	28.9	4.43	32 632	39.84
Breast	22 345	2	10.6	4.80	5 452	5	4.7	1.14	68 288	164.37
Prostate	17 332	3	8.2	5.16	5 165	6	4.4	0.93	39 103	96.86
Thyroid	13 033	4	6.2	1.42	742	21	0.64	0.09	45 836	55.95
Stomach	11 934	5	5.7	1.45	10 006	2	8.6	1.19	16 369	19.98
Colon	11 286	6	5.4	1.35	7 971	3	6.8	0.89	27 043	33.01
Bladder	11 235	7	5.3	1.46	4 222	10	3.6	0.46	31 746	38.75
Rectum	8 403	8	4.0	1.06	2 025	14	1.7	0.24	21 682	26.47
Pancreas	6 473	9	3.1	0.79	6 416	4	5.5	0.79	4 033	4.92
Leukaemia	6 029	10	2.9	0.62	4 681	8	4.0	0.50	16 566	20.22
Brain, central nervous system	5 909	11	2.8	0.67	5 084	7	4.4	0.60	15 135	18.48
Non-Hodgkin lymphoma	5 733	12	2.7	0.68	2 886	11	2.5	0.34	15 839	19.34
Corpus uteri	5 463	13	2.6	1.35	1 051	20	0.90	0.24	17 269	41.57
Kidney	4 728	14	2.2	0.61	2 484	12	2.1	0.31	11 640	14.21
Liver	4 362	15	2.1	0.52	4 307	9	3.7	0.52	3 127	3.82
Larynx	3 820	16	1.8	0.50	1 847	15	1.6	0.23	10 608	12.95
Ovary	3 729	17	1.8	0.84	2 191	13	1.9	0.51	9 901	23.83
Cervix uteri	2 356	18	1.1	0.51	1 280	17	1.1	0.28	6 683	16.09
Multiple myeloma	2 331	19	1.1	0.31	1 509	16	1.3	0.20	5 432	6.63
Lip, oral cavity	1 948	20	0.93	0.24	452	25	0.39	0.05	5 356	6.54
Gallbladder	1 763	21	0.84	0.22	1 153	19	0.99	0.13	1 924	2.35
Melanoma of skin	1 622	22	0.77	0.18	669	22	0.57	0.07	4 809	5.87
Hodgkin lymphoma	1 565	23	0.74	0.16	239	26	0.20	0.03	5 610	6.85
Testis	1 560	24	0.74	0.27	204	27	0.17	0.04	5 644	13.98
Oesophagus	1 470	25	0.70	0.18	1 255	18	1.1	0.15	1 419	1.73
Nasopharynx	922	26	0.44	0.10	513	24	0.44	0.06	2 861	3.49
Mesothelioma	825	27	0.39	0.11	597	23	0.51	0.08	884	1.08

Tablo 3: Türkiye’de 2018 yılında görülen kanser tiplerinin insidans mortalite ve prevalans değerleri

RİSK FAKTÖRLERİ

İleri Yaş

Yaşlanma, cinsiyetin yanı sıra meme kanserinin en önemli risk faktörlerinden biridir, çünkü meme kanseri görülme sıklığı, artan yaşla büyük ölçüde ilişkilidir. 2016 yılında, Amerika Birleşik Devletleri'nde tüm meme kanserine bağlı ölümlerin yaklaşık %99,3'ü ve %71,2'si sırasıyla 40 ve 60 yaşın üzerindeki kadınlarda rapor edilmiştir (12).

Aile öyküsü

Neredeyse tüm meme kanseri vakalarının dörtte biri aile öyküsü ile ilgilidir (14). Özellikle annesi veya kız kardeşinde meme kanseri olan kadınlarda risk fazla miktarda artmıştır. İngiltere'de 113.000'den fazla kadından oluşan bir kohort çalışması, birinci derece akrabalarında meme kanseri olan kadınların, etkilenen akrabaları olmayan kadınlara göre bu hastalığa yakalanma riskinin 1,75 kat daha yüksek olduğunu gösterdi. İki veya daha fazla birinci derece akrabada saptandığında ise meme kanseri riski en az 2,5 kat artmaktadır (13).

Üreme faktörleri

Erken menarş, geç menopoz, ilk gebelikte geç yaş ve düşük parite gibi faktörler meme kanseri riskini artırabilir. Menopozdaki her 1 yıllık gecikme, meme kanseri riskini %3 artırır. Menarşta her 1 yıllık gecikme veya her ilave doğum meme kanseri riskini sırasıyla %5 veya %10 oranında azaltır (14,15). Yakın tarihli bir Norveç kohort çalışması, ilk doğumun geç (≥ 35 yaş) veya erken (< 20 yaş) yaşlarda olmasının meme kanseri riskini 1.54 kat arttırdığını bulmuştur (16).

Östrojen

Hem endojen hem de eksojen östrojenler, artmış meme kanseri riski ile ilişkilidir. Endojen östrojen genellikle menopoz öncesi kadınlarda overlerde üretilir bu nedenle ooferektomili hastalarda meme kanseri riski azalmıştır (17). Eksojen östrojenin ana kaynakları, oral kontraseptifler ve hormon replasman tedavileridir. Oral kontraseptifler 1960'lardan beri yaygın olarak kullanılmaktadır. Oral kontraseptif

tedavisinin üzerinden 10 yıldan uzun süre geçmiş kişilerde bu tedavi meme kanseri için risk faktörü olmaktan çıkmaktadır (14).

Hormon replasman tedavileri (HRT), menopoz dönemi veya menopoz sonrası dönemdeki kadınlar için eksojen östrojen veya diğer hormonların uygulanmasıdır. Bir dizi çalışma, HRT kullanımının meme kanseri riskini artırabileceğini göstermiştir. Birleşik Krallık'taki 1 milyon kadın üzerinde yapılan bir çalışmada, HRT kullananlar ile hiç kullanmayanlar arasında 1,66 oranında artmış risk bildirildi. Asya'da 22.929 kadını kapsayan bir kohort çalışmasında ise; sırasıyla 4 ve 8 yıl süreyle HRT kullanımdan sonra sırasıyla 1,48 ve 1,95 oranlarında risk artışı gösterilmiştir (19).

Yaşam tarzı

Aşırı alkol tüketimi ve yağlı diyet meme kanseri riskini artırabilir. Alkol tüketimi, kandaki östrojenle ilgili hormonların seviyesini yükseltebilir ve östrojen reseptör yollarını tetikleyebilir. Elli üç epidemiyolojik çalışmaya dayanan bir meta-analiz, günde 35-44 gram alkol alımının meme kanseri riskini %32 artırabileceğini ve bu miktarın günlük 10 gram daha fazla alımının riski %7,1 oranında arttırdığını göstermiştir (20,21). Aşırı yağ alımı özellikle de doymuş yağlar meme kanserli hastalarda kötü prognoz ile ilişkilidir (22). Sigara ve meme kanseri riski arasındaki ilişki tartışmalı olmaya devam etse de, emzirmeyen kadınlarda memeden alınan aspirasyon örneklerinde sigara dumanında bulunan mutajenler tespit edilmiştir. Yapılan meta-analiz ve derlemelerde sigara içenlerde meme kanseri riskinin yaklaşık 1,55 kat arttığı gösterilmiştir (23). Özellikle erken yaşta sigara içmenin meme kanserine yakalanma riskinin daha yüksek olduğunu göstermektedir (24,25).

ETYOPATOGENEZ

Meme tümörleri genellikle duktal hiperproliferasyon ile başlar ve ardından çeşitli kanserojen faktörlerle sürekli uyarıldıktan sonra tümöre ardından metastatik karsinomlara dönüşürler. Stromal etkiler veya makrofajlar, meme kanserinin başlamasında ve ilerlemesinde önemli rol oynar. Sıçanların meme bezi üzerinde yapılan incelemelerde, ekstraselüler matriks ve epitelden bağımsız olarak sadece stromanın kanserojenlere maruz kalmasının da neoplazilere yol açabileceği gösterilmiştir (26,27). Makrofajlar, anjiyogenezi arttırarak kanser hücrelerinin immün sistemden kaçmasını sağlayan mutajenik enflamatuvar bir mikro ortam oluşturabilir (28,29). Normal ve tümör ilişkili mikro ortamlar arasında farklı DNA metilasyon modelleri gözlemlenmiştir, bu da tümör mikroçevresinde epigenetik modifikasyonların karsinojenezi arttırabileceğini göstermektedir (30,31).

Son zamanlarda, kanser kök hücreleri (CSC'ler) olarak adlandırılan yeni bir malign alt sınıf tanımlanmıştır ve tümörün migrasyonu, invazyonu ve nüksü ile ilişkilendirilmiştir. Normal dokulardaki kök hücrelerden veya öncü hücrelerden gelişebilen bu küçük hücre popülasyonu, kendini yenileme özelliğine sahip olduğundan kemoterapi ve radyoterapi gibi geleneksel tedavilere dirençlidir (32,33).

Meme kanseri kök hücreleri ilk olarak Ai Hajj tarafından tanımlandı ve yaklaşık 100 tane meme kanseri kök hücrelerinin bile bağımsızlığı baskılanmış farelerde yeni tümörler oluşturabildiği gösterilmiştir. Meme kanseri kök hücrelerinin, bazal kök hücrelerden ziyade lümen epitel öncü hücrelerinden kaynaklanma olasılığı daha yüksektir (34,35). Wnt, Notch, Hedgehog, p53, PI3K ve HIF içeren sinyal yolları meme kanseri kök hücrelerinin proliferasyonunda ve invazyonunda rol alan mekanizmalardan yalnızca birkaçıdır (36,37). Çalışmamızın temelini oluşturan iki gen yapısı daha önceki çalışmalarda farklı kanser türlerinde HIF içeren sinyal yolları üzerinden malignite ile ilişkilendirilmeye çalışılmıştır.

Hipoksinin, kemo-radyoterapötik müdahalelere direnç ile ilişkili tümör davranışını belirlemede önemli bir rol oynadığı giderek artan bir şekilde kabul edilmektedir. Transkripsiyonel bir kompleks olduğu düşünülen hipoksi ile indüklenebilir faktör (HIF), oksijen basıncındaki değişikliklere uyum sağlamak için gerekli olan birçok hücrel tepkimeye aracılık eden anahtar bir düzenleyici olarak tanımlanmıştır (38). HIF kompleksi; HIF-1 α , HIF-2 α ve HIF- β alt birimlerinden oluşmaktadır. Hipoksi ile indüklenebilir faktör- β yapısal olarak ifade edilir ve birkaç transkripsiyonel sistemde yer alırken, iki HIF- α alt birimi hipoksik yola spesifiktir. Normoksik koşullarda, HIF- α birimleri kararsızdır çünkü HIF- α alt birimlerinin oksijene bağlı alanları olan iki prolin kalıntısı, prolin hidroksilazlar tarafından denatüre edilmektedir (40). Kompleks daha sonra spesifik DNA hipoksi yanıt elemanlarını bağlayan ortak aktivatörleri toplayarak miRNA transkripsiyonunun artmasına neden olmaktadır.

SHARP1 ve SHARP2 transkripsiyon faktörleri

SHARP1 (BHLHE41/DEC2) büyük bir transkripsiyon düzenleyici ailesi olan BHLH (basic helix loop helix) protein ailesinin bir üyesidir. SHARP1'in sirkadiyen ve sirkadiyen olmayan farklı görevleri bulunmaktadır. Sirkadiyen düzenlemede SHARP1 proteini, transkripsiyon ve translasyondan sonra çekirdeğe girer ve E-Box'a bağlanmak için CLOCK-BMAL1 proteinleriyle rekabet eder. SHARP1, bu süreçte sirkadiyen ritim düzenlemesinin bir baskılayıcısı olarak işlev görmektedir (11,12). Sirkadiyen olmayan düzenlemede ise HIF, P53, BCL, ERK / NF-kappa B ve PI3K/Akt yolları gibi birçok yolla ilişkilendirilmeye çalışılmış ancak halen net bir mekanizma tanımlanamamıştır. SHARP1 transkripsiyon seviyelerinin düzensizliğinin farklı kanser tiplerinin ilerlemesinde bir faktör olabileceği gibi, tümör ilerlemesine yol açabileceği de farklı çalışmalarda gösterilmiştir (41).

SHARP2 (BHLHE40/DEC1), birçok organizmada eksprese edilen büyük bir transkripsiyon düzenleyici süper ailesi olan BHLH (basic helix loop helix) protein ailesinin bir diğer üyesidir. BHLH süper ailesi hücre döngüsünün kontrolü, sirkadiyen ritim ile ilişkili genlerin düzenlenmesi, hücre farklılaşması ve gelişimi, apoptoz gibi çok çeşitli fizyolojik süreçlerde görev almaktadır. SHARP2 bir transkripsiyonel düzenleyicidir. Çeşitli insan dokularında eksprese edilerek farklı proteinlerle etkileşime girdiği düşünülmektedir. Bazı hücre kültürü çalışmalarında SHARP2, PI3K/Akt/mTOR yolağına etki ederek tümör ilerlemesini aktive ederken, STAT1 ekspresyonunu bastırarak tümörün ilerlemesini durdurabileceği gösterilmiştir (9,42).

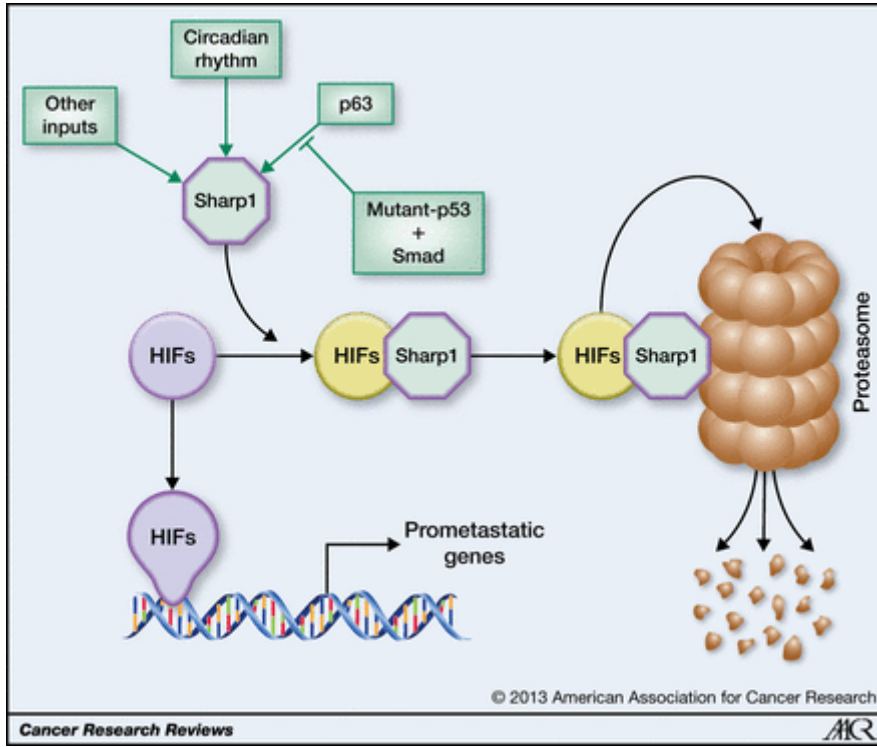
SHARP1 ve SHARP2 henüz net tanımlanamayan farklı sinyal yolları ile etkileşimleri tümör tipine göre değişiklik gösterebilecek etkilerinin olmasına neden olmaktadır. Literatürde yapılan sınırlı sayıda çalışmada SHARP1 ve SHARP2'nin etkileri farklı kanser tiplerinde araştırılmıştır.

Yang Liu ve arkadaşlarının MCF-7 meme kanseri hücrelerinde yaptığı çalışmada; SHARP1 veya SHARP2'nin ekspresyon seviyelerinde değişimlerin apoptozu üzerindeki etkisi incelenmiştir (5). SHARP1'in siRNA ile baskılanması sonucunda

hücrelerde apoptozu indükleyerek PARP'ın inaktivasyonuna, kaspaz-8 aktivasyonuna neden olduğu belirtilmiştir. Ayrıca SHARP1'in MCF-7 hücrelerinde hem çekirdekte hem de sitoplazmada sentezlenebilirken, SHARP2'nin sadece çekirdekte lokalize olduğunu tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışmada, SHARP2'nin pro-apoptotik etkiye sahip olduğunu, SHARP1'in ise meme kanseri hücrelerinde anti-apoptotik bir özellik gösterdiğini belirtmişlerdir.

