

Meme Kanseri Olgularında Toll Benzeri Reseptörleri Kodlayan Genlerde Rastlanan Varyasyonların Belirlenmesi

Determination of Variations in Genes Encoding Toll-Like Receptors in Breast Cancer Cases

Kemal TOPAL¹ ; Merih AKKAPULU KAYA¹; Zeynep Nil ÜNAL¹;
Vehbi ERÇOLAK² ; Emel SEZER²; Ali Erdiç YALIN¹

ABSTRACT

Geliş Tarihi

08.01.2026

Kabul Tarihi

20.03.2026

Yayın Tarihi

30.04.2026

Keywords

Breast Cancer, Toll-Like Receptor (TLR), Enflamasyon, Polymorphism

Meme kanseri, kadınlar arasında en yaygın malignitelerden biri olup inflamatuvar süreçlerle yakından ilişkilidir. Toll-benzeri reseptörler (TLR), özellikle TLR2 ve TLR4, doğal bağışıklık ve inflamasyon süreçlerinde önemli rol oynamakta ve kanser gelişimi ile ilişkilendirilmektedir. Bu çalışmada, TLR2 (rs3804099) ve TLR4 (rs4986790) gen polimorfizmlerinin meme kanseri ile olası ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmamızda, meme kanseri tanısı almış 102 birey (hasta grubu) ve bu tanıyı almamış 101 sağlıklı birey (kontrol grubu) olmak üzere toplam 203 birey dahil edilmiştir. Genotiplendirme Tetra-Primer ARMS PCR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Genotip dağılımları Hardy-Weinberg dengesi açısından değerlendirilmiş ve farklı genetik modeller altında odds oranları ile %95 güven aralıkları hesaplanmıştır. Elde edilen bulgulara göre, hasta ve kontrol grupları arasında genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). Sonuç olarak, bu polimorfizmlerin çalışılan popülasyonda meme kanseri gelişimi ile ilişkili olmadığı yönünde bulgular elde edilmiş olup, bu ilişkinin daha net ortaya konulabilmesi için daha geniş örneklemli ve çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Submit Date

08.01.2026

Accept Date

20.03.2026

Publish Date

30.04.2026

Anahtar Kelimeler


Meme Kanseri, Toll-Benzeri Reseptör (TLR), Enflamasyon, Polimorfizm


ÖZET

Breast cancer is one of the most common malignancies among women and is closely associated with inflammatory processes. Toll-like receptors (TLRs), particularly TLR2 and TLR4, play important roles in innate immunity and inflammation and have been implicated in cancer development. This study aimed to investigate the possible association between TLR2 (rs3804099) and TLR4 (rs4986790) gene polymorphisms and breast cancer. A total of 203 individuals, including 102 patients diagnosed with breast cancer and 101 healthy controls, were included in this study. Genotyping was performed using the Tetra-Primer Amplification Refractory Mutation System Polymerase Chain Reaction (T-ARMS PCR) method. Genotype distributions were evaluated in terms of Hardy-Weinberg equilibrium, and odds ratios with 95% confidence intervals were calculated under different genetic models. According to the findings, no statistically significant difference was observed in genotype distributions between the patient and control groups ($p > 0.05$). In conclusion, the findings suggest that these polymorphisms are not associated with breast cancer development in the studied population, and further large-scale, multicenter studies are needed to clarify this relationship.

1. Giriş

Meme kanseri, meme dokusunu oluşturan hücrelerde meydana gelen genetik değişiklikler sonucunda gelişen bir malignitedir. Kanseri hücreler, normal hücrelere kıyasla belirgin farklılıklar göstermektedir. Hastalığın başlangıcında, protoonkogenlerin aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu ile sonuçlanan genetik

¹  Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye, total.kemal75@gmail.com, mrhakkapulu@gmail.com, nilzeynep@yahoo.com, aeyalin@gmail.com

²  Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları ve Onkoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye, vehbiercolak@mersin.edu.tr, emelsezer@mersin.edu.tr



hasar birikiminin rol oynadığı düşünülmektedir. Etiyolojisi tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, her yıl 130.000'den fazla kadının meme kanseri nedeniyle hayatını kaybettiği bildirilmektedir. Meme kanseri için başlıca risk faktörleri arasında kadın cinsiyet, ileri yaş ve aile öyküsü yer almaktadır (Schmid, 2012). Meme kanserinin patogenezi, genetik ve çevresel faktörlerin karmaşık etkileşimleri sonucu ortaya çıkmaktadır (Bågeman, 2008). Bu bağlamda, BRCA1, BRCA2, TP53 ve ATM gibi genler kalıtsal yatkınlık ile ilişkilendirilmiştir. Bu genlerdeki polimorfizmler genel popülasyonda yaygın olarak görülmektedir (Cheng et al., 2020). Son yıllarda, genetik polimorfizmlerin meme kanseri risk değerlendirmesinde biyobelirteç olarak kullanılma potansiyeli giderek artmaktadır (Wendt & Margolin, 2019).