Piccolo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise hipoksik faktörler baz alınarak triple negatif meme kanser hücrelerinde SHARP1'in işlevi tanımlanmaya çalışılmıştır(53). Bu çalışmada sıkça bahsedilen TP63; epitel bütünlüğünü ve büyümesini kontrol eden p53 gen ailesinin bir üyesidir. TP63 geni, N-terminal gen bölümlerinde iki C-terminallerinde ise üç farklı izoform (α , β , and γ) barındırabilmektedir. Yapılan çalışmalarda TP63 α 'nın TGF- β aracılığıyla metastatik hücrelerde inhibe edildiği bildirilmiştir (39,44). TP63 geninin inaktive edildiği farelerde ortaya çıkan tümörlerin %90'ında metastaz saptanmıştır. SHARP1'in TGF- β ile p63 aktivitesinin izlenmesinde önemli bir belirteç olabileceği tanımlanmıştır (39,40).

Montagner ve arkadaşları SHARP1'in meme kanseri hücrelerinde HIF-1 α ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğunu ve SHARP1'in güçlü bir HIF inhibitörü olarak görev alabileceğini belirtmişlerdir (41). Bu çalışmadan yola çıkarak SHARP1 seviyesinin artmasının, HIF-bağımlı transkripsiyonel aktivitelerin ve HIF-bağımlı hücre göçünün inhibisyonuna neden olduğu görülmektedir (Şekil 1).



Şekil 1: SHARP1 HIF sinyal yolağını engelleyerek triple negatif meme kanserinde antimetastatik etkili (2013 AACR)

Sethuraman ve arkadaşlarının SHARP2'yi bir prometastatik ajan olarak değerlendirmiştir (51). Heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörünün (HBEGF) eksozomik artışını modüle ederek tümör hücrelerinin hayatta kalmasını ve göç etmesini desteklediğini ifade etmiştir. Ancak Asanoma ve arkadaşlarının çalışmasında, SHARP2 aşırı ekspresyonunun hücre proliferasyonunu inhibe ettiği ve hücre yaşlanmayı indüklediği gösterilmiştir (48).

Fang ve arkadaşları tarafından yapılan derlemede ise; 21 çalışmada, tümörlerde normal örneklerle göre daha yüksek SHARP2 ekspresyonu belirlenirken, 14 çalışmada ise tümörlerde normal dokulardan daha düşük SHARP2 ekspresyonu tespit edilmiştir (52). Meme kanseri ile ilgili olarak sadece bir çalışmada kanser dokularında sağlıklı dokulardan daha düşük SHARP2 ekspresyonunun olduğu gösterilmiştir (Şekil 2). Ayrıca, SHARP1 normal örneklerle karşılaştırıldığında 16 çalışmada tümörlerde ekspresyon seviyesi artarken, 20 çalışmada ise azaldığı belirtilmiştir. Meme kanseri ile ilgili olarak, dört çalışmada da tümörlerde normal dokulardan daha düşük SHARP1 ekspresyon seviyesinin olduğu ortaya koymuştur.

Sonuç olarak; ilgili literatürde SHARP1/2 ekspresyon seviyelerinde değişimler analiz edildiğinde çalışmaların in vitro veya tümöral/normal dokularda gerçekleştirildiği görülmektedir. Ayrıca kanser tipine bağlı olarak ve ilişkili olduğu sinyal yollarında değişimlerden dolayı SHARP1 ve SHARP2' nin bazı malignitelerde sağlıklı dokuya göre düşük seviyede eksprese olduğu görülürken, diğer çalışmalarda malign doku ile sağlıklı doku arasındaki düzeylerinde fark görülemediği veya yüksek seviyede eksprese olduğu belirtilmiştir.

Analysis type by cancer	Cancer vs. normal		Cancer vs. normal	
	DEC1		DEC 2	
Bladder cancer	1		1	
Brain and CNS cancer		2		1
Breast cancer		1		4
Cervical cancer				
Colorectal cancer	9			11
Esophageal cancer		3	1	
Gastric cancer			1	
Head and neck cancer				
Kidney cancer			8	
Leukemia	1	3		3
Liver cancer		1	1	
Lung cancer		2		
Lymphoma	4	1		
Melanoma	1			
Myeloma				
Other cancer	3		1	
Ovarian cancer			1	
Pancreatic cancer	2		2	
Prostate cancer				
Sarcoma	1	1		1
Significant unique analysis	21	14	16	20
Total unique analysis	401		391	

Kırmızı: Aşırı ekspresyon

Mavi: Baskılanmış ekspresyon

Şekil 2: Farklı kanser tiplerinde dokuda SHARP1/2 ekspresyon düzeyleri (52)

AMAÇ

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser tipi olup, kan düzeyleri tespit edilerek tümör davranışını ön görebilecek markerların araştırılmasına tüm hızıyla devam edilmektedir. SHARP1-2'nin birçok kanser türünde tümörler üzerinde farklı etkilere sahip olduğu daha önce gösterilmiştir. Ancak bu çalışmalarda aynı kanser türünde dahi çelişkili sonuçlar bulunmuştur. SHARP1-2 düzeyleriyle alakalı meme kanseriyle alakalı kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda net sonuçlar elde edilememiş olup meme kanserli hastalarda kan düzeyinde henüz bir araştırma yapılmamıştır. Çalışmamızda meme kanserli hastalarda tanı anında, ameliyat öncesi ve ameliyat sonrasında SHARP1 ve SHARP2 ekspresyon seviyelerinde farklılıkları belirleyerek klinikopatolojik verilerle karşılaştırmayı hedefledik. Böylece adjuvan ve neoadjuvan meme kanseri hastalarında SHARP1 ve SHARP2 ekspresyon düzeylerinde değişimlerin prediktif ve prognostik öneminin yanısıra neoadjuvan kemoterapi yanıtı ve cerrahinin bu transkripsiyon faktörleri ile ilişkisinin aydınlatılması hedeflenmiştir.

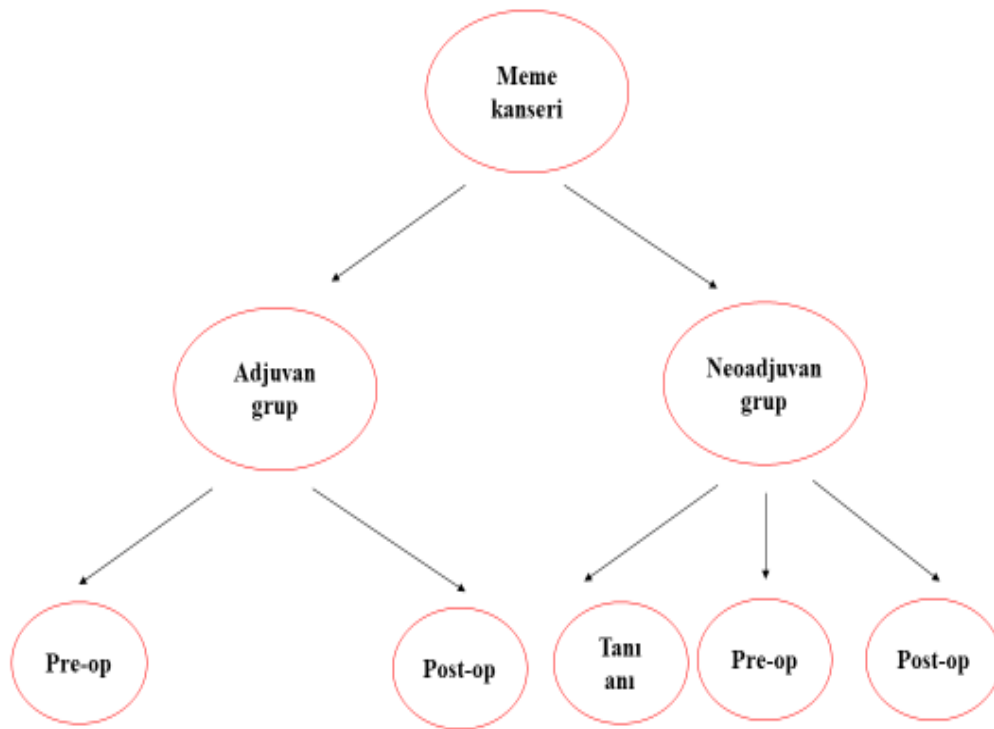
HİPOTEZ

Yapılan çalışmalarda SHARP1 ve SHARP2 ekspresyon düzeylerinin farklı kanser tipleri üzerine farklı etki düzeylerine (tümör süpresör veya onkogenik) sahip olduğu gösterilmiştir. Meme kanserindeki etki mekanizması hakkında henüz net bir konsensüs oluşturulmamıştır. Hipotezimize göre; SHARP1 ve SHARP2 iyi prognostik tümörlerde yüksek ekspresyon seviyelerinde seyrederken, agresif tümörlerde ise ekspresyon seviyeleri düşüktür. Ayrıca, neoadjuvan kemoterapi uygulanan hasta grubunda SHARP1/2 ekspresyon seviyesi yüksek ise komplet cevap oranı daha yüksektir. Sonuç olarak, SHARP1/2 transkripsiyon faktörleri meme kanserinde tümör süpresör olarak görev yaptığını düşünmekteyiz.

MATERYAL- METHOD

Çalışma grubunun oluşturulması

Sakarya Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi'ne 2017 Haziran-2019 Aralık tarihleri arasında başvurmuş hastalardan meme kanseri tanısı alan ve öncelikli tedavi yaklaşımı Neoadjuvan kemoterapi (Grup-1) ve Adjuvan tedavi (Grup-2) grubu olarak belirlenen 50 hasta ile herhangi bir sağlık problemi olmayan yaşları hasta grubun yaş ortalamasına yakın olmak şartıyla 25 sağlıklı kadın dahil edilmiştir (Şekil 3). Hastalardan onamları alınarak kan numuneleri toplanmıştır. Numuneler neoadjuvan kemoterapi alan hastalar için tanı konulmasını takiben, kemoterapi bittikten sonra cerrahi tedavi öncesi ve cerrahi tedaviden 1 ay sonra olarak alınmıştır. Adjuvan tedavi alan hastalarda ise tanı konulmasını takiben ve cerrahi tedavi sonrasında alınmıştır. Sonuçları etkileyeceği düşünülerek; Neoadjuvan grupta tanı anında alınan kanın kemoterapiye henüz başlamadan, cerrahi sonrası alınan kanın da yine kemoterapi tedavisi başlamadan alınmasına özen gösterilmiştir. Hastalardan ve sağlıklı bireylerden alınan bu kan örnekleri deneyler gerçekleştirilinceye kadar -80°C'de saklanmıştır.



Şekil 3: Çalışmaya dahil edilen hasta grupları

RNA İzolasyonu

Çalışma kapsamında yer alan meme kanseri hastalarına ait kan örneklerinden RNA izolasyonları için, Trizol yöntemi kullanıldı. Kan örnekleri üzerine Trizol eklendikten sonra, 200 µl kloroform eklenildi ve 12000 rpm'de 4 °C'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üç faz oluştu. Üstte kalan sıvı faz (aqueous) yeni eppendorf tüpüne toplandı, üzerine 500 µl izopropanol eklenerek inkübe edildikten sonra 12000 rpm'de 4°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı, pellete 1ml %75'lik etanolla eklendi. 7500 rpm'de 4°C'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldı ve pelletler kurumaya bırakıldı. Pelet üzerine 30µl Rnaz içermeyen su eklenerek ısıtıcı blokta 55°C'de 10 dakika bekletildi. RNA'lar çalışılmak üzere -80 °C'de saklandı.

Çalışmamızda izole edilen total RNA örneklerinin miktarı Qubit 4.0 Fluorometer (Invitrogen, ABD) cihazında ölçüldü. 1 µL Qubit® RNA BR Reagent ve 199 µL Qubit® RNA BR Buffer karışımı hazırlandı. Karışım 500 µL'lik Qubit PCR tüplerine aktarıldıktan sonra RNA konsantrasyonları ölçüldü.

RNA'lardan cDNA Sentezi

PCR yöntemi, izole edilen RNA'dan revers transkriptaz enzimi yardımıyla komplementer DNA (cDNA) dönüştürülmesinin yapılabildiği hızlı ve hassas bir yöntemdir. Ölçülen örneklerin cDNA'ya çevrimi için The Applied Biosystems™ High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kiti (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanıldı. PCR tüplerine her örnekten 100 ng alınarak kit protokolüne uygun miktarlarda dH₂O, dNTP Mix (100 mM) ve 10X RT Random Primers koyuldu. Primer bağlanması için Thermal Cycler (Sensoquest, Almanya) PCR cihazında 5 dakika pre-cDNA programına alındı. Sonrasında örnekler soğuk bloğa aktarıldı ve 10X RT Buffer ve MultiScribe™ Reverse Transcriptase ilave edildi. Tekrar PCR cihazına alınan örnekler 25 °C'de 10 dakika, 42°C'de 60 dakika, 80°C'de 5 dakika ve 4°C'de 15 dakika cDNA programına alındı. Reverse Transkripsiyon reaksiyonu sonrası elde edilen cDNA' lar, Nuclease-free H₂O eklenerek bir sonraki aşamaya kadar -20°C' de saklanmıştır.

Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Gen ekspresyon analizleri için günümüzden en yaygın olarak real time PCR (RT-qPCR) yöntemi kullanılmaktadır. RT-qPCR reaksiyonunda gerçekleşen döngülerde üretilen PCR ürününün miktarı, yayılan bir florasan sinyali ile ilişkilendirilmektedir. Reaksiyon döngüsünde, üretilen PCR ürününün miktarı ile florasan sinyali doğru orantılı olarak artar. RT-qPCR’da florasan işaretleyicileri taşıyan, sekansa özel probalar kullanılır. RT-qPCR verileri bir grafikte toplanmakta ve üç farklı aşamada görülmektedir. Gözlenen sinyalle ilgili hafif dalgalanmaların olduğu başlangıç aşaması, artan paralel verilerin bulunduğu logaritmik aşama ve verilerin platoya ulaştığı üçüncü aşama olarak gözlenmektedir.

Çalışmamızda adjuvan ve neoadjuvan gruplarına ait meme kanseri hastalarının ve kontrol grubunun kan numunelerinde SHARP1 ve SHARP2 genleri ve kontrol olarak ACTB (β -Aktin) çalışıldı. İlgili genlerin ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi için TaqMan® Gene Expression Assays (Thermo Fisher Scientific, ABD) primerleri kullanıldı. 96 kuyucuklu plakanın kuyularına TaqMan® Gene Expression Master Mix; primer, nuclease-free H₂O ve cDNA örneği eklenerek pipetlendi. Plakanın üzeri kapatılarak Step One Plus Real Time- PCR (Applied Biosystems, ABD) cihazına yerleştirildi. Reaksiyon sonunda SHARP1 ve SHARP2 genleri ekspresyon seviyelerini gösteren Ct değerleri elde edilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler SPSS 22.0 programı kullanılarak analiz edildi. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sonuçların homojenite testi için Kolmogorov-Smirnov test kullanılmıştır. Nonhomojen dağılım gösteren verilerde SHARP1 ve SHARP2 düzeylerinin klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırılması için Mann-Whitney-U veya Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Korelasyon testi için Spearman’s korelasyon testi kullanılmıştır. SHARP1/2 eşik değeri ROC eğrisi ile belirlenmiştir. Kategorik değişkenler arasında anlamlılık Ki-kare testi ile analiz edilmiştir. Uni-varyant analizde anlamlı olarak değerlendirilen verilere Multi-varyant analiz olarak Logistic regresyon testiyle uygulandı. RT-PCR analizinde elde edilen bulgular RT2 Profiler PCR Array Data Analysis programında değerlendirildi.