Meme kanserinin tanısında klinik öykü ve fizik muayene bulgularının yanı sıra mamografi, ultrasonografi ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) gibi yöntemler önemli rol oynamaktadır (Yıldırım, 2019). Enflamasyon ve kanser arasındaki ilişki ilk olarak 19. yüzyılda tanımlanmış olup günümüzde kanserin temel özelliklerinden biri olarak kabul edilmektedir (Bhatelia et al., 2014). Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre, enfeksiyonlar düşük ve orta gelirli ülkelerde kanser ölümlerinin yaklaşık %20'sinden, yüksek gelirli ülkelerde ise %9'undan sorumludur ve kronik enflamasyon bu sürecin önemli bir bileşenidir (Allin & Nordestgaard, 2011). Çeşitli çalışmalar, kanserin enfeksiyonla ilişkili kronik enflamatuvar süreçlerle yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (Robertson et al., 2010). Bağışıklık hücreleri ile dokuya özgü hücreler arasındaki dengenin bozulması kronik enflamasyona yol açabilmektedir; ancak bu mekanizmalar henüz tam olarak açıklanamamıştır (Coussens & Werb, 2002). Enflamatuvar hastalıkların kanser gelişim riskini artırabileceği bilinmektedir ve enflamasyonla doğrudan ilişkili olmayan tümörlerde dahi enflamatuvar hücrelerin varlığı dikkat çekmektedir (Balkwill & Mantovani, 2012). Karsinogenez sürecinin kronik enflamasyon ile başlayarak tümör gelişimine zemin hazırladığı düşünülmektedir. Bu süreç, enflamatuvar yanıtı tetikleyen dışsal faktörler ile onkogenler veya tümör baskılayıcı genler aracılığıyla ortaya çıkan içsel mekanizmalar olmak üzere iki temel yol üzerinden gerçekleşmektedir (O'Byrne & Dalglish, 2001).

Tümör nekroz faktör- α (TNF- α), monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1), interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-8 (IL-8) gibi proinflamatuvar mediyatörlerin önemli bir kısmı beyaz adipoz doku tarafından sentezlenmektedir. Adipositlerde Toll-benzeri reseptör-4 (TLR4) sinyali, uzun zincirli yağ asitleri ve lipopolisakkarit (LPS) ile aktive olmakta ve bunun sonucunda nükleer faktör kappa B (NF- κ B) aktivasyonu gerçekleşerek çeşitli inflamatuvar genlerin ekspresyonu artmaktadır (Ozbayer et al., 2014). Doğal bağışıklık sistemi, patojenlere özgü moleküler paternleri tanıyarak konağa ait olmayan yapıları belirleyebilmekte ve bu sayede savunma yanıtını başlatmaktadır (Browne, 2012). Toll-benzeri reseptörler (TLR), lösin bakımından zengin tekrar bölgeleri içeren ve çok sayıda mikroorganizmaya karşı hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık yanıtında görev alan transmembran proteinlerdir (Bhatelia et al., 2014). Ayrıca, TLR ailesi hücrel sinyal iletiminde önemli rol oynayan reseptörleri kapsamaktadır (Browne, 2012).

Meme kanseri de dahil olmak üzere birçok kanser türünde TLR aracılı sinyal yollarının hücre proliferasyonu, migrasyon ve apoptoz gibi süreçlerde etkili olduğu gösterilmiştir. TLR ekspresyonundaki değişiklikler, bu yolların aşağı akım düzenleyicilerinde düzensizliklere yol açabilmektedir (Bhatelia et al., 2014). Özellikle invaziv duktal karsinomda TLR4 ekspresyonunun klinikopatolojik parametrelerle anlamlı düzeyde ilişkili olduğu ve yüksek ekspresyonun artmış lenf nodu metastazı ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (Ehsan et al., 2013). TLR2 ve TLR4 genlerinde meydana gelen polimorfizmlerin kanser gelişimindeki rolüne ilişkin çalışmalar sınırlıdır ve mevcut veriler yetersizdir. Bu nedenle, bu çalışmada Toll-benzeri reseptörleri kodlayan genlerdeki varyasyonların inflamasyon ile ilişkili meme kanseri olgularındaki dağılımının incelenmesi ve bu varyasyonların görülme sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Çalışma Grubu ve Örnek Alımı

Çalışmamız, Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 18/09/2019 tarihli 2019/397 sayılı Kurul Kararı ile onaylanmıştır. Çalışmamızın hasta grubunu Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ve Onkoloji Anabilim Dalı'na başvurmuş, rutin tetkikler sonucunda meme kanseri tanısı almış 102 birey oluşturmaktadır. Kontrol grubunu ise, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ve Onkoloji Anabilim Dalı'na başvurmuş ve tetkikler sonucunda meme kanseri tanısını almamış 101 birey oluşturmaktadır.

2.2. Genotiplendirme

Çalışmamızda seçilen gen polimorfizmleri için üç seçim kriteri kullanılmıştır: (1) Çalışılan popülasyonlarda yüksek prevalans (alell frekansı $\geq 5\%$), (2) moleküler düzeyde önerilmiş veya kanıtlanmış fonksiyonel etki ve (3) meme kanseri açısından gen polimorfizminin rolünü araştıran hiç veya az sayıda çalışma olmasıdır. Gen polimorfizmlerinin seçimi için dbSNP veritabanı kullanılmıştır. TLR-2 ve TLR-4 genlerinde yerleşik sırasıyla rs3804099 (T399I; NG_016229.1:g.24216T>C) ve rs4986790 (D299G; NG_011475.1: g.13840A>G) polimorfizmleri seçilmiştir. dbSNP veritabanı kayıt numaralarına sahip varyasyonlarının saptanması için Tetra-Primer ARMS (T-ARMS) yöntemi tercih edilmiştir.

2.3. Primerlerin Tasarımı

TLR-2 geni rs3804099 varyasyonu için tasarlanmış T-ARMS PCR primerleri:

TLR2FWDOuter: 5'-CTGTGCTCTGTTTCCTGCTGATC-3'

TLR2REVOuter: 5'-TGAGAATGGCAGCATCATTTGTT-3'

TLR2FWDInner: 5'-CCCTTCAAGTTGTGTCTTCATACGT-3' (T Alel)

TLR2REVInner: 5'-TTGCCAGGAATGAAGTCACG-3' (C Alel)

TLR-4 geni rs4986790 varyasyonu için tasarlanmış T-ARMS PCR primerleri:

TLR4FWDOuter: 5'-CCTACTCAATCTCTCTTTAGACCTGT-3'

TLR4REVOuter: 5'-CATTCTACTGAGATCTAGAAACTCAAG-3'

TLR4FWDInner: 5'-GCATACTTAGACTACTACCTCGAGGA-3' (A Alel)

TLR4REVInner: 5'-TGTCAAACAATTAATAAGTCAATAAGAC-3' (G Alel)

2.4. DNA İzolasyonu

Çalışmada genomik DNA'nın izolasyonu için Purelink Genomic DNA Mini Kit (invitrogen, Carlsbad, USA, Catalog#K182002) kullanılmıştır.

2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

TLR2 ve TLR4 genlerinin rs3804099 ve rs4986790 varyasyonlarını saptayabilmek için konvansiyonel PCR yöntemlerinden birisi olan T-ARMS PCR yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde kullanılacak primerler yukarıda gösterildiği gibi biyoinformatik araçlar kullanılarak tasarlanmıştır. PCR MIX olarak New Bioscience (ürün kodu: 04-25-00125) 5X HOT FIREPol Blend PCR mix kullanılmıştır. T-ARMS metodolojisinde kullanılan PCR bileşenlerinin miktarları Tablo 1'de gösterilmiştir:

Tablo 1. T-ARMS PCR Yönteminde Kullanılacak Bileşen Miktarları

	1X(μ L)
PCR MIX	4
PRİMER 1	0,6
PRİMER 2	0,6
PRİMER 3	0,6
PRİMER 4	0,6
DNA	3
dH ₂ O	10,6
Toplam Hacim	20

Çalışılacak örnek sayısı kullanılan miktarlarla çarpılarak mastermiks hazırlandı ve her bir reaksiyon 20 μ L'lik hacimlerde gerçekleştirildi. 200 μ L'lik PCR tüplerine 3 μ L DNA önekleri yüklendi. Üzerlerine, mastermiks karışımı (17 μ L) eklenerek karıştırıldı ve cihaza yerleştirildi. Tablo 2 ve 3' de çalışılacak genlerdeki varyasyonlar için PCR koşulları bulunmaktadır.

Tablo 2. rs3804099 İçin PCR Koşulları

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyonu	95	4 dk	1
Denatürasyon	94	30 sn	
Primer Bağlanması (Annealing)	58	45sn	30
Zincir Uzaması (Elongation)	72	45 sn	
Final Uzaması	72	8 dk	1
Muhafaza	4	∞	∞

Tablo 3. rs4986790 İçin PCR Koşulları

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyonu	95	4 dk	1
Denatürasyon	94	30 sn	
Primer Bağlanması (Annealing)	56	45sn	30
Zincir Uzaması (Elongation)	72	45 sn	
Final Uzaması	72	8 dk	1
Muhafaza	4	∞	∞

2.6. Agaroz Jel Elektroforezi

TLR2 ve TLR4 genlerindeki rs3804099 ve rs4986790 varyasyonlarının belirlenmesi amacıyla çoğaltılan T-ARMS ampliconları agaroz jel elektroforezi kullanılarak kontrol edilmiştir. Hazırlanan jelde yürütülen ampliconların bç uzunlukları DNA ladder (Includes Gel Loading Dye, Purple (6X), NEW ENGLAND Biolabs Inc, Massachusetts, ABD) kullanılarak belirlendi ve sonuçlar yorumlandı.