SONUÇLAR

SHARP1 ve SHARP2 ekspresyonunun adjuvan grubu hastalarda değerlendirilmesi;

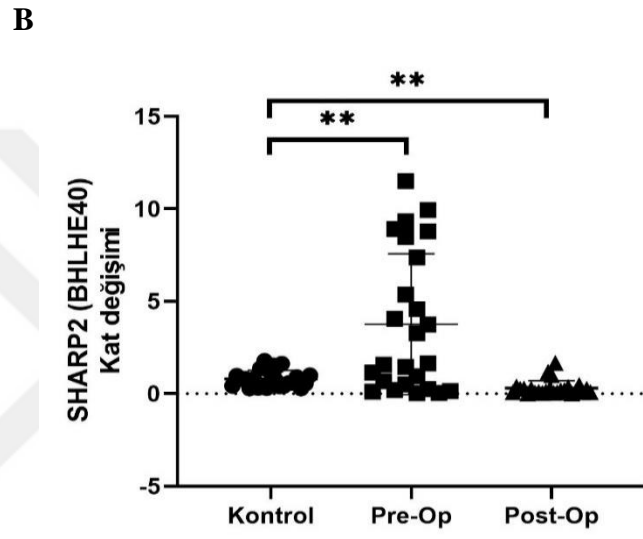
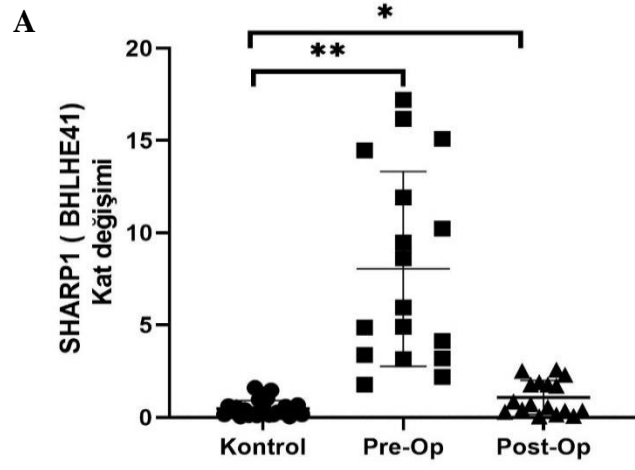
Adjuvan grubu hastalarda ameliyat öncesi ve ameliyat sonrasında toplanan kan örneklerinden RNA izole edildikten sonra gerçekleştirilen RT-PCR analizi ile SHARP1 ve SHARP2 genlerinin ekspresyon düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırılarak belirlenmiş ve elde edilen bulgular Şekil 4-A ve Şekil 4-B'de sunulmuştur.

RT-PCR verilerine göre, adjuvan grubu hastalarda SHARP1 ve SHARP2 genlerinin ekspresyon düzeyleri kontrol grubuna göre ameliyat öncesinde artmasında rağmen, ameliyat sonrasında ekspresyon düzeylerinin istatistik olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir ($p < 0.05$, Şekil 4)

Adjuvan grubu meme kanseri hastalarında, SHARP1 ekspresyon seviyesinin kontrol grubuna göre ameliyat öncesi grupta 3.14-kat arttığı belirlenmesine rağmen, ameliyat sonrası grubunda kontrol grubuna göre 0.25-kat arttığı analiz edilmiştir. Benzer şekilde SHARP2 ekspresyon seviyesinin kontrol grubuna göre cerrahi öncesi grubunda 1.37-kat arttığı belirlenmesine rağmen, cerrahi sonrası grubunda 0.14-kat artmıştır.

	SHARP 1			SHARP 2		
	$2^{-\Delta\Delta CT}$	Kat Değişimi	p	$2^{-\Delta\Delta CT}$	Kat Değişimi	p
PRE-OP	0.01222	3.14	0.00	0.060	1.37	0.003
POST-OP	0.00097	0.25	0.02	0.006	0.14	0.000

Tablo 4: Adjuvan grubu meme kanseri hastalarında SHARP1 ve SHARP2 ekspresyonlarının $2^{-\Delta\Delta CT}$, kat değişimi ve p değerleri



şekil 4A-B: Adjuvan grubu meme kanserli hastalarda ameliyat öncesi ve sonrasında SHARP1 ve SHARP2 genlerinin ekspresyon düzeyleri ($p < 0.05^*$, $p < 0.01^{**}$)

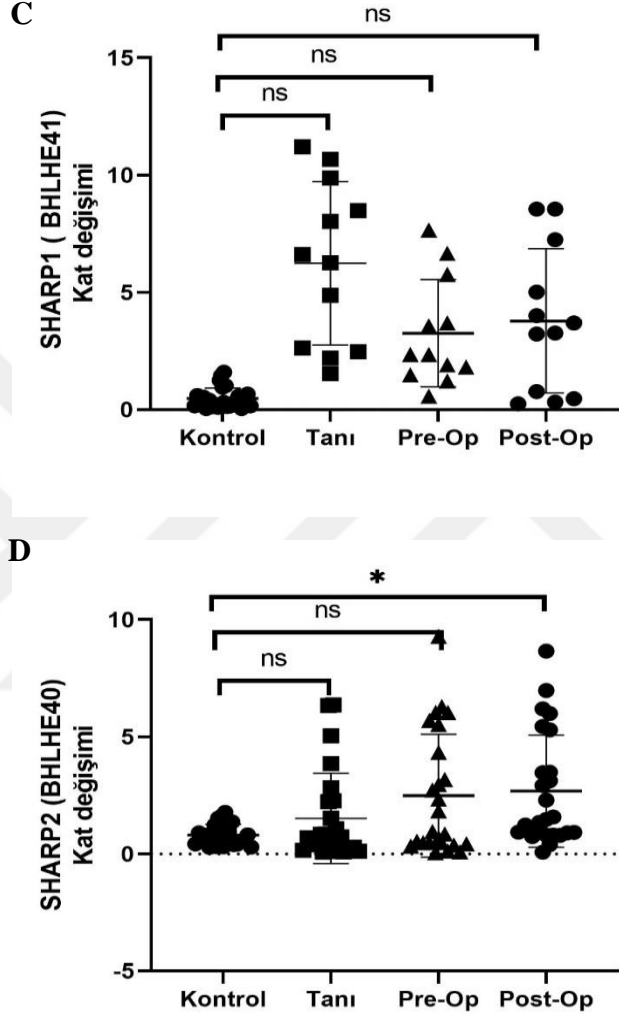
SHARP1 ve SHARP2 ekspresyonunun neoadjuvan grubu hastalarda değerlendirilmesi;

Neoadjuvan grubu hastalarda tanı anı, ameliyat öncesi (Pre-op) ve ameliyat sonrasında (Post-op) toplanan kan örneklerinden RNA izole edildikten sonra gerçekleştirilen RT-PCR analizi ile SHARP1 ve SHARP2 genlerinin ekspresyon düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırılarak belirlenmiş ve elde edilen bulgular Şekil 5'te sunulmuştur.

RT-PCR verilerine göre, neoadjuvan grubu hastalarda ise adjuvan grubunun aksine kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tanı anında, kemoterapi tedavisinde sonra ameliyat öncesinde ve sonrasında SHARP1 ve SHARP2 mRNA seviyelerinin arttığı belirlenmiştir (Tablo 5). Ayrıca kontrol grubuna göre ameliyat sonrası SHARP2'nin ekspresyon seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı analiz edilmiştir.

	SHARP 1			SHARP 2		
	$2^{-\Delta\Delta CT}$	Kat Değişimi	p	$2^{-\Delta\Delta CT}$	Kat Değişimi	p
TANI ANI	0.0083	2.14	0.20	0.02683	0.68	0.433
PRE-OP	0.0077	2.00	0.17	0.05477	1.39	0.122
POST-OP	0,0056	1.45	0,10	0,07082	1,80	0,023

Tablo 5: Neoadjuvan grubu meme kanseri hastalarında SHARP1 ve SHARP2 ekspresyonlarının $2^{-\Delta\Delta CT}$, kat değişimi ve p değerleri



Şekil 5: Neoadjuvan grubu meme kanserli hastalarda SHARP1 ve SHARP2 genlerinin ekspresyon düzeyleri ($p < 0.05^*$, $p < 0.01^{**}$)

Klinikopatolojik Verilerin Analizi

Çalışmaya 50 meme kanseri tanılı hasta ile 25 sağlıklı kadın dahil edilmiştir. Meme kanseri tanılı hastalardan 25'i neoadjuvan tedavi almıştır. Sağlıklı grubun yaş ortalaması 43,3 (31-58 yıl), meme kanseri tanılı grubun yaş ortalaması 54,3 (74-30 yıl), bu gruptan adjuvan tedavi alan grubun yaş ortalaması $58,4 \pm 11,55$ (32-74 yıl), neoadjuvan tedavi alan grubun yaş ortalaması $50,6 \pm 11,46$ (30-68 yıl) olarak bulunmuştur.

Yaş kategorize edildiğinde ise hasta grupta 18 hasta (%36) 50 yaşın altında, 32 hasta (%64) 50 yaşın üzerinde saptanırken; 46 hasta (%92) 70 yaş altı 4 hasta (%8) ise 70 yaş üzeri bulunmuştur. Tanı anında klinik evreler değerlendirildiğinde 14 hasta evre 1 (%28), 26 hasta evre 2 (%52), 9 hasta evre 3 (%18), 1 hasta ise evre 4 (%2) olarak saptanmıştır. Tanıda aksiller ince iğne aspirasyon biyopsisi yapılan 45 hastanın 23'ünde (%51,1) malign lenf nodu bulunurken, 22'sinde (%48,9) malign lenf nodu görülmedi. Tümör histolojik gradelerine bakıldığında ise 7 hastada raporlarda grade belirtilmediği görülmüş olup 12 hastada (%27,9) grade I, 22 hastada (%51,1) grade II, 9 hastada (%21) grade III tümör saptanmıştır.

Tanı anındaki 22 hastada T1 (%44), 24 hastada T2 (%48), 4 hastada ise T3 (%8) tümör saptanmıştır. ER pozitifliği 42 hastada (%84) görülürken; 8 hastada negatifti (%16). PR pozitifliği 38 hastada (%76) görülürken, 12 hastada (%24) görüldü. cErB2 40 hastada (%80) negatif bulunurken, 10 hastada (%20) pozitif olarak değerlendirildi. Moleküler subtiplerde; 22 hasta Luminal A (%44), 19 hasta Luminal B (%38), 3 hasta Her2+ (%6), 6 hasta ise Triple Negatif (%12) olarak bulunmuştur. Ki 67 indeksi ortalama değeri 21,68 (1-75) olarak bulunurken 24 hastada (%48) %15'in altında, 26 hastamızda (%52) ise %15'in üzerindedir.

Lenfatik invazyon varlığı 18 hastada (%36) görülürken, 32 hastada (%64) ise görülmemiştir. Vasküler invazyon varlığı 41 hastada (%82) mevcut değilken 9 hastada (%18) vardı. Nöral invazyon ise 48 hastanın 42'sinde (%87,5) negatif, 6 hastada (%12,5) ise pozitif. Cerrahi sonrası çıkarılan metastatik lenf nodu sayıları

incelendiğinde; 27 hasta (%54) N0, 15 (%30) hasta N1, 4 hasta (%8) N2, yine 4 hastamız (%8) ise N3 olarak raporlanmıştır.

Neoadjuvan tedavi alan grupta; 12 hastada (%48) lenf nodu regresyonu görülürken 13 hastada (%52) lenf nodu regresyonu görülmedi. Sekiz hastada (%32) hem tümör hem aksilla yanıt olurken, 17 (%68) hastada kemoterapiye yanıt görülmedi. Komplet yanıt 11 hastada (%44) bulunurken, 14 hastada (%56) komplet yanıt görülmedi. Miller Payne evrelemesi yapıldığında; 2 hastada Grade 1 yanıt (%8), 1 hastada Grade 2 yanıt (%4), 7 hastada Grade 3 yanıt (%28), 4 hastada Grade 4 yanıt (%16), 11 hastada ise Grade 5 yanıt (%44) gözlemlendi.

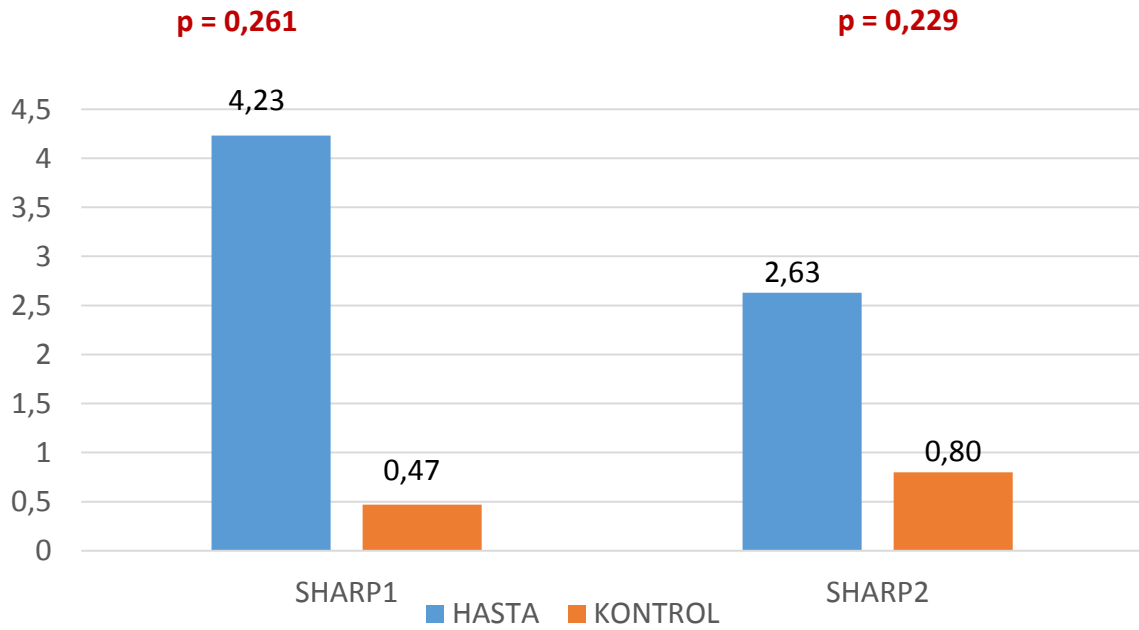
Tüm hasta grubu incelendiğinde tanı anında alınan kanlarda ortalama SHARP1 değeri 4,23 ng/ml olarak, SHARP2 değeri ise 2,63 ng/ml olarak bulundu. Standart sapma hesaplanması sonrası ortalama değerleri ise SHARP1 için $4,23 \pm 5,05$ ng/mL SHARP2 için $2,63 \pm 3,19$ ng/mL idi. Kontrol grubunun ortalama değerleri SHARP1 için $0,47 \pm 0,44$ ng/mL ng/ml, SHARP2 için $0,80 \pm 0,45$ ng/ml olarak bulundu (Tablo 6 – Şekil 6) ($p > 0.05$).

Tüm hasta grubu adjuvan tedavi ve neoadjuvan tedavi alanlar şeklinde edilerek değerlendirildiğinde ise Neoadjuvanlı grupta SHARP1 için ortalama değer $2,99 \pm 3,95$ ng/ml olarak hesaplandı. SHARP2 ortalaması ise $1,51 \pm 1,92$ ng/mL bulundu. Adjuvanlı grupta SHARP1 için ortalama değer $5,47 \pm 5,76$ ng/mL SHARP2 ortalaması ise $3,75 \pm 3,81$ ng/mL bulundu. P değerleri istatistiksel olarak anlamlıya yakın olarak sırasıyla 0,088 ve 0,061 hesaplandı (Tablo 7- Şekil 7)

Meme kanserli hastalarda tanı anında SHARP1-2 düzeyleri sağlıklı gruptakilere göre daha yüksek bulunmuştur ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir. Tanıdan sonra direkt cerrahi tedavi uygulanan hastaların SHARP1-2 düzeylerinin, tedavisi neoadjuvan kemoterapiyle yapılan hastaların SHARP1-2 düzeylerine göre daha yüksek oldukları saptanmıştır. Direkt cerrahi tedavi uygulanan ve neoadjuvan kemoterapi alan hasta gruplarının özellikleri karşılaştırıldığında neoadjuvan tedavi alan hastaların daha ileri evrede olduğu, daha çok lenf nodu pozitifliğine ve daha büyük tümör çapına sahip olduğu görülmüştür. Daha iyi prognostik özelliklere sahip tümörlerde tanıda SHARP1-2 düzeyleri daha yüksektir.

SHARP1	Hasta	4,23 ± 5,05	P= 0,261
	Kontrol	0,47 ± 0,44	
SHARP2	Hasta	2,63 ± 3,19	P=0,269
	Kontrol	0,80 ± 0,45	

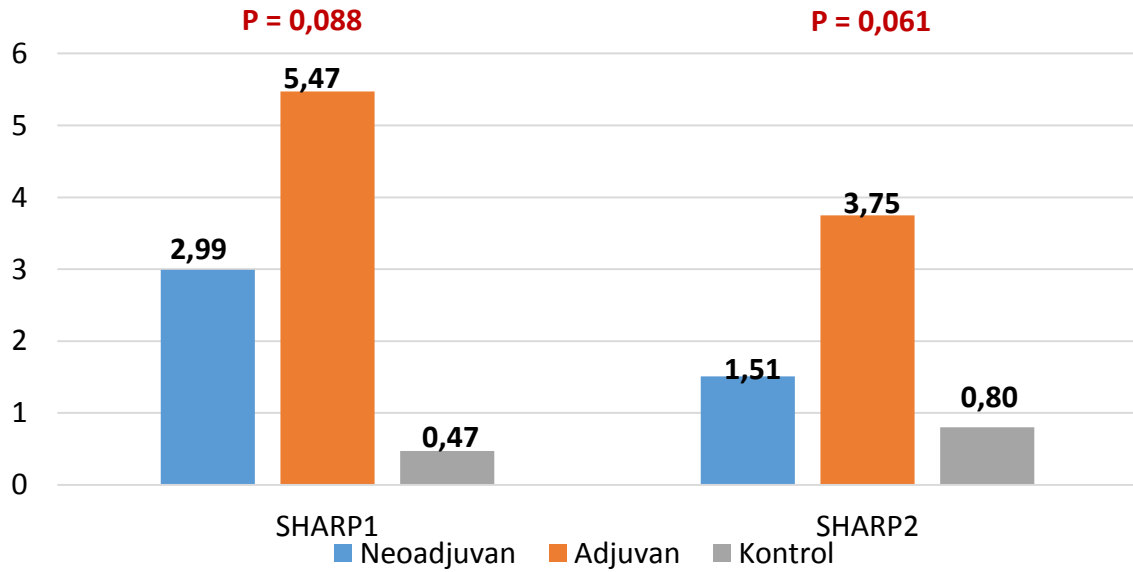
Tablo 6: Hasta ve kontrol grubunun tanı anındaki ortalama SHARP1 ve SHARP2 değerleri ve p değerleri



Şekil 6 : Kontrol grubu ve adjuvan tedavi alan grubun SHARP1-2 düzeyleri ve p değerleri

SHARP1	Neoadjuvan	2,99 ± 3,95 ng/mL	P = 0,088
	Adjuvan	5,47 ± 5,76 ng/mL	
	Kontrol	0,47 ± 0,44 ng/mL	
SHARP2	Neoadjuvan	1,51 ± 1,92 ng/mL	P = 0,061
	Adjuvan	3,75 ± 3,81 ng/mL	
	Kontrol	0,80 ± 0,45 ng/mL	

Tablo 7: Kontrol grubu neoadjuvan ve adjuvan tedavi alan grupların SHARP1-2 düzeyleri, standart sapma ve p değerleri



Şekil 7: Kontrol grubu neoadjuvan ve adjuvan tedavi alan grupların SHARP1-2 düzeyleri ve p değerleri

Hastaların SHARP1-2 değerlerinin tanı anında, preop ve postop değerlerinin kendi aralarındaki ve sayısal klinikopatolojik parametrelerle olan ilişkisini değerlendirebilmek için spearsman non-parametrik korelasyon testi uygulandı.

Neoadjuvan gruptaki hastaların korelasyon testi sonuçları değerlendirilmesinde;
(Tablo 8)

- 1) Tanıdaki SHARP1, preop ve postop SHARP1 ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde pozitif korelasyon gösterdi ($p = 0,00$).
- 2) Preop SHARP1 ile postop SHARP1 değerleri istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon gösterdi ($p = 0,00$).
- 3) Tanı anı SHARP2 ile preop SHARP2 düzeyleri anlamlı bir şekilde pozitif korelasyon gösterdi ($p = 0,009$).
- 4) Preop SHARP2 düzeyleri ile Preop SHARP1 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif korelasyon gösterdi ($p = 0,42$).
- 5) Tanı anı SHARP1 düzeyleri yaş ile negatif korelasyon gösterdi istatistiksel olarak anlamlıya yakın olarak bulundu ($p = 0,052$).
- 6) Tanı anı SHARP1 düzeyleri metastatik lenf nodu varlığı ile negatif korelasyon gösterdi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0,043$).

NEOADJUVAN GRUP		tanı anı sharp1	preop sharp1	postop sharp 1	tanı anı sharp2	preop sharp 2	postop sharp 2	yas	neoadj öncesi boyut	Metastatik LN	ki 67	D vitamin düzeyi
tanı anı sharp1	Correlation Coefficient	1,000	,912**	,870**	,206	,311	-,069	-,393	,150	-,409*	,180	,008
	Sig. (2-tailed)	.	,000	,000	,324	,131	,744	,052	,474	,043	,390	,970
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
preop sharp1	Correlation Coefficient	,912**	1,000	,856**	,459*	,410*	-,100	-,298	,094	-,364	,217	,078
	Sig. (2-tailed)	,000	.	,000	,021	,042	,633	,149	,655	,074	,298	,712
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
postop sharp 1	Correlation Coefficient	,870**	,856**	1,000	,216	,239	,027	-,300	,095	-,283	,200	,206
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	.	,299	,249	,897	,145	,652	,170	,337	,323
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
tanı anı sharp2	Correlation Coefficient	,206	,459*	,216	1,000	,514**	,208	-,183	,154	-,215	,385	,008
	Sig. (2-tailed)	,324	,021	,299	.	,009	,319	,381	,464	,303	,058	,969
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
preop sharp 2	Correlation Coefficient	,311	,410*	,239	,514**	1,000	,179	,019	-,086	-,089	,060	-,353
	Sig. (2-tailed)	,131	,042	,249	,009	.	,392	,928	,682	,671	,776	,083
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
postop sharp 2	Correlation Coefficient	-,069	-,100	,027	,208	,179	1,000	-,158	-,237	,206	,026	-,260
	Sig. (2-tailed)	,744	,633	,897	,319	,392	.	,449	,253	,324	,902	,209
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
yas	Correlation Coefficient	-,393	-,298	-,300	-,183	,019	-,158	1,000	-,128	,222	-,244	,241
	Sig. (2-tailed)	,052	,149	,145	,381	,928	,449	.	,542	,286	,240	,245
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
neoadj öncesi boyut	Correlation Coefficient	,150	,094	,095	,154	-,086	-,237	-,128	1,000	-,190	,303	,031
	Sig. (2-tailed)	,474	,655	,652	,464	,682	,253	,542	.	,364	,141	,882
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Metastatik LN	Correlation Coefficient	-,409*	-,364	-,283	-,215	-,089	,206	,222	-,190	1,000	-,352	-,223
	Sig. (2-tailed)	,043	,074	,170	,303	,671	,324	,286	,364	.	,085	,284
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
ki 67	Correlation Coefficient	,180	,217	,200	,385	,060	,026	-,244	,303	-,352	1,000	,420*
	Sig. (2-tailed)	,390	,298	,337	,058	,776	,902	,240	,141	,085	.	,037
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
D vitamin düzeyi	Correlation Coefficient	,008	,078	,206	,008	-,353	-,260	,241	,031	-,223	,420*	1,000
	Sig. (2-tailed)	,970	,712	,323	,969	,083	,209	,245	,882	,284	,037	.
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

Tablo 8: Neoadjuvan tedavi alan gruptaki hastalarda SHARP1-2 düzeylerinin korelasyon testi

- ➔ Tumorün evresi düştükçe SHARP1-2 düzeyleri pozitif korelasyonla artarken, tumorün evresi ilerledikçe SHARP1-2 düzeyleri azalıyor. SHARP1-2 düzeylerinin yüksekliği veya düşüklüğü tumorün özelliğini belirlemede önemli bir belirteç olabilir.
- ➔ Tanıda SHARP2 ile preop SHARP2 pozitif koreledir.
- ➔ Kemoterapinin etkinliği ile tedavi sonrası tumor evresinin çapının azalması sonucu SHARP2 düzeyleri artmaktadır
- ➔ Tanıda SHARP1 düzeyleriyle metastatik lenf nodu varlığı arası ters korelasyon; Metastatik lenf nodu varlığında SHARP1 seviyeleri düşük, yani iyi prognozla ilişkili ve tumor süpresör özellikte olduğu söylenebilir.
- ➔ Tanı anı SHARP1 ile yaş arası ters korelasyon; yaşlılarda oksidatif stresin arttığı buna bağlı olarak HIF artışı görülebilir. Belirteçlerimizin süpresör özelliğe sahip olduğunu düşündüğümüzden yaşlılarda tumor daha kötü prognoza sahip olabilir.
- ➔ Tanıda SHARP1 ne kadar yüksekse o kadar iyi prognozlu karaktere sahip diyebiliriz.

Tüm hasta grubunun (Neoadjuvan ve adjuvan tedavi alan hastalar) korelasyon testi sonuçları incelendiğinde; (Tablo 9)

Tanıdaki SHARP1 değerleri preop ve postop değerlerle pozitif korelasyon göstermekteydi. İstatistiksel olarak postop ile olan korelasyon anlamlıya yakın iken, tanı anı ve preop SHARP1 değerleri arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,00 ve p=0,07). Preop SHARP1 değerleri Postop SHARP1 ile pozitif korelasyon gösterdi (p=0,044). Tanı anı SHARP1 ile tanı anı SHARP2 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon görüldü (p=0,045).

TÜM HASTA GRUBU		tanı anı sharp1	preop sharp1	postop sharp 1	tanı anı sharp2	preop sharp 2	postop sharp 2	yas	neoadj öncesi boyut	Metastatik LN	ki 67	D vitamin düzeyi
tanı anı sharp1	Pearson Correlation	1	,748**	,251	,285*	,312	-,151	-,033	,133	-,135	-,042	-,081
	Sig. (2-tailed)		,000	,079	,045	,129	,296	,819	,356	,366	,774	,596
	N	50	25	50	50	25	50	50	50	47	50	45
preop sharp1	Pearson Correlation	,748**	1	,406*	,636**	,389	-,149	-,173	,230	-,243	,218	,055
	Sig. (2-tailed)	,000		,044	,001	,054	,478	,407	,269	,242	,294	,792
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
postop sharp 1	Pearson Correlation	,251	,406*	1	,070	,120	,178	-,226	,343*	-,107	,306*	,235
	Sig. (2-tailed)	,079	,044		,627	,569	,216	,115	,015	,473	,030	,120
	N	50	25	50	50	25	50	50	50	47	50	45
tanı anı sharp2	Pearson Correlation	,285*	,636**	,070	1	,358	-,134	,186	,005	-,176	,021	,175
	Sig. (2-tailed)	,045	,001	,627		,079	,354	,195	,974	,237	,886	,251
	N	50	25	50	50	25	50	50	50	47	50	45
preop sharp 2	Pearson Correlation	,312	,389	,120	,358	1	,288	,049	,006	,010	-,062	,037
	Sig. (2-tailed)	,129	,054	,569	,079		,163	,817	,979	,962	,768	,859
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
postop sharp 2	Pearson Correlation	-,151	-,149	,178	-,134	,288	1	-,322*	-,002	-,037	,309*	,156
	Sig. (2-tailed)	,296	,478	,216	,354	,163		,023	,989	,805	,029	,305
	N	50	25	50	50	25	50	50	50	47	50	45
yas	Pearson Correlation	-,033	-,173	-,226	,186	,049	-,322*	1	-,042	,174	-,168	,021
	Sig. (2-tailed)	,819	,407	,115	,195	,817	,023		,773	,242	,243	,891
	N	50	25	50	50	25	50	50	50	47	50	45
neoadj öncesi boyut	Pearson Correlation	,133	,230	,343*	,005	,006	-,002	-,042	1	,038	,327*	-,036
	Sig. (2-tailed)	,356	,269	,015	,974	,979	,989	,773		,798	,021	,814
	N	50	25	50	50	25	50	50	50	47	50	45
Metastatik LN	Pearson Correlation	-,135	-,243	-,107	-,176	,010	-,037	,174	,038	1	-,133	-,200
	Sig. (2-tailed)	,366	,242	,473	,237	,962	,805	,242	,798		,371	,204
	N	47	25	47	47	25	47	47	47	47	47	42

Tablo 9: Tüm hasta grubundaki SHARP1-2 düzeylerinin korelasyon testi

Tanı anındaki ortalama SHARP1-2 değerleri klinikopatolojik ve demografik parametrelerle karşılaştırıldı (Tablo 10). Bu parametreler; yaş, tanıda İİAB ile kanıtlanmış LN pozitifliği, postoperatif patoloji raporunda metastatik lenf nodu varlığı ve sayısı, lenfatik-nöral-vasküler invazyon varlığı, tanıda tümör çapı, klinik evre, neoadjuvan tedavi alan hastalar için lenf nodu regresyonu varlığı, östrojen, progesteron ve cErb2 reseptör pozitifliği, moleküler alt tipler, komplet cevap varlığı, Miller Payne sınıflamasıydı.

Klinikopatolojik parametreler	N (%)		SHARP1	SHARP2
YAŞ				
<50	18 (%36)		4,15 ng/mL	1,80 ng/mL
≥50	32 (%64)		4,27 ng/mL	3,06 ng/mL
			p = 0,57	p = 0,12
Met. LN				
Yok	27 (%54)		4,39 ng/mL	2,68 ng/mL
Var	23 (%46)		4,23 ng/mL	2,58 ng/mL
			p = 0,40	p = 0,97
Patolojik LN				
1-3	15 (%65,2)		4,08 ng/mL	3,18 ng/mL
4-7	4 (%17,3)		7,26 ng/mL	2,03 ng/mL
>7	4 (%17,4)		0,61 ng/mL	0,87 ng/mL
			p = 0,41	p = 0,74
Klinik LN				
Yok	22 (%48,8)		3,59 ng/mL	3,70 ng/mL
Var	23 (%51,1)		4,62 ng/mL	1,56 ng/mL
			p = 0,49	