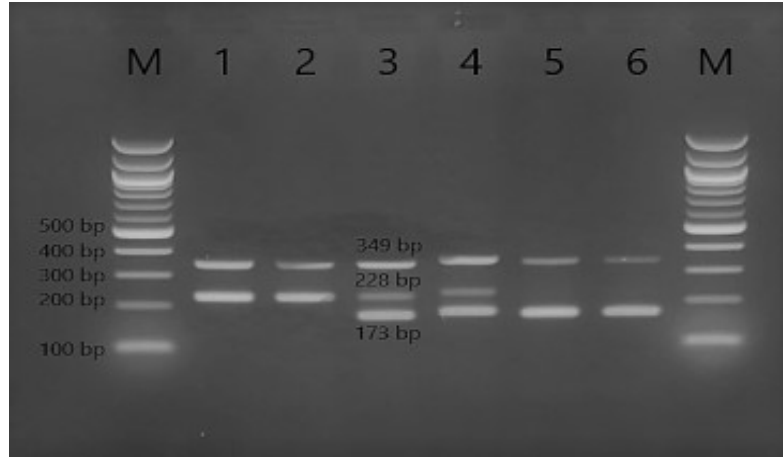
2.7. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel hesaplamalar, MS Windows işletim sisteminde SPSS sürüm 16 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı. Hasta ve kontrol gruplarında her iki polimorfizm için elde edilen genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg Dengesi'ne (HWE) uyumluluğu, gözlemlenen ile beklenen genotip frekansları karşılaştırılarak bir serbestlik dereceli (df=1) χ^2 uyum iyiliği testi ile kontrol edildi. Odds Ratio (Olasılık oranları, OR) ve %95 güven aralıkları (%95 GA) "Fisher's exact test" kullanılarak hesaplandı. Elde edilen p değerleri iki uçluydu ve $p < 0.05$ 'te istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

3. Bulgular

Çalışmamıza kontrol gurubunu oluşturan 101 sağlıklı birey, hasta gurubunu oluşturan meme kanseri tanısı almış 102 birey dahil edildi. 101 kontrol ile 102 hasta bireyde TLR2 ve TLR4 geninde sırasıyla rs3804099 ve rs4986790 varyasyonları araştırıldı. Elektroferez sonrası agaroz jelde yürütülen ampliconlar UV transuliminator (DNR Bio-Imaging System, Jerusalem, İsrail) kullanılarak görüntülendi ve sonuçlar yorumlandı. Yapılan genotiplendirme analizleri sonucu her iki gende, her ne kadar TLR4 geninde istatistiksel açıdan anlamlı olmasa da, polimorfizm gözlemlendi. Kullanılan T-ARMS metodolojisine göre TLR2 gen çalışması sonucu kontrol grubunda %59,41 TC (heterozigot) %27,72 TT (homozigot yabancı) %12,87 CC (homozigot mutant) taşıdığı belirlendi. Hasta grubunu oluşturan bireylerde ise %54,90 TC (heterozigot) %33,33 TT (homozigot yabancı) %11,76 (homozigot mutant) taşıdığı belirlendi. TLR4 gen çalışması sonucu kontrol grubunda %4,95 AG (heterozigot) %95,05 AA (homozigot yabancı), hasta grubunda ise %4,90 AG (heterozigot) %95,10 AA (yabancı tip) taşıdığı belirlendi.

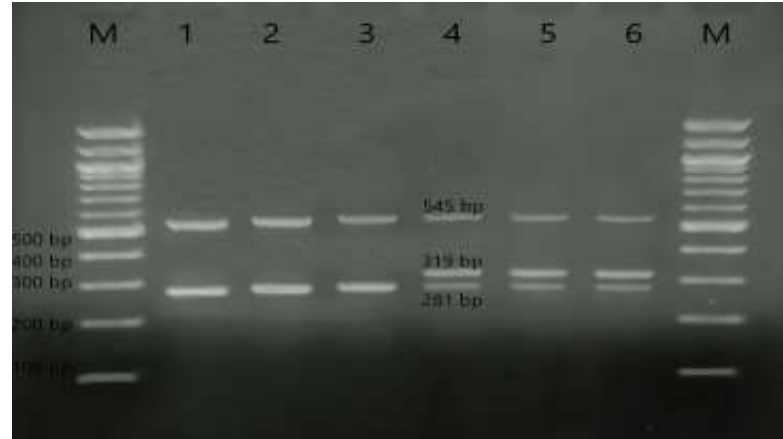
TLR2 geninde rs3804099 varyasyonunu analiz edildiği agaroz jel görüntüsünde 349 bp uzunluğundaki bant PCR başarısını garanti eden kontrol ampliconunu, 228 bp uzunluğundaki bant yabancı ampliconunu, 173 bp uzağındaki bant mutant ampliconu temsil etmektedir (Şekil 1).