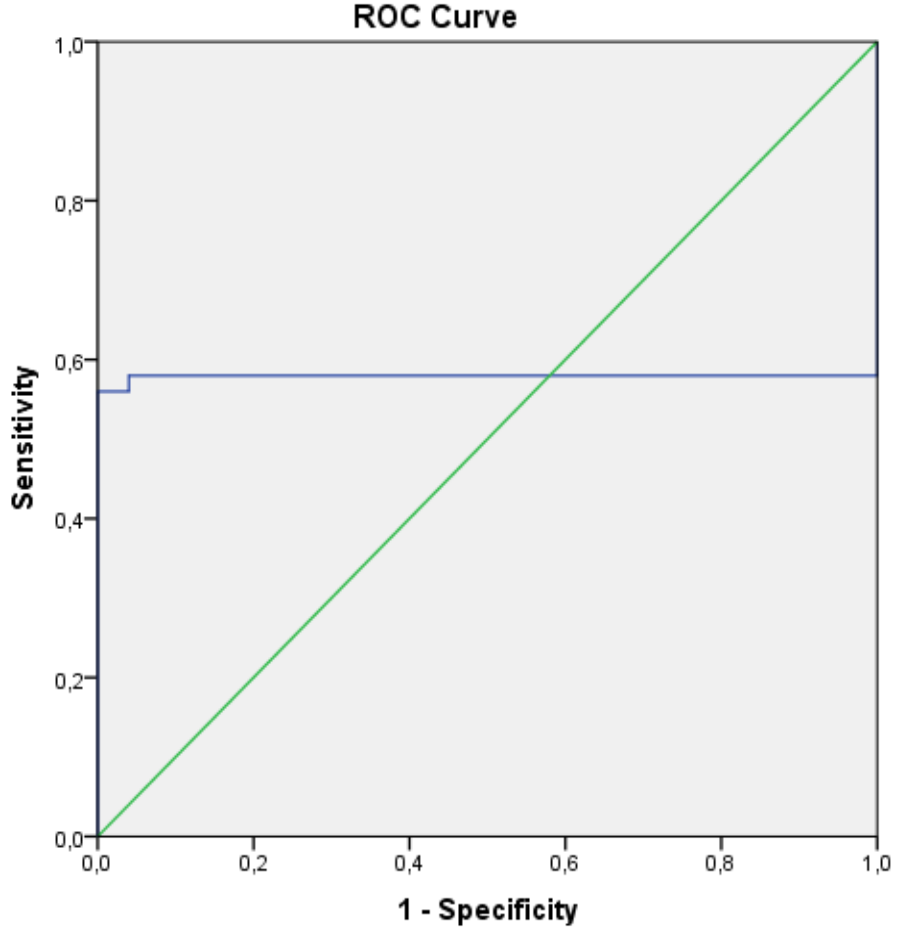
				<i>p = 0,021</i>
Lenfatik invazyon	32 (%64)		3,65 ng/mL	2,38 ng/mL
Yok	18 (%36)		5,43 ng/mL	3,25 ng/mL
Var			<i>p = 0,52</i>	<i>p = 0,40</i>
LN regresyonu				
Yok	13 (%52)		1,56 ng/mL	0,99 ng/mL
Var	12 (%48)		4,09 ng/mL	1,23 ng/mL
			<i>p = 0,18</i>	<i>p = 0,18</i>
Klinik Evre				
I	14 (%28)		5,25 ng/mL	4,79 ng/mL
II	26 (%52)		2,97 ng/mL	1,89 ng/mL
III	9 (%18)		6,58 ng/mL	1,67 ng/mL
IV	1 (%2)		1,53 ng/mL	0,38 ng/mL
			<i>p = 0,22</i>	<i>p = 0,023</i>
Tümör çapı				
<2 cm	22 (%44)		3,50 ng/mL	3,31 ng/mL
2-5 cm	24 (%48)		4,43 ng/mL	1,74 ng/mL
> 5 cm	4 (%8)		7,03 ng/mL	4,21 ng/mL
			<i>p = 0,31</i>	<i>p = 0,38</i>
Moleküler subtip				
Luminal A	22 (%44)		3,36 ng/mL	2,76 ng/mL
Luminal B	19 (%38)		4,68 ng/mL	1,63 ng/mL
Her2 +	3 (%6)		6,37 ng/mL	3,83 ng/mL
Triple (-)	6 (%12)		4,89 ng/mL	4,73 ng/mL

			p = 0,49	p = 0,12
Vasküler invazyon	41 (%82)		4,36 ng/mL	2,50 ng/mL
Yok	9 (%18)		3,86 ng/mL	3,48 ng/mL
Var			p = 0,75	p = 0,60
Nöral invazyon				
Yok	42 (%87,5)		4,45 ng/mL	1,86 ng/mL
Var	6 (%12,5)		2,88 ng/mL	2,80 ng/mL
			p = 0,82	p = 0,09
Komplet Yanıt				
Yok	14 (%56)		3,20 ng/mL	0,77 ng/mL
Var	11 (%44)		2,72 ng/mL	2,45 ng/mL
			p = 0,76	<u>p = 0,026</u>
Miller Payne				
1	2 (%8)		1,23 ng/mL	0,2 ng/mL
2	1 (%4)		0,0 ng/mL	0,42 ng/mL
3	7 (%28)		1,52 ng/mL	0,89 ng/mL
4	4 (%16)		5,46 ng/mL	1,43 ng/mL
5	11 (%44)		3,61 ng/mL	2,45 ng/mL
			p = 0,52	<u>p = 0,022</u>

Tablo 10: Tanı anındaki ortalama SHARP1-2 değerlerinin klinikopatolojik ve demografik parametrelerle karşılaştırılması

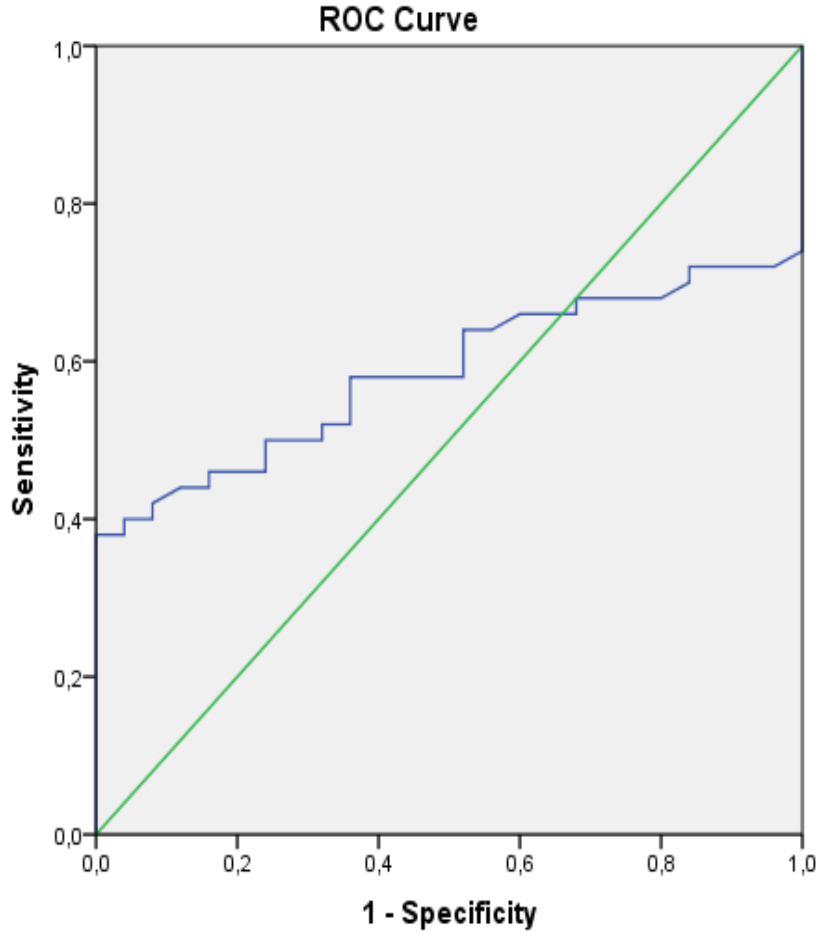
- ➔ Tanı anında SHARP2 düzeyi düşük olan hastalarda lenf nodu metastaz varlığı daha fazla görüldü (**p = 0,021**).
- ➔ Tanı anında yapılan klinik evrelemede evre ilerledikçe SHARP2 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma gösterdi (**p = 0,023**).
- ➔ Neoadjuvan tedavi alan grupta komplet yanıt varlığı değerlendirildi. Komplet yanıt olan hastalarda SHARP2 düzeylerinin daha yüksek olduğu saptandı (**p = 0,026**).
- ➔ Neoadjuvan tedavi alan grupta Miller Payne evrelemesi yapıldığında; MP derecesi arttıkça SHARP2 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı. Kemoterapiye ne kadar etkin cevap olursa tanıda SHARP2 düzeyleri o kadar yüksekti. (**p = 0,022**)

SHARP1 için ROC (receiver operating characteristic) eğrisi çizildi ve eşik değeri 0,81 ng/ml olarak saptandı (Şekil 8).



Şekil 8: SHARP1 için eşik değeri 0,81 ng/mL belirlendi. (Ortalama: 4,3 ng/mL/Ortanca: 2,2 ng/mL). Bu eşik değeri için duyarlılık %58, özgüllük %68 olarak saptandı.

SHARP2 için ROC (receiver operating characteristic) eğrisi çizildi ve eşik değeri hesaplandı.0,74 ng/ml olarak bulundu (Şekil 9).



Şekil 9 : SHARP2 için eşik değeri 0,74 ng/ml olarak belirlendi (Ortalama : 1,56 ng/ml /Ortanca : 4,1 ng/ml). Bu eşik değeri için duyarlılık %52, özgüllük %68 olarak saptandı.

Tanıdaki, preop ve postop SHARP1-2 düzeylerinin tamamına eşik değerleri baz alınarak kategorize edildi ve klinikopatolojik parametrelerle Ki Kare testi ile karşılaştırıldı. Tüm hasta grubu ve neoadjuvan tedavi alan gruplar ayrı ayrı değerlendirildi.

Tablo 11 : Tüm hasta grubunda tanı, preop ve postop SHARP1 değerlerinin **0,81 ng/ml** eşik değerinin klinikopatolojik verilerle karşılaştırılması

Parametreler	N	%	S1 Tanı <	S1 Tanı >	S1Preop<	S1Preop>	S1Postop<	S1 Postop >
Yaş								
<50	17	34	5 (%29)	12 (%71)	6 (%35)	11 (%65)	11 (%64,8)	6 (%35,2)
>50	33	66	16 (%48)	17 (%52)	15 (%45)	18 (%55)	23 (%69,6)	10 (%30,4)
				p = 0,19		p = 0,39		p = 0,72
Tümör çapı								
0-2 cm	22	44	11 (%50)	11 (%50)	7 (%87,5)	1 (%12,5)	3 (%13,7)	19 (%86,3)
2-5 cm	24	48	9 (%37,5)	15(%62,5)	6 (%42,8)	8 (%57,2)	9 (%37,5)	15 (%62,5)
>5cm	4	8	1 (%25)	3 (%75)	1 (%33,3)	2 (%66,6)	3 (%75)	1 (%25)
				p = 0,53		p = 0,89		p = 0,026
Klinik LN								
Yok	20	43,5	10(%45,4)	12(%54,4)	3 (%60)	2 (%40)	15 (%68,1)	7 (%31,9)
Var	26	56,5	10(%41,6)	14(%58,4)	11 (%55)	9 (%45)	15 (%62,5)	9 (%37,5)
				p = 0,79		p = 0,63		p = 0,68
Metastatik LN								
Yok	27	54	9 (%33,3)	18(%66,6)	6 (%42,8)	8 (%57,2)	18 (%66,6)	9 (%33,3)
Var	23	46	12(%52,1)	11(%47,9)	8 (%72,7)	3 (%27,3)	16 (%69,5)	7 (%30,5)
				p = 0,17		p = 0,13		p = 0,82
Klinik Evre								
1	14	28	4 (%42,8)	10(%57,2)	1 (%100)	0 (%0)	11 (%78)	3 (%22)
2	26	52	14(%53,9)	12(%46,1)	10 (%62)	6 (%38)	17 (%65)	9 (%35)
3	9	18	3(%33,3)	6(%66,6)	3 (%42,8)	4 (%57,2)	6 (%66,6)	3 (%33,3)
4	1	2	0 (%0)	1 (%100)	0 (%0)	1 (%100)	0 (%0)	1 (%100)
				p = 0,31		p = 0,42		p = 0,40

Patolojik Evre								
1	8	16	3 (%37,5)	5 (%62,5)	3 (%37,5)	5 (%62,5)	4 (%50)	4 (%50)
2	14	28	5 (%35,7)	9 (%64,3)	4 (%57,1)	3 (%42,9)	11 (%78,5)	3 (%21,5)
3	17	34	7 (%41,1)	10(%58,9)	2 (%50)	2 (%50)	11 (%64,7)	6 (%35,3)
4	11	22	6 (%28,5)	15(%71,5)	5 (%83,3)	1 (%16,7)	8 (%72,7)	3 (%27,3)
				p = 0,79		p = 0,39		p = 0,55
Lenfatik inv.								
Yok	32	65,3	14(%43,7)	18(%56,3)	8 (%34)	10 (%66)	22 (%68,7)	10 (%31,3)
Var	17	34,7	7 (%41,1)	10(%58,9)	6 (%85,7)	1 (%15,3)	11 (%64,7)	6 (%35,3)
				p = 0,86		p = 0,062		p = 0,77
Nöral İnv.								
Yok	42	87,5	17(%40,4)	25(%59,6)	10 (%27)	11(%52,3)	27 (%64,2)	15 (%35,8)
Var	6	12,5	4 (%66,6)	2 (%33,3)	4 (%100)	0 (%0)	5 (%83,3)	1 (%16,7)
				p = 0,22		p = 0,043		p = 0,07
Subtip								
Luminal A	22	44	10(%45,4)	12(%54,6)	6 (%85,2)	1 (%14,8)	17 (%77,2)	5 (%22,8)
Luminal B	19	38	9 (%47,3)	10(%52,7)	7 (%63,6)	4 (%36,7)	14 (%73,6)	5 (%26,4)
Her2 +	3	6	0 (%0)	3 (%100)	0 (%0)	3 (%100)	1 (%33,3)	2 (%66,6)
Triple (-)	6	12	2 (%33,3)	4 (%66,6)	1 (%25)	3 (%75)	2 (%33,3)	4 (%66,6)
				p = 0,44		p = 0,043		p = 0,10
ER								
Negatif	8	16	2 (%25)	6 (%75)	15 (%83)	3 (%17)	5 (%62,5)	3 (%37,5)
Pozitif	42	84	19(%45,2)	23(%54,8)	2 (%29)	5 (%71)	11 (%26,2)	31 (%73,8)
				p = 0,28		p = 0,026		p = 0,044

Tüm hasta grubunda SHARP1 seviyeleri eşik değere göre sınıflandırılarak klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırıldığında;

- ➔ Postop SHARP1 seviyelerinin eşik değerin üzerinde seyrettiği hastalarda tümör çapının küçük olduğu ve östrojen reseptörünün pozitif olduğu görüldü (Tablo 11) (**p=0,026, p=0,044**). İyi prognostik özellikler ile SHARP1 seviyelerinin eşik değerden yüksek bulunması SHARP 1'in tümör süpressör özelliği olduğunu desteklemekteydi.

Tablo 12: Neoadjuvan tedavi alan hasta grubunda tanı, preop ve postop SHARP1 değerlerinin 0,81 ng/ml eşik değerinin klinikopatolojik verilerle karşılaştırılması

Parametreler	N	%	Tanı <0.81	Tanı >0.81	Preop <0.81	Preop >0.81	Postop <0.81	Postop >0.81
Tümör-aksilla Tam Yanıt								
Yok	17	68	11(%64,7)	6 (%35,3)	12 (%71)	5 (%29)	14 (%82,3)	3 (%17,7)
Var	8	32	2 (%25)	6 (%75)	2 (%25)	6 (%75)	3 (%37,5)	5 (%62,5)
				p = 0,06		p = 0,03		p = 0,02
Komplet cevap								
Yok	14	56	8 (%57,1)	6 (%42,9)	9 (%64,2)	5 (%35,8)	11 (%78,5)	3 (%21,5)
Var	11	44	5 (%45,4)	6 (%54,6)	5 (%45,4)	6 (%54,6)	6 (%54,6)	5 (%45,4)
				p = 0,56		p = 0,34		p = 0,20
LN Regresyonu								
Yok	11	55	8 (%72,7)	3 (%27,3)	8 (%72,7)	3 (%27,3)	8 (%72,7)	3 (%27,3)
Var	9	45	4 (%44,4)	5 (%55,5)	4 (%44,4)	5 (%55,5)	6 (%66,6)	3 (%33,3)
				p = 0,19		p = 0,19		p = 0,76
Neoadjuvan sonrası DCIS								
Yok	16	64	7 (%53,8)	6 (%46,2)	8 (%50)	8 (%50)	10 (%62,5)	6 (%37,5)
Var	9	36	9 (%75)	3 (%25)	6 (%66,6)	3 (%33,3)	6 (%66,6)	3 (%33,3)
				p = 0,27		p = 0,42		p = 0,83

Neoadjuvan tedavi alan hasta grubunda SHARP1 seviyeleri eşik değere göre sınıflandırılarak klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırıldığında; (Tablo 12)

➔ Tanıda, preop ve postop SHARP1 seviyeleri yüksek olanlarda komplet tümör ile aksiller tam yanıt oranı daha yüksek bulunmuştur (**p=0,06/p=0,03/p=0,02**) (Tablo 12).