(M: Marker; 1, 2: homozigot yabani; 3, 4: heterozigot; 5, 6: homozigot mutant)

Şekil 1. rs3804099 varyasyonunun alellerinin belirlenmesi için çoğaltılan PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüleri

TLR4 geninde rs4986790 varyasyonunu analiz edildiği agaroz jel görüntüsünde 545 bp uzunluğundaki bant PCR başarısını garanti eden kontrol ampliconunu, 319 bp uzunluğundaki bant mutant ampliconunu, 281 bp uzunluğundaki bant yabani ampliconu temsil etmektedir (Şekil 2).



(M: Marker; 1, 2, 3: Homozigot yabani; 4, 5, 6: heterozigot)

Şekil 2. rs4986790 varyasyonunun alellerinin belirlenmesi için çoğaltılan PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüleri

Yapılan χ^2 uyum iyiliği hesaplamaları sonucunda, TLR2 geni rs3804099 polimorfizmi için hasta grubunun Hardy-Weinberg Dengesi'ne uyum sağladığı ($\chi^2=2,3446$; $p=0,1257$), kontrol grubunun ise Hardy-Weinberg Dengesi'nden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde saptığı tespit edildi ($\chi^2=3,9753$; $p=0,046$) (Tablo 4).

Tablo 4. TLR2 geni (rs3804099) hasta ve kontrol gruplarında genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesi

Kontrol Grubu					P değeri
Genotipler	TT	TC	CC	Toplam	
Gözlenen genotipler	29	59	13	101	
Beklenen frekans	0,34	0,49	0,18	1,00	
Beklenen genotipler	33,88	49,23	17,88	101,00	
χ^2				3,9753	0,046
Alleller ($df=1$)	T	C			
Allel Frekansları	0,579	0,421			

Hasta Grubu					P değeri
Genotipler	TT	TC	CC	Toplam	
Gözlenen genotipler	34	56	12	102	
Beklenen frekans	0,37	0,48	0,15	1,00	
Beklenen genotipler	37,69	48,63	15,69	102,00	
χ^2				2,3446	0,1257
Alleller ($df=1$)	T	C			
Allel Frekansları	0,608	0,392			

TLR4 geni rs4986790 polimorfizmi için gerçekleştirilen χ^2 uyum iyiliği analizi, hem hasta grubunun ($\chi^2=0,0644$; $p=0,7997$) hem de kontrol grubunun ($\chi^2=0,0651$; $p=0,7987$) Hardy-Weinberg Dengesi ile uyumlu olduğunu ortaya koydu (Tablo 5).

Tablo 5. TLR4 geni (rs4986790) hasta ve kontrol gruplarında genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesi

Kontrol Grubu					P değeri
Genotipler	AA	AG	GG	Toplam	
Gözlenen genotipler	96	5	0	101	
Beklenen frekans	0,95	0,05	0,00	1,00	
Beklenen genotipler	96,06	4,88	0,06	101,00	
χ^2				0,0651	0,7987
Alleller ($df=1$)	A	G			
Frekanslar	0,975	0,025			

Hasta Grubu					P değeri
Genotipler	AA	AG	GG	Total	P değeri
Gözlenen genotipler	97	5	0	102	
Beklenen frekans	0,95	0,05	0,00	1,00	
Beklenen genotipler	97,06	4,88	0,06	102,00	
χ^2				0,0644	0,7997
Alleller ($df=1$)	A	G			
Frekanslar	0,975	0,025			

Her iki polimorfizm için hasta ve kontrol gruplarında test edilen polimorfik varyasyonların meme kanseri gelişiminde oluşturduğu riski tahmin etmek için OR (Odds Ratio) istatistiği kullanıldı. Bu amaçla OR değerleri ile hesaplanan OR değerleri için %95 güven aralıkları ve p değerleri hesaplandı (Tablo 6, Tablo 7). Hesaplamalar 3 yaygın kalıtım modeline (baskın, aşırı baskın ve çekinik) ve alellik dağılımlara göre yapıldı. Her iki polimorfizmde gözlenen varyasyonların meme kanseri gelişiminde risk faktörü oluşturmadığı gözlemlendi.

Tablo 6. TLR2 geni rs3804099 polimorfizmi ile meme kanseri arasında olası ilişki istatistiği sonuçları

	Genotipler			Aleller		OR %95GA P değeri			Aleller
	TT n	TC n	CC N	T N	C N	Genetik Modeller			
						Baskın Dominant TT /TC+CC	Aşırı baskın Over dominant TT+CC/TC	Çekinik Resesive TT+TC/C C	T/C
Hasta Grubu	34	56	12	124	80	0,806 0,436- 1,467	0,867 0,491- 1,52	0,903 0,375-2,11	0,888 0,601- 1,309
Kontrol Grubu	29	59	13	117	85	0,545	0,672	0,834	0,614

Tablo 7. TLR4 geni rs4986790 polimorfizmi ile meme kanseri arasında olası ilişki istatistiği sonuçları

	Genotipler			Aleller		OR %95GA P değeri			Aleller
	AA n	AG n	GG n	A n	G n	Genetik Modeller			
						Baskın Dominant AA /AG+GG	Aşırı baskın Over dominant AA+GG/A G	Çekinik Resesive AA+AG/ GG	A/G
Hasta Grubu	97	5	0	199	5	0,9897 0,311-3,149	0,9897 0,311-3,149	- -	0,9899 0,320-3,068
Kontrol Grubu	96	5	0	197	5	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999

4. Tartışma ve Sonuç

Toplam meme kanseri vakalarının yaklaşık %25'inde kalıtsal etkenlerin rol oynadığı bildirilmektedir (Schmid, 2012). Genetik faktörler, meme kanseri gelişiminde duyarlılık belirleyici olarak işlev görebilir ve bu faktörlerin tanımlanması, hastalığın insidansının azaltılmasına katkı sağlayabilir (Lis et al., 2003). Meme kanserinin başlangıcının, protoonkogenlerin aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu ile sonuçlanan genetik hasar birikimi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu genetik hasarları, kontrolsüz hücre proliferasyonu ve/veya anormal apoptoz süreçleri takip etmektedir (Schmid, 2012). Genetik varyantların dağılımı yalnızca etnik gruplar arasında değil, aynı zamanda farklı coğrafi bölgeler arasında da değişkenlik göstermektedir (Bågeman, 2008).

TLR4'ün gram negatif bakterilerin lipopolisakarit (LPS) molekülleri ile etkileşimine yönelik çalışmalar, bu reseptörün insan hastalıklarındaki rolünün anlaşılmasına önemli katkılar sağlamıştır. TLR4 geninde yer alan Asp299Gly ve Thr399Ile polimorfizmlerinin, Afrikalı çocuklarda artmış sıtma şiddeti ile ilişkili olduğu ve gram negatif bakteriyel enfeksiyonlar ile septik şok riskini artırabileceği bildirilmiştir (Mockenhaupt et al., 2006). Ayrıca, nadir TLR4 mutasyonlarının meningokokal sepsisli hastalarda artmış duyarlılık ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Smirnova et al., 2003).

2001 yılında Chuang ve ark., TLR10'u tanımlamış ve bu reseptörün TLR1 ve TLR6 ile yüksek homoloji gösterdiğini bildirmiştir (Chuang & Ulevitch, 2001). İlk çalışmalarda TLR10'un ligand için özgün bir reseptör olduğu düşünülmüş olsa da, Hasan ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda TLR10 geninin 4p14 kromozom bölgesinde

TLR1 ve TLR6 ile birlikte kümelendiği ve TLR1 ile TLR2 ile homodimerizasyon oluşturabildiği gösterilmiştir (Hasan et al., 2005). Guan ve ark. (2010), TLR10'un TLR1 ile benzer agonistleri paylaştığını ve TLR1'e benzer şekilde TLR2'ye bağımlı olduğunu bildirmiştir (Guan et al., 2010). Daha güncel çalışmalar ise TLR10'un, TLR2 aracılı bağışıklık yanıtları üzerinde baskılayıcı etkiler gösterebileceğini ortaya koymaktadır (Oosting et al., 2014). TLR polimorfizmlerinin bulaşıcı hastalıklardaki rolü geniş ölçüde araştırılmış olup, TLR1, TLR4, TLR6 ve TLR8 polimorfizmlerinin HIV enfeksiyonu ile; TLR3 ve TLR9 polimorfizmlerinin ise HCV enfeksiyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (El-Bendary et al., 2018).

NF- κ B aktivasyonunun hücre proliferasyonu, apoptoz inhibisyonu ve onkogenез gibi süreçlerdeki rolü bilinmekle birlikte, bu mekanizmaların tüm yönleriyle açıklığa kavuşmadığı görülmektedir. Çeşitli çalışmalar, Toll-benzeri reseptörlerin farklı kanser türlerinde değişen düzeylerde eksprese edildiğini göstermektedir (Bhatelia et al., 2014). Örneğin, akciğer kanseri hücrelerinde TLR9 ekspresyonunun yüksek olduğu ve bu durumun artmış tümör invazivitesi ve anti-apoptotik aktivite ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Ren et al., 2007).