Tablo 13: Tüm hasta grubunda tanı, preop ve postop SHARP2 değerlerinin **0,74 ng/ml** eşik değerinin klinikopatolojik verilerle karşılaştırılması

Parametre	N	%	S2 Tanı <	S2 Tanı >	S2 Preop <	S2 Preop >	S2Postop <	S2Postop >
Yaş								
<50	17	%34	8 (%47)	9 (%53)	6 (%60)	4 (%40)	6 (%35,2)	11(%64,8)
>50	33	%66	13(%39)	20 (%61)	6 (%40)	9 (%60)	19 (%57)	14 (%43)
				p = 0,60		p = 0,32		p = 0,13
Tümör çapı								
0-2 cm	22	%44	8(%36,3)	14(%63,7)	4 (%50)	4 (%50)	14 (%64)	8 (%37)
2-5 cm	24	%48	12 (%50)	12 (%50)	6 (%42)	8 (%58)	13 (%54)	11 (%46)
>5cm	4	%8	1 (%25)	3 (%75)	1 (%33)	2 (%67)	3 (%75)	1 (%25)
				p = 0,49		p = 0,87		p = 0,65
Klinik LN								
Yok	22	%48	7(%31,8)	15 (%68)	10 (%46)	12 (%54)	4 (%18)	18 (%82)
Var	24	%52	16 (%64)	9 (%36)	12 (%50)	12 (%50)	20 (%83)	4 (%17)
				p = 0,04		p = 0,056		p = 0,01
Patoloji Met LN								
Yok	27	%54	11(%41)	16 (%59)	6 (%42,8)	8 (%57,2)	14(%52)	13 (%48)
Var	23	%46	10 (%43)	13(%57)	5 (%45,4)	6(%54,6)	11(%48)	12(%52)
				p = 0,84		p = 0,89		p = 0,77
Klinik Evre								
1	14	%28	3(%21,4)	11(%78,6)	1 (%100)	0 (%0)	12 (%85)	2 (%15)
2	26	%52	12 (%46)	14 (%54)	8 (%50)	8 (%50)	10(%38)	16 (%62)
3	9	%18	5(%55,5)	4 (%44,5)	2 (%28,5)	5 (%71,5)	3 (%33,3)	6 (%66,6)
4	1	%2	1 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%100)
				p = 0,19		p = 0,35		p = 0,01

Patolojik Evre								
1	8	%16	2(%33,3)	6 (%66,6)	4 (%50)	4 (%50)	1 (%12,5)	7 (%87,5)
2	14	%28	5(%35,7)	9 (%64,3)	3 (%42,8)	4 (%57,2)	7 (%50)	7 (%50)
3	17	%34	8 (%47)	9 (%53)	2 (%50)	2 (%50)	4 (%23,5)	13(%76,5)
4	11	%22	6(%54,5)	5 (%54,5)	2 (%33,3)	4 (%66,6)	4 (%36,3)	7 (%63,7)
				p = 0,55		p = 0,55		p = 0,01
Lenfatik invazyon								
Yok	32	%65	13 (%41)	19 (%59)	8 (%44)	10 (%56)	15 (%47)	17 (%53)
Var	17	%35	7(%41,2)	10(%58,8)	3 (%43)	4 (%57)	10 (%59)	7 (%41)
				p = 0,97		p = 0,94		p = 0,42
Vasküler invazyon								
Yok	40	%82	16 (%40)	24 (%60)	9 (%43)	12 (%57)	20 (%50)	20 (%50)
Var	9	%18	4(%44,4)	5 (%55,5)	2 (%50)	2 (%50)	5 (%52,4)	4 (%47,8)
				p = 0,80		p = 0,79		p = 0,76
Nöral invazyon								
Yok	42	%87	17 (%41)	25 (%5)	9 (%43)	12 (%57)	22 (%52)	20 (%48)
Var	6	%13	5(%83,3)	1 (%16,7)	2 (%50)	2 (%50)	2 (%33,3)	4 (%66,6)
				p = 0,049		p = 0,79		p = 0,38
Moleküler Subtip								
Luminal A	22	%44	9(%40,9)	13(%59,1)	4 (%57,1)	3 (%42,9)	15 (%68)	7 (%32)
Luminal B	19	%38	11(%58)	8 (%42)	4 (%36,3)	7 (%63,7)	10(%53)	9 (%47)
Her2 +	3	%6	1(%33,3)	2(%66,6)	2(%66,6)	1(%33,3)	1(%33,3)	2(%66,6)
Triple (-)	6	%12	0 (%0)	6(%100)	1(%25)	3(%75)	4(%66,6)	2(%33,3)
				p = 0,09		p = 0,58		p = 0,56
ER								
Negatif	8	%16	7(%87,5)	1 (%12,5)	3(%50)	3 (%50)	2 (%33,3)	6 (%66,6)
Pozitif	42	%84	20(%48)	22 (%52)	8(%42)	11(%58)	23(%55)	19 (%45)
				p = 0,045		p = 0,73		p = 0,12

Tüm hasta grubunda SHARP2 seviyeleri eşik değere göre sınıflandırılarak klinikopatolojik parametrelerle kıyaslandığında; (Tablo 13)

- ➔ Postop yüksek SHARP2 seviyeleri düşük patolojik ve klinik evreyle uyumlu idi.
- ➔ Lenf nodu negatifliği görülen hastalarda, tanı anında, preop ve postop SHARP2 seviyeleri yüksek seyretmektedir.
- ➔ Tanıda yüksek SHARP2 düzeyleri olan hastalarda nörovasküler invazyon görülmedi.
- ➔ Östrojen reseptör pozitifliği olan hastalarda tanı anında SHARP2 düzeyleri daha yüksekti.

Tablo 14: Neoadjuvan tedavi alan grupta tanı, preop ve postop SHARP2 değerlerinin **0,74 ng/ml** eşik değerinin klinikopatolojik verilerle karşılaştırılması

Parametreler	N	%	Tanı <	Tanı >	Preop <	Preop >	Postop <	Postop >
Kemoterapiye tümör-aksilla yanıtı								
Yok	17	%68	11(%64,7)	6 (%35,3)	7 (%41)	10 (%59)	2 (%11)	15 (%89)
Var	8	%32	2 (%25)	6 (%75)	4 (%50)	4 (%50)	0 (%0)	8 (%100)
				p = 0,05		p = 0,68		p = 0,31
Komplet cevap								
Yok	14	%56	10 (%70)	4 (%30)	5 (%35)	9 (%65)	1 (%7)	13 (%93)
Var	11	%44	3 (%27,2)	8 (%72,8)	6(%54,4)	5 (%45,6)	1 (%9,9)	10(%90,1)
				p = 0,028		p = 0,34		p = 0,85
LN regresyonu								
Yok	11	%55	7 (%63,6)	4 (%36,4)	5(%45,4)	6 (%54,6)	0 (%0)	11 (%100)
Var	9	%45	5 (%55)	4 (%45)	5 (%55)	4 (%45)	4 (%45)	5 (%55)
				p = 0,51		p = 0,80		p = 0,13
Neoadjuvan KT sonrası DCIS								
Yok	16	%64	6 (%37,5)	10(%62,5)	6(%37,5)	10(%62,5)	2(%12,5)	14(%87,5)
Var	9	%36	7 (%77,7)	2 (%22,2)	5(%55,5)	4 (%44,4)	0 (%0)	9 (%100)
				p = 0,04		p = 0,38		p = 0,26

Neoadjuvan tedavi alan hasta grubunda SHARP2 seviyeleri eşik değere göre sınıflandırılarak klinikopatolojik parametrelerle kıyaslandığında; (Tablo 14)

- ➔ Tanıda SHARP2 düzeyi yüksekliği komplet cevap varlığı olacağı anlamına gelmektedir (**p=0,05**).
- ➔ Tanıda SHARP2 seviyeleri eşik değerinin altında ise tümör ve aksilla yanıtının az olacağı anlamına geliyor (**p=0,028**).
- ➔ Tanıda SHARP2 düzeyleri eşik değerinin üzerindeyse; neoadjuvan sonrası DCIS odaklarının o kadar az olacağı anlamına geliyor (**p=0,04**).
- ➔ Tüm bu veriler bize SHARP2'nin de tıpkı SHARP1 gibi tümör süpressör özellikte olduğunu gösteriyor.

Univaryant analiz yapılarak logistic regresyon testi uygulandı. Komplet cevaba etkili faktörler arasında; tanıda SHARP2 seviyeleri, moleküler subtipler, östrojen reseptör pozitifliği ve patolojik evre istatistiksel olarak anlamlı bulundu (**p=0,028/p=0,044/p=0,026/p=0,02**) (Tablo 15). Multivaryant analiz yapıldığında Komplet cevaba etkili bağımsız faktörlerde Patolojik evre ve subtipler anlamlı olarak bulunmuştur (**p= 0,001**) (**p = 0,000**).

		KOMPLET CEVAP		
SHARP2 düzeyi		YOK	VAR	
< 0,74	12 (%48)	8 (%66,6)	4 (%33,3)	
≥ 0,74	13 (%52)	3 (%23)	10 (%67)	
	25 (%100)	11 (%44)	14 (%56)	p = 0,028
Moleküler Subtip				
Luminal A	7 (%28)	5 (%71,5)	2 (%28,5)	
Luminal B	11 (%44)	8 (%72,8)	3 (%27,2)	
Her2 +	2 (%8)	0 (%0)	2 (%100)	
Triple (-)	5 (%20)	1 (%20)	4 (%80)	
	25 (%100)	14 (%56)	11 (%44)	p = 0,044
ER				
Negatif	14 (%56)	13 (%92,9)	1 (%7,1)	
Pozitif	11 (%44)	6 (%54,6)	5 (%45,4)	
	25 (%100)	19 (%76)	6 (%24)	p = 0,026
Patolojik Evre				
0	8 (%32)	0 (%0)	8 (%100)	
1	7 (%28)	6 (%85,8)	1 (%14,2)	
2	4 (%16)	3 (%75)	1 (%25)	
3	6 (%24)	5 (%83,4)	1 (%16,6)	
	25 (%100)	14 (%56)	11 (%44)	p = 0,02

Tablo 15: Uni-varyant analiz sonucu komplet cevaba etkili faktörler

Tanıdaki SHARP2 değerlerinin yüksekliği istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde komplet cevabın varlığını göstermektedir.

TARTIŞMA

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanseri tipidir. Tanı sonrası uygulanacak tedavi modalitesinin uygunluğuna göre sağkalım oranları arttırılabilir. Ancak meme kanseri tanısı alan hastalarda kandaki seviyeleri değerlendirilerek tümörün prognozunu ön görebilecek, tümörün seyri ve metastaz kabiliyetiyle alakalı bilgi verebilecek faktörler halen net olarak belirlenmemiştir.

Güncel çalışmalar özellikle tümör oluşum mekanizmaları ve gelişebilecek ilaç direnci üzerine etkili faktörleri araştırmaya devam etmektedir. SHARP1-2 transkripsiyon faktörlerinin henüz tanımlanamamış birçok mekanizma üzerinden tümörün proliferasyon, migrasyon, invazyon ve metastaz gibi özelliklerinin üzerinde pozitif veya negatif etkilerinin olduğunu belirten araştırmalar mevcuttur. Birçok kanser tipinde bu araştırmalar yapılmış ancak çelişkili sonuçlar daha ileri araştırmalar yapılmasını zorunlu hale getirmiştir. Bu çelişkili sonuçlar sadece meme kanseriyle alakalı çalışmalarda değil diğer tümör tiplerinde de görülmektedir. Literatürdeki SHARP1-2 ile ilgili malignite alt grupları ve özellikle de meme kanseriyle ilgili kısıtlı sayıdaki çalışmadan kısaca bahsetmek gerekirse;

SHARP1

Sato ve arkadaşları sisplatin tedavisi uygulanan özofagus squamoz hücreli kanser tanımlı hastalarda SHARP1'i tümör gelişimini inhibe edici bir faktör olarak tanımlarken, Liang ve arkadaşları SHARP1'i özofagus squamoz hücreli kanserde tümörün proliferasyon ve invazyonunu arttıran bir belirteç olarak tanımlamıştır (54,55).

Shen ve arkadaşları, Renal karsinoma hücrelerinde SHARP1 üzerine çalışmalar yapmış ve pro-apoptotik bir belirteç olarak tümörün metastaz yapma kabiliyetine katkıda bulunduğunu ifade ederken; Liao ve arkadaşları bir başka kanser tipi olan endometrium kanserinde HIF1a seviyelerini azaltarak anjiyogenezi durdurup tümörü baskılayıcı özellik gösterdiğini bildirmişlerdir (56,57). Zhou ve arkadaşlarının SHARP1'in tiroid kanseri üzerine etkisini araştırdığı çalışmalarında in vitro hücre migrasyon ve invazyonunu önemli ölçüde inhibe ederek tümörün ilerlemesini durdurmada katkısı olduğunu ifade etmişlerdir (58). Hu ve arkadaşları SHARP1 ile alakalı birkaç yayında belirtilen SHARP1'in HIF 1 α 'yı inhibe ederek antimetastatik

etki göstermesine karşıt çalışma olarak; osteosarkomlarda HIF-1 α ile SHARP1'in pozitif korelasyon gösterdiğini ve yüksek ekspresyon durumunda prognozu azaltan birer faktör olduklarını belirtmiştir (59).

Ping ve arkadaşları SHARP1'i mide kanserinde lenf nodu metastazı, tümör evresi ve prognoz ile ilişkili bularak tümör baskılayıcı gen olarak ifade etmiştir. Sato ve arkadaşları pankreas kanserinde, Liu ve arkadaşları prostat kanserinde, Numata ve arkadaşları Akut Myeloid Lösemide, Wu ve arkadaşları ise oral kanserlerde SHARP1'in tümör invazyonunu azalttığını göstermişlerdir (60,63).

Meme kanserinde SHARP1 ekspresyon seviyelerini araştıran çalışmaları incelendiğinde;

Fang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada literatür derlemesinin yanı sıra özgün 10 meme kanserli dokudaki SHARP1 mRNA düzeyleri ile sağlıklı dokudaki ekspresyon seviyeleri kıyaslanmış, düşük SHARP1 düzeylerinin agresivite ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. SHARP1 geninin inhibisyonunun tümör invazyonunda önemli artış sağladığı belirlenmiştir. Alt grup analizinde ise Östrojen reseptörü pozitif meme kanserli hastalarda düşük SHARP1 düzeyleri yine kötü prognostik faktör olarak değerlendirilmiştir (52).

Stefano Piccolo ve arkadaşları triple negatif meme kanserli fare modellerinde yaptıkları çalışmada SHARP1'in p63 ve TGF- β inaktivasyonu yoluyla tümör baskılayıcı gen olarak görev yaptığını belirtmişlerdir (53).

Montagner ve arkadaşları SHARP1 düzeylerinin, p63 metastaz baskılayıcı tarafından düzenlendiğini ve HIF-1 α 'nın inhibisyonu yoluyla triple negatif meme kanserinde agresifliği azalttığını göstermişlerdir (41).

Liu ve Zhang ise MCF-7 meme kanseri hücre kültürü çalışmalarında; SHARP1'in anti-apoptotik etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir (5,64).

Sonuç olarak meme kanserinde yapılan çalışmalarda SHARP1 tümör baskılayıcı bir gen olarak ön plana çıkmıştır.

Çalışmamızda SHARP1 sonuçlarını yorumlanması;

Tanıda metastatik lenf nodu varlığında SHARP1 ekspresyon seviyelerinin düşük belirlenmesi, neoadjuvan tedavi alan grupta tümör ve aksillar tam yanıtta SHARP1 ekspresyon düzeyinin yüksek görülmesi, tanı preop ve postop kanlarında pozitif korelasyon analiz edilmesi ve iyi bir prognostik özellik olan östrojen reseptör pozitifliği varlığında SHARP1 seviyelerinin eşik değerden yüksek bulunması SHARP1'in tümör baskılayıcı özellikte olduğunu göstermektedir. SHARP1 düzeylerinin kandaki yüksekliği veya düşüklüğü tümörün özelliğini belirlemede önemli bir biyobelirteç olma potansiyeline sahip olabilir.

SHARP2

Malignite tanısı alan hastalarda yapılan SHARP2 ekspresyon seviyeleriyle alakalı çalışmaların sonuçlarında ciddi çelişkiler yer almaktadır. Aynı tümör tiplerinde dahi birden fazla çalışmada tümör baskılama veya aktivasyonu konusunda karşıt görüşler bildirilmiştir. Literatürdeki bu çalışmalardan anlamlı sonuç alınanlara değinmek gerekirse;

Qing Xu ve arkadaşları özofagus squamoz hücreli kanserinde kanserli dokular ile sağlıklı dokuları karşılaştırarak, SHARP2 ekspresyon seviyelerini klinik ve patolojik parametrelerle kıyaslamış ve SHARP2'nin iyi prognostik bir faktör olduğunu bildirmişlerdir (65). Ayrıca patolojik TNM evresi, invazyon derinliği ve lenf nodu metastazlarıyla da negatif korelasyon gösterdiğini ifade etmişlerdir. Seino ve arkadaşları ise karşıt görüş olarak sisplatin ile tedavi edilen özofagus squamoz hücreli kanser hücrelerinde SHARP2'nin pro-apoptotik etkiye sahip olduğunu ve sisplatin uygulandığında kanser hücrelerinde metastaz artmasında SHARP2'nin rolü olduğunu belirtmişlerdir (66).

Xiong ve arkadaşları hepatoselüler kanserde SHARP2'nin mezenkimal proteinlerin ekspresyonunu hızlandırarak EMT sürecini kısalttığı ve yine bu kanser tipine özgü HepG2 hücrelerinin metastaz yapma kabiliyetlerini arttırdığını belirtmiştir (67). Ma ve arkadaşları ise hepatoselüler kanser hücrelerinde HIF-1 α ve SHARP2'nin korele çalışarak tümörün aktivasyonunda önemli rol aldıklarını göstermişlerdir. Hepatoselüler kanserde tedavide yeni protokoller araştırılırken HIF-1 α ve SHARP2'nin inhibisyonunun da değerlendirilebileceğini bildirmişlerdir (68).

Giagramanolaki ve arkadaşları küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri hücrelerinde SHARP2 ekspresyon seviyelerini araştırmış ve SHARP2 azalışının kanser gelişiminde etkin bir faktör olabileceğini dolayısıyla tümör baskılayıcı bir gen olduğunu ifade etmişlerdir (7). Qiu ve arkadaşları ise bu çalışmaya karşıt sonuçları olan çalışmalarında yüksek SHARP2 ekspresyon seviyelerini küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde kötü sağkalımla ilişkili olarak değerlendirmişlerdir (69).

Li ve arkadaşları SHARP2'nin osteosarkomda EMT mekanizmasını indükleyerek kanser hücrelerinin agresifliğine katkıda bulduklarını belirtirken; Gallo ve arkadaşları ise tüm tiroid kanseri histolojik alt tiplerinde yaptıkları *in vivo* çalışmada SHARP2'nin NOTCH1 ekspresyonunu kontrol ettiğini ve NOTCH yolağı ile üzerinden tümör proliferasyonunu arttırdığını bildirdiler (70,71).

Zheng ve arkadaşları mide kanserli dokularla sağlıklı dokulardaki SHARP2 ekspresyon seviyelerini karşılaştırmış ve SHARP2 ekspresyon seviyesindeki artışların tümör hücrelerinin farklılaşması ve invazyonunda önemli rol oynayabileceğini belirtmişlerdir (72). Wu ve arkadaşları pankreas kanserinde hücre kültüründe SHARP2 etkinliğini araştırmış ve pankreas kanseri hücre tipi PANC-1 hücrelerinin migrasyon ve invazyonunu EMT mekanizması üzerinden arttırdığını, tümör ilerlemesinde önemli bir etken olduğunu tespit etmişlerdir (2). Sato ve arkadaşları ise serviks kanserinde SHARP2'nin SOX2 ve c-MYC mekanizması üzerinden anti-apoptotik etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Meme kanserinde SHARP2 ekspresyon seviyelerini araştıran çalışmaları incelendiğinde; Chakrabarti ve arkadaşlarının 253 meme kanserli doku üzerinde SHARP2 ekspresyon seviyelerini araştırdıkları çalışmada hipoksik yanıt ve ileri tümör evresiyle ilişkili bulmuşlardır (73). Ayrıca tümör evresi harici klinikopatolojik parametrelerden metastatik lenf nodu varlığı, tümör çapı, hasta yaşı, östrojen reseptör boyanmasını incelemişler ve istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulamamışlardır. Mekanizma olarak HIF-1 α ile etkileşime girerek tümör aktivasyonunu arttırdığını öne sürmüşlerdir.

Van Eynden ve arkadaşları 60 lenfatik metastazı olan meme kanseri dokusu ve sağlıklı dokular üzerinde yaptıkları çalışmada HIF-1 α ve SHARP2 ekspresyon seviyelerini; lenf nodu metastazı, yaş, tümör çapı, histolojik tip, östrojen ve progesteron reseptör

durumu, p53 ve Her2 düzeyleri ile karşılaştırmışlar ve lenf nodu metastazı olanlarda HIF-1 α düzeylerini anlamlı arttığını belirlemişlerdir (74). SHARP2 düzeylerini ise metastazı olan dokularda arttığını ancak istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edememişlerdir. Yine Currie ve arkadaşları VEGF'ün, HIF-1 α ve SHARP2 düzeylerinin artmasında etkili olduğunu göstermişlerdir. HIF-1 α ve SHARP2 ekspresyon seviyelerinin birbirleriyle korele arttığını ancak lenf nodu metastazı ve hastalısız sağkalımla anlamlı ilişkide olmadıklarını göstermişlerdir (75).

Liu ve arkadaşlarının 147 meme kanserli doku üzerinde yaptığı çalışmada ise sıkı bağlantı (tight junction) mekanizmasının önemli bir bileşeni olan Claudin-1 proteini ile SHARP2 düzeyleri arasındaki ilişki ve yine bunların da yaş, lenf nodu metastazı, tümör evresi, tümör çapı, östrojen-progesteron reseptör düzeyleriyle olan ilişkileri araştırılmıştır (76). İstatistiksel analiz sonucunda SHARP2 ekspresyon seviyelerini yalnızca tümör derecesi ile ilişkili bulmuşlardır. Claudin-1'de ise ekspresyon kaybının, lenf nodu metastazı ve östrojen reseptörü negatifliğiyle ilişkili olduğunu saptamışlardır. SHARP2 ve Claudin-1 ekspresyon seviyeleri arasında da güçlü bir ters korelasyon bulmuşlardır ve sonuç olarak SHARP2'nin aşırı ekspresyonunun, Claudin-1 ekspresyonunu inhibe ederek meme kanserinde invazyonu arttırabileceğini belirtmişlerdir. Liu ve arkadaşları bir başka çalışmada MCF-7 meme kanseri hücrelerinde SHARP2'nin apoptozu indükleyici etki gösterdiğini bulmuşlardır (5).

MCF-7 hücre kültüründe yapılan başka bir çalışmada; Xue ve arkadaşları östrojen reseptörü pozitif meme kanserli hücrelerde SHARP2'nin yüksek seviyede ekspres edilmesinin, ER α aracılı transkripsiyonel aktivasyonu baskıladığını ve kanser hücrelerinin proliferasyonunu negatif olarak düzenlediğini öne sürmüşlerdir (77).

Bi ve arkadaşları ise MCF-7 meme kanseri ksenograft fare modellerinde SHARP2'nin yüksek seviyede ekspresyonunun siklin E proteini seviyesini düzenleyerek hücre döngüsünün S fazını durdurabileceğini bildirmişlerdir (78).

Sethuraman ve arkadaşlarının ksenograft meme kanserli fare modelleri üzerinde yaptığı çalışmada SHARP2'nin triple negatif meme kanserli hücrelerde akciğer metastazı üzerindeki rolünü araştırmışlardır. SHARP2'nin Heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörünün (HBEGF) eksozomik artışını modüle ederek tümör hücresinin migrasyonunu desteklediğini ifade etmişler ve SHARP2'yi bir metastaz

öncülü ajan olarak tanımlamışlardır (51). Ayrıca yüksek SHARP2 ekspresyon seviyelerinin HBEGF yolağının aktivasyonu ile triple negatif meme kanserinde kemorezistansa katkıda bulunduğunu da öne sürmüşlerdir.

Çalışmamızda SHARP2 sonuçlarının yorumlanması;

Neoadjuvanlı grupta SHARP2 düzeylerinin yüksek olduğu hastalarda komplet yanıt varlığı gözlemlendi ($p=0,026$). Miller Payne evrelemesi yapıldığında; evre arttıkça SHARP2 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı. Kemoterapiye ne kadar etkin cevap olursa tanıda SHARP2 düzeyleri o kadar yüksekti ($p = 0,022$). SHARP2 düzeyi yüksek kanserlerde kemoterapiye duyarlılığın daha fazla olduğu söylenebilir. Tanı anı SHARP2 düzeyi ile neoadjuvan KT sonrası alınan SHARP2 düzeyinin pozitif ilişkili olması, KT sonrası tümörün tanı anı SHARP2 ile Preop SHARP2 düzeyleri anlamlı bir şekilde pozitif korelasyon gösterdi ($p = 0,009$).

Tüm hasta grubunda ise; Tanı anında, preop ve postop SHARP2 düzeyi düşük olan hastalarda lenf nodu metastaz varlığı ($p = 0,021$) saptanırken, tümör evresi ilerledikçe tanı anındaki SHARP2 düzeyleri düşmekteydi ($p = 0,023$).

Klinikopatolojik parametrelerle kıyaslandığında;

Tanıda yüksek SHARP2 düzeyleri; nörovasküler invazyon yokluğu, östrojen reseptör pozitifliği, komplet cevap varlığı hem tümör hem aksilla yanıtının varlığı, multifokalite ve DKİS odaklarının azlığı ile karakterizedydi.

Sonuç olarak meme kanseri tanısı alan hastalarda kanserli dokuda ve farklı subtiplerde meme kanseri hücre kültürü çalışmalarında SHARP1 ve SHARP2 ekspresyon düzeylerinin incelendiği çalışmalar mevcut ve sınırlı sayıda iken, meme kanseri hastaların kan örneklerinde SHARP 1 VE SHARP2 ekspresyon düzeylerinin araştırıldığı ve neoadjuvan kemoterapinin ve cerrahi müdahalenin bu transkripsiyon faktörleri ile ilişkisini belirleyen bir çalışma henüz literatürde bulunmamaktadır. Doku düzeyinde klinikopatolojik verilerin ve SHARP2 ekspresyon doku seviyelerinin

değerlendirildiği 3 çalışmadan yalnızca birinde (76) sadece tümör evresiyle negatif ilişkili olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda SHARP1'in; hem östrojen reseptör pozitifliğinde hem de kemoterapiye tümör ve aksiller yanıtın olduğu hastalarda artış göstermesi iyi prognostik faktör olduğunu gösterdi.

SHARP2'de ise yine komplet yanıt varlığıyla doğru orantılı oluşu, nörovasküler invazyon yokluğunda, östrojen reseptör pozitifliğinde yüksek seyretmesi iyi prognostik faktör olarak karşımıza çıktı. Tanı anı SHARP1-2 düzeylerinin pozitif korelasyon göstermesi de yine hipotezimizi doğrular nitelikteydi. SHARP2 üzerine yapılan farklı çalışmalarda tümörün invazyon kabiliyetini arttıran bir gen olduğu düşünülürken değişik kanser tiplerinde tümör baskılayıcı özelliklerinin de olabileceği belirtilmiştir. Çalışmamız tanı anında SHARP 1 ve 2 düzeyleri yüksek olan tümörlerin daha iyi patolojik faktörlere sahip olduklarını ve kemoterapiye daha iyi cevap vereceğini göstermektedir. Çalışmamız bu yönüyle de SHARP2'nin tıpkı bazı diğer kanser türlerinde belirtildiği gibi meme kanserinde de tümör baskılayıcı özellikte olabileceğini gösterdi.

SHARP1/2'nin kanda yüksek ekspresyon düzeyine seviyelerde görülmeleri iyi prognozlu tümörleri göstermektedir, agresif tümörlerde ise kandaki seviyeleri düşmektedir. Yüksek SHARP1/2 düzeylerine sahip kadınlar, bu faktörler tümör supresif etki göstereceği için daha iyi klinikopatolojik parametrelere sahip tümörlere sahip oldukları düşünülebilir. SHARP1/2 düzeyi yüksek olan tümörler neoadjuvan kemoterapiye daha iyi cevap vermekte ve komplet cevap oranı daha yüksektir. SHARP1/2 ekspresyon düzeylerinde artışın iyi prognostik kriteri sahip olan hastalarda görülmesi hastalara neoadjuvan tedavide uygulana kemoterapiye yanıt vermesiyle ilişkili olabilir. bu hipotezin aydınlatılması için daha kapsamlı hasta grubunda meme kanserinde hem SHARP1 hemde SHARP2'nin prediktif/prognostik rolünün belirlenmesine yönelik moleküler çalışmaların yapılması gereklidir.

REFERANSLAR

1. Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A. and Jemal, A. (2018), Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68: 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
2. Wu, Y, Yamada, T., Bhawal, U. K., Kawamoto, T., Fujimoto, K., ... & Abiko, Y. (2012). The BHLH transcription factor DEC1 plays an important role in the epithelial-mesenchymal transition of pancreatic cancer. *International journal of oncology*, 41(4), 1337-1346.
3. Sato, F., Bhawal, U. K., Yoshimura, T., & Muragaki, Y. (2016). DEC1 and DEC2 crosstalk between circadian rhythm and tumor progression. *Journal of Cancer*, 7(2), 153.
4. Wang, W., Reiser-Erkan, C., Michalski, C. W., Raggi, M. C., Quan, L., Yupei, Z., ... & Kleeff, J. (2010). Hypoxia inducible BHLHB1-2 is a novel and independent prognostic marker *Biochemical and biophysical research communications*, 401(3), 422-428
5. Liu Y, Sato F, Kawamoto T, Fujimoto K, Morohashi S, Akasaka H, Kondo J, Wu Y, Noshiro M, Kato Y, Kijima H. Anti-apoptotic effect of the basic helix-loop-helix (bHLH) transcription factor DEC2 in human breast cancer cells. *Genes Cells*. 2010 Apr 1;15(4):315-25. doi: 10.1111/j.1365-2443.2010.01381.x. Epub 2010 Mar 4. PMID: 20236182.
6. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Polychronidis A, Simopoulos C, Gatter KC, Harris AL, Sivridis E. Endogenous markers of hypoxia/anaerobic metabolism and anemia in primary colorectal cancer. *Cancer Sci*. 2006 Jul;97(7):582-8. doi: 10.1111/j.1349-7006.2006.00220.x. PMID: 16827797
7. Giatromanolaki A, Koukourakis MI, Sivridis E, Turley H, Wykoff CC, Gatter KC, Harris AL. DEC1 (STRA13) protein expression relates to hypoxia-inducible factor 1-alpha and carbonic anhydrase-9 overexpression in non-small cell lung cancer. *J Pathol*. 2003 Jun;200(2):222-8. doi: 10.1002/path.1330. PMID: 12754744

8. Nishiwaki T, Daigo Y, Kawasoe T, Nakamura Y. Isolation and mutational analysis of a novel human cDNA, DEC1 (deleted in esophageal cancer 1), derived from the tumor suppressor locus in 9q32. *Genes Chromosomes Cancer*. 2000 Feb;27(2):169-76. PMID: 10612805.
9. Shen, M., Kawamoto, T., Yan, W., Nakamasu, K., Tamagami, M., Koyano, Kato Y. (1997). Molecular characterization of the novel basic helix–loop–helix protein DEC1 expressed in differentiated human embryo chondrocytes. *Biochemical and biophysical research communications*, 236(2), 294-298
10. P. Autier, M. Boniol, C. La Vecchia, et al. Disparities in breast cancer mortality trends between 30 European countries: retrospective trend analysis of WHO mortality database *BMJ*, 341 (Aug 11) (2010),
11. C. Allemani, H.K. Weir, H. Carreira, et al. Global surveillance of cancer survival 1995-2009: analysis of individual data for 25,676,887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2) *Lancet*, 385 (9972) (2015), pp. 977-1010
12. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 2017;67:7–30.
13. Brewer HR, Jones ME, Schoemaker MJ. et al. Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. *Breast Cancer Res Treat*. 2017;165:193–200
14. Washbrook E. Risk factors and epidemiology of breast cancer. *Women's Health Medicine*. 2006;3:8–14.
15. Dall GV, Britt KL. Estrogen Effects on the Mammary Gland in Early and Late Life and Breast Cancer Risk. *Front Oncol*. 2017;7:110.
16. Horn J, Asvold BO, Opdahl S. et al. Reproductive factors and the risk of breast cancer in old age: a Norwegian cohort study. *Breast Cancer Res Treat*. 2013;139:237–243.
17. Endogenous H, Breast Cancer Collaborative G, Key TJ. 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;14:1009–1019.