Tümör modellerine bağlı olarak TLR'lerin rolünün değişkenlik gösterebildiği belirtilmektedir. TLR'lerin anti-tümör etkileri, bağışıklık hücreleri veya doğrudan tümör hücreleri üzerinde ortaya çıkabilmekte; bu etkiler, anti-tümör bağışıklık yanıtının güçlendirilmesi veya tümör hücrelerinin apoptoza yönlendirilmesi şeklinde gerçekleşebilmektedir. Bununla birlikte, bazı çalışmalarda TLR aktivitesinin pro-tümöral etkiler de gösterebileceği ifade edilmektedir. Bu etkilerin çoğunlukla tümör hücrelerinde artmış TLR ekspresyonu ile ilişkili olduğu ve ayrıca bağışıklık hücreleri aracılığıyla da pro-tümöral etkilerin ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (Dajon et al., 2017).

Lowe ve ark. tarafından kolit ilişkili kolon kanseri modelinde yapılan çalışmada, TLR2 eksikliği bulunan farelerde tümör hücre sayısının vahşi tipe göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. TLR2'nin nakavt edildiği modellerde hücre proliferasyonunun arttığı ve apoptozun azaldığı; buna ek olarak IL-17A üretiminin arttığı ve IFN- β üretiminin azaldığı bildirilmiştir (Lowe et al., 2010). Bununla birlikte, vahşi tip farelerde TLR2 stimülasyonunun IL-18 üretimini baskıladığı, miyeloid türevi baskılayıcı hücrelerin (MDSC) geçişini azalttığı ve CD8+ T lenfositlerinin sitotoksik aktivitesini artırdığı gözlemlenmiştir (Liu et al., 2015). Bu bağlamda, çalışmamızda elde edilen TLR2 genotip dağılımları değerlendirildiğinde, kontrol grubuna ilişkin bazı dikkat çekici bulgular göze çarpmaktadır. TLR2 geni rs3804099 polimorfizmi için kontrol grubunda gözlemlenen genotip dağılımının Hardy-Weinberg Dengesi'nden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde saptığı tespit edilmiş olup ($\chi^2=3,9753$; $p=0,046$), heterozigot bireylerin (TC; $n=59$) beklenen değer (n=49,23) üzerinde olduğu, buna karşın her iki homozigot grubun da beklenenin altında kaldığı görülmektedir (TT: gözlenen=29, beklenen=33,88; CC: gözlenen=13, beklenen=17,88). Gözlemlenen bu heterozigot fazlalığı örüntüsü, TLR2 reseptörünün doğal bağışıklık yanıtındaki merkezi rolü göz önünde bulundurulduğunda, heterozigot avantajı mekanizmasıyla açıklanabilir; nitekim heterozigot bireylerin her iki alelin sağladığı işlevsel çeşitlilik aracılığıyla patojen tanıma kapasitesi açısından selektif bir avantaj elde etmesi ve bunun dengeleyici seleksiyon örüntüsüne yol açması biyolojik açıdan tutarlı bir mekanizma olarak değerlendirilebilir. Bununla birlikte, örneklem büyüklüğünün görece sınırlı olması (n=101) rastlantısal örnekleme dalgalanmalarına karşı duyarlılığı artırmakta; kontrol grubunun popülasyon temelli bir örneklem yerine hastane başvurularından oluşması ise örneklem yanlılığı riskini beraberinde getirmektedir. Bu iki faktörün bir arada değerlendirilmesi, gözlemlenen Hardy-Weinberg Dengesi sapmasının tek bir mekanizmayla açıklanamayabileceğine ve daha geniş örneklemlili popülasyon temelli çalışmalarda desteklenmesi gerektiğine işaret etmektedir.

TLR4'ün pro-tümöral etkilerinin, konak hücrelerde TLR4 aktivasyonu aracılığıyla ortaya çıkabileceği düşünülmektedir. Fukata ve ark. tarafından kolit ilişkili kolorektal tümör modelinde yapılan çalışmada, TLR4 aktivasyonunun tümör gelişimi için gerekli olduğu ve bu etkinin prostaglandin E2 ve siklooksijenaz-2 üretimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Fukata et al., 2007). Ayrıca, meme kanseri, kolorektal kanser ve pankreatik duktal adenokarsinomda tümör hücrelerinde TLR4 aşırı ekspresyonunun pro-tümöral etkilerle ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Ma et al., 2014).

Bir vaka-kontrol çalışmasında, TLR4 polimorfizmlerinin Lejyoner hastalığına karşı direnç ile ilişkili olduğu ve bu durumun koruyucu bir etki gösterebileceği bildirilmiştir (Hawn et al., 2005).

Bu çalışmada, meme kanseri tanısı almış hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubunda iki farklı polimorfizm incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, TLR2 geninde hasta grubunda %33,33 T alleli ve %11,76 C alleli; kontrol grubunda ise %27,72 T alleli ve %12,87 C alleli tespit edilmiştir. TLR4 geninde ise hem hasta hem de kontrol gruplarında A allelinin baskın olduğu görülmüştür (sırasıyla %95,10 ve %95,05).