18. Beral V. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet*. 2003;362:419–427
19. Liu J-Y, Chen T-J, Hwang S-J. The Risk of Breast Cancer in Women Using Menopausal Hormone Replacement Therapy in Taiwan. *International journal of environmental research and public health*. 2016;13:482
20. Hamajima N, Hirose K, Tajima K. et al. Alcohol, tobacco and breast cancer—collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. *Br J Cancer*. 2002;87:1234–1245.
21. Jung S, Wang M, Anderson K. et al. Alcohol consumption and breast cancer risk by estrogen receptor status: in a pooled analysis of 20 studies. *International journal of epidemiology*. 2016;45:916–928.
22. Makarem N, Chandran U, Bandera EV. et al. Dietary fat in breast cancer survival. *Annu Rev Nutr*. 2013;33:319–348
23. Knight JA, Fan J, Malone KE. et al. Alcohol consumption and cigarette smoking in combination: A predictor of contralateral breast cancer risk in the WECARE study. *Int J Cancer*. 2017;141:916–924.
24. Catsburg C, Miller AB, Rohan TE. Active cigarette smoking and risk of breast cancer. *Int J Cancer*. 2015;136:2204–2209.
25. Kispert S, McHowat J. Recent insights into cigarette smoking as a lifestyle risk factor for breast cancer. *Breast Cancer: Targets and Therapy*. 2017;9:127–132
26. Maffini MV, Soto AM, Calabro JM. et al. The stroma as a crucial target in rat mammary gland carcinogenesis. *J Cell Sci*. 2004;117:1495–1502.
27. Sonnenschein C, Soto AM. Carcinogenesis explained within the context of a theory of organisms. *Progress in biophysics and molecular biology*. 2016;122:70–76
28. Qian BZ, Pollard JW. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell*. 2010;141:39–51
29. Dumars C, Ngyuen JM, Gaultier A. et al. Dysregulation of macrophage polarization is associated with the metastatic process in osteosarcoma. *Oncotarget*. 2016;7:78343–78354.

30. Polyak K. Breast cancer: origins and evolution. *J Clin Invest.* 2007;117:3155–3163.
31. Basse C, Arock M. The increasing roles of epigenetics in breast cancer: Implications for pathogenicity, biomarkers, prevention and treatment. *Int J Cancer.* 2015;137:2785–2794.
32. Baumann M, Krause M, Hill R. Exploring the role of cancer stem cells in radioresistance. *Nat Rev Cancer.* 2008;8:545–554.
33. Zhang M, Lee AV, Rosen JM. The Cellular Origin and Evolution of Breast Cancer. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine.* 2017;7:a027128
34. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A. et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:3983–3988.
35. Molyneux G, Geyer FC, Magnay FA. et al. BRCA1 basal-like breast cancers originate from luminal epithelial progenitors and not from basal stem cells. *Cell Stem Cell.* 2010;7:403–417
36. Valenti G, Quinn HM, Heynen G. et al. Cancer Stem Cells Regulate Cancer-Associated Fibroblasts via Activation of Hedgehog Signaling in Mammary Gland Tumors. *Cancer Res.* 2017;77:2134–2147
37. Kasper M, Jaks V, Fiaschi M. et al. Hedgehog signalling in breast cancer. *Carcinogenesis.* 2009;30:903–911.
38. Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliffe PJ. Activation of the HIF pathway in cancer. *Curr Opin Genet Dev.* 2001;11:293–299.
39. Goonewardene TI, Sowter HM, Harris AL. Hypoxia-induced pathways in breast cancer. *Microsc Res Tech.* 2002;59:41–48.
40. Pugh CW, Ratcliffe PJ. The von Hippel–Lindau tumor suppressor, hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) degradation, and cancer pathogenesis. *Semin Cancer Biol.* 2003;13:83–89
41. Montagner M, Enzo E, Forcato M, Zanconato F, Parenti A, Rampazzo E, et al. SHARP1 suppresses breast cancer metastasis by promoting degradation of hypoxia-inducible factors. *Nature* 2012;487:380–4.

42. Kato Y, Kawamoto T, Fujimoto K, Noshiro M. DEC1/ STRA13/SHARP2 and DEC2/SHARP1 coordinate physiological processes, including circadian rhythms in response to environmental stimuli. *Curr Top Dev Biol.* 2014; 110: 339-72
43. Sato F, Otsuka T, Kohsaka A, Le HT, Bhawal UK, Muragaki Y. Smad3 suppresses epithelial cell migration and proliferation via the clock gene Dec1, which negatively regulates the expression of clock genes Dec2 and Per1. *Am J Pathol.* 2019;189(4):773-783
44. Muller PAJ, Caswell PT, Doyle B, Iwanicki MP, Tan EH, Karim S, et al. Mutant p53 drives invasion by promoting integrin recycling. *Cell* 2009;139:1327–41.
45. Su X, Chakravarti D, Cho MS, Liu L, Gi YJ, Lin Y-L, et al. TAp63 suppresses metastasis
46. Semenza GL. Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics. *Oncogene* 2010;29:625– 34.
47. Kaelin J, William G, Ratcliffe PJ. Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway. *Mol Cell* 2008;30: 393–402.
48. Asanoma K., Liu G., Yamane T., et al. Regulation of the mechanism of TWIST1 transcription by BHLHE40 and BHLHE41 in cancer cells. *Molecular and Cellular Biology.* 2015;35(24):4096–4109. doi: 10.1128/MCB.00678
49. Preusser M., Birner P., Ambros I. M., et al. DEC1 expression in 1p-aberrant oligodendroglial neoplasms. *Histology and Histopathology.* 2005;20(4):1173–1177. doi: 10.14670/HH-20.1173
50. Shi X. H., Zheng Y., Sun Q., et al. DEC1 nuclear expression: a marker of differentiation grade in hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology.* 2011;17(15):2037–2043. doi: 10.3748/wjg.v17.i15.2037.
51. Sethuraman A., Brown M., Krutilina R., et al. BHLHE40 confers a pro-survival and pro-metastatic phenotype to breast cancer cells by modulating HBEGF secretion. *Breast Cancer Research.* 2018;20(1):p. 117. doi: 10.1186/s13058-018-1046-3.

52. Fang W, Li Q, Wang M, Zheng M, Xu H. DEC2 Serves as Potential Tumor Suppressor in Breast Carcinoma. *Dis Markers*. 2020 Oct 10;2020:6053154. doi: 10.1155/2020/6053154. PMID: 33101542; PMCID: PMC7569433
53. Piccolo S, Enzo E, Montagner M. p63, Sharp1, and HIFs: master regulators of metastasis in triple-negative breast cancer. *Cancer Res*. 2013 Aug 15;73(16):4978-81. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0962. Epub 2013 Aug 2. PMID: 23913939
54. Sato H, Wu Y, Kato Y, et al. DEC2 expression antagonizes cisplatin-induced apoptosis in human esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Med Rep*. 2017;16(1):43-48. doi:10.3892/mmr.2017.6571
55. Liang Y, Zhang P, Li S, Li H, Song S, Lu B. MicroRNA-873 acts as a tumor suppressor in esophageal cancer by inhibiting differentiated embryonic chondrocyte expressed gene 2. *Biomed Pharmacother*. 2018 Sep;105:582-589. doi: 10.1016/j.biopha.2018.05.152. Epub 2018 Jun 8. PMID: 29890466.
56. Shen Z, Zhu L, Zhang C, Cui X, Lu J. Overexpression of BHLHE41, correlated with DNA hypomethylation in 3'UTR region, promotes the growth of human clear cell renal cell carcinoma. *Oncol Rep*. 2019;41(4):2137-2147. doi:10.3892/or.2019.7004
57. Liao Y, Lu W, Che Q, et al. SHARP1 suppresses angiogenesis of endometrial cancer by decreasing hypoxia-inducible factor-1 α level. *PLoS One*. 2014;9(6):e99907. Published 2014 Jun 11
58. Zhou ZH, Wang B, Cheng XB, Zhang XE, Tang J, Tang WJ, Gu L. Roles of SHARP1 in thyroid cancer. *Mol Med Rep*. 2016 Jun;13(6):5365-71. doi: 10.3892/mmr.2016.5185. Epub 2016 Apr 25. PMID: 27121679.
59. Hu T, He N, Yang Y, Yin C, Sang N, Yang Q. DEC2 expression is positively correlated with HIF-1 activation and the invasiveness of human osteosarcomas. *J Exp Clin Cancer Res*. 2015;34(1):22. Published 2015 Feb 28. doi:10.1186/s13046-015-0135-8
60. Sato F, Kawamura H, Wu Y, Sato H, Jin D, Bhawal UK, Kawamoto T, Fujimoto K, Noshiro M, Seino H, Morohashi S, Kato Y, Kijima H. The basic helix-loop-helix transcription factor DEC2 inhibits TGF- β -induced tumor progression in human pancreatic cancer BxPC-3 cells. *Int J Mol Med*. 2012

- Sep;30(3):495-501. doi: 10.3892/ijmm.2012.1037. Epub 2012 Jun 19. PMID: 22735690.
61. Liu Q, Wu Y, Yoshizawa T, et al. Basic helix-loop-helix transcription factor DEC2 functions as an anti-apoptotic factor during paclitaxel-induced apoptosis in human prostate cancer cells. *Int J Mol Med*. 2016;38(6):1727-1733. doi:10.3892/ijmm.2016.2798
62. Numata A, Kwok HS, Kawasaki A, et al. The basic helix-loop-helix transcription factor SHARP1 is an oncogenic driver in MLL-AF6 acute myelogenous leukemia. *Nat Commun*. 2018;9(1):1622. Published 2018 Apr 24. doi:10.1038/s41467-018-03854-0
63. Wu Y, Sato F, Bhawal UK, Kawamoto T, Fujimoto K, Noshiro M, Seino H, Morohashi S, Kato Y, Kijima H. BHLH transcription factor DEC2 regulates pro-apoptotic factor Bim in human oral cancer HSC-3 cells. *Biomed Res*. 2012 Apr;33(2):75-82. doi: 10.2220/biomedres.33.75. PMID: 22572381.
64. Zhang D, Zheng Q, Wang C, Zhao N, Liu Y, Wang E. BHLHE41 suppresses MCF-7 cell invasion via MAPK/JNK pathway. *J Cell Mol Med*. 2020;24(7):4001-4010. doi:10.1111/jcmm.15033
65. Xu Q, Ma P, Hu C, et al. Overexpression of the DEC1 protein induces senescence in vitro and is related to better survival in esophageal squamous cell carcinoma. *PLoS One*. 2012;7(7):e41862. doi:10.1371/journal.pone.0041862
66. Seino H, Wu Y, Morohashi S, Kawamoto T, Fujimoto K, Kato Y, Takai Y, Kijima H. Basic helix-loop-helix transcription factor DEC1 regulates the cisplatin-induced apoptotic pathway of human esophageal cancer cells. *Biomed Res*. 2015;36(2):89-96. doi: 10.2220/biomedres.36.89. PMID: 25876658
67. Xiong J, Yang H, Luo W, Shan E, Liu J, Zhang F, Xi T, Yang J. The anti-metastatic effect of 8-MOP on hepatocellular carcinoma is potentiated by the down-regulation of bHLH transcription factor DEC1. *Pharmacol Res*. 2016 Mar;105:121-33. doi: 10.1016/j.phrs.2016.01.025. Epub 2016 Jan 22. PMID: 26808085

68. Ma W, Shi X, Lu S, Wu L, Wang Y. Hypoxia-induced overexpression of DEC1 is regulated by HIF-1 α in hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep.* 2013 Dec;30(6):2957-62. doi: 10.3892/or.2013.2774. Epub 2013 Oct 1. PMID: 24100543.
69. Qiu M, Chen YB, Jin S, Fang XF, He XX, Xiong ZF, Yang SL. Research on circadian clock genes in non-small-cell lung carcinoma. *Chronobiol Int.* 2019 Jun;36(6):739-750. doi: 10.1080/07420528.2018.1509080. Epub 2019 Apr 24. PMID: 31014124
70. Li S, Peng D, Yin ZQ, Zhu W, Hu XT, Liu CW. Effect of DEC1 on the proliferation, adhesion, invasion and epithelial-mesenchymal transition of osteosarcoma cells. *Exp Ther Med.* 2020;19(3):2360-2366. doi:10.3892/etm.2020.8459
71. Gallo C, Fragliasso V, Donati B, et al. The bHLH transcription factor DEC1 promotes thyroid cancer aggressiveness by the interplay with NOTCH1. *Cell Death Dis.* 2018;9(9):871. Published 2018 Aug 29. doi:10.1038/s41419-018-0933-y
72. Zheng Y, Jia Y, Wang Y, Wang M, Li B, Shi X, Ma X, Xiao D, Sun Y. The hypoxia-regulated transcription factor DEC1 (Stra13, SHARP-2) and its expression in gastric cancer. *OMICS.* 2009 Aug;13(4):301-6. doi: 10.1089/omi.2009.0014. PMID: 19624270.
73. Chakrabarti J, Turley H, Campo L, et al. The transcription factor DEC1 (stra13, SHARP2) is associated with the hypoxic response and high tumour grade in human breast cancers. *Br J Cancer.* 2004;91(5):954-958. doi:10.1038/sj.bjc.6602059
74. Van den Eynden GG, Van der Auwera I, Van Laere SJ, et al. Angiogenesis and hypoxia in lymph node metastases is predicted by the angiogenesis and hypoxia in the primary tumour in patients with breast cancer. *Br J Cancer.* 2005;93(10):1128-1136. doi:10.1038/sj.bjc.6602828
75. Currie MJ, Hanrahan V, Gunningham SP, et al. Expression of vascular endothelial growth factor D is associated with hypoxia inducible factor (HIF-1 α) and the HIF-1 α target gene DEC1, but not lymph node metastasis

- in primary human breast carcinomas. *J Clin Pathol*. 2004;57(8):829-834. doi:10.1136/jcp.2003.015644
- 76.Liu Y, Miao Y, Wang J, Lin X, Wang L, Xu HT, Wang EH. DEC1 is positively associated with the malignant phenotype of invasive breast cancers and negatively correlated with the expression of claudin-1. *Int J Mol Med*. 2013 Apr;31(4):855-60. doi: 10.3892/ijmm.2013.1279. Epub 2013 Feb 19. PMID: 23426649.
- 77.Xue J, Dai Y, Li G, Lang W, Li P, Liu Y, Bao H, Zhao D, Pan H. DEC1 directly interacts with estrogen receptor (ER) α to suppress proliferation of ER-positive breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020 Aug 6;528(4):740-745. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.05.123. Epub 2020 Jun 7. PMID: 32522343.
- 78.Bi H, Li S, Qu X, Wang M, Bai X, Xu Z, Ao X, Jia Z, Jiang X, Yang Y, Wu H. DEC1 regulates breast cancer cell proliferation by stabilizing cyclin E protein and delays the progression of cell cycle S phase. *Cell Death Dis*. 2015 Sep 24;6(9):e1891. doi: 10.1038/cddis.2015.247. PMID: 26402517; PMCID: PMC4650443.