Elde edilen sonuçlar, TLR2 (rs3804099) ve TLR4 (rs4986790) polimorfizmlerinin meme kanseri gelişimi ile anlamlı bir ilişki göstermediğini ortaya koymaktadır. Farklı genetik modeller altında yapılan analizlerde, genotip dağılımları

ve alel frekansları açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bununla birlikte, meme kanserinin multifaktöriyel bir hastalık olduğu göz önünde bulundurulduğunda, çevresel ve antropometrik faktörlerin yanı sıra düşük etkili genetik varyasyonların olası katkılarının daha ayrıntılı olarak araştırılması gerekmektedir. Bu bağlamda, daha geniş örneklem büyüklüğüne sahip, çok merkezli ve farklı popülasyonları kapsayan çalışmaların gerçekleştirilmesi, genetik varyasyonların hastalık üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

Kaynakça

- Allin, K. H., & Nordestgaard, B. G. (2011). Elevated C-reactive protein in the diagnosis, prognosis, and cause of cancer. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 48(4), 155-170.
- Bâgeman, E. (2008). *Genetic polymorphisms in breast cancer in relation to risk and prognosis*. Department of Oncology, Clinical Sciences, Lund University.
- Balkwill, F. R., & Mantovani, A. (2012, February). Cancer-related inflammation: common themes and therapeutic opportunities. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 22, No. 1, pp. 33-40). Academic Press.
- Bhatelia, K., Singh, K., & Singh, R. (2014). TLRs: linking inflammation and breast cancer. *Cellular signalling*, 26(11), 2350-2357.
- Browne, E. P. (2012). Regulation of B-cell responses by Toll-like receptors. *Immunology*, 136(4), 370-379.
- Cheng, T. S., Lim, P. Y., Fang, J., Mohamad, M. M. F., Mohamad, H. E. A., & Rahman, J. (2020). Association between MIR499A rs3746444 polymorphism and breast cancer susceptibility: a meta-analysis. *Scientific Reports (Nature Publisher Group)*, 10(1).
- Chuang, T. H., & Ulevitch, R. J. (2001). Identification of hTLR10: a novel human Toll-like receptor preferentially expressed in immune cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 1518(1-2), 157-161.
- Coussens, L. M., & Werb, Z. (2002). Inflammation and cancer. *Nature*, 420(6917), 860-867.
- Dajon, M., Iribarren, K., & Cremer, I. (2017). Toll-like receptor stimulation in cancer: a pro-and anti-tumor double-edged sword. *Immunobiology*, 222(1), 89-100.
- Ehsan, N., Murad, S., Ashiq, T., Mansoor, M. U., Gul, S., Khalid, S., & Younas, M. (2013). Significant correlation of TLR4 expression with the clinicopathological features of invasive ductal carcinoma of the breast. *Tumor Biology*, 34(2), 1053-1059.
- El-Bendary, M., Neamatallah, M., Elalfy, H., Besheer, T., Elkholy, A., El-Diasty, M., ... & Elhammady, D. (2018). The association of single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptor 3, Toll-like receptor 7 and Toll-like receptor 8 genes with the susceptibility to HCV infection. *British journal of biomedical science*, 75(4), 175-181.
- Fukata, M., Chen, A., Vamadevan, A. S., Cohen, J., Breglio, K., Krishnareddy, S., ... & Subbaramaiah, K. (2007). Toll-like receptor-4 promotes the development of colitis-associated colorectal tumors. *Gastroenterology*, 133(6), 1869-1869.
- Guan, Y., Ranao, D. R. E., Jiang, S., Mutha, S. K., Li, X., Baudry, J., & Tapping, R. I. (2010). Human TLRs 10 and 1 share common mechanisms of innate immune sensing but not signaling. *The Journal of Immunology*, 184(9), 5094-5103.
- Hasan, U., Chaffois, C., Gaillard, C., Saulnier, V., Merck, E., Tancredi, S., ... & Trinchieri, G. (2005). Human TLR10 is a functional receptor, expressed by B cells and plasmacytoid dendritic cells, which activates gene transcription through MyD88. *The Journal of Immunology*, 174(5), 2942-2950.
- Hawn, T. R., Verbon, A., Janer, M., Zhao, L. P., Beutler, B., & Aderem, A. (2005). Toll-like receptor 4 polymorphisms are associated with resistance to Legionnaires' disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(7), 2487-2489.
- Lis, C. G., Grutsch, J. F., Vashi, P. G., & Lammersfeld, C. A. (2003). Is serum albumin an independent predictor of survival in patients with breast cancer?. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 27(1), 10-15.
- Liu, Y., Yan, W., Tohme, S., Chen, M., Fu, Y., Tian, D., ... & Tsung, A. (2015). Hypoxia induced HMGB1 and mitochondrial DNA interactions mediate tumor growth in hepatocellular carcinoma through Toll-like receptor 9. *Journal of hepatology*, 63(1), 114-121.

18. Lowe, E. L., Crother, T. R., Rabizadeh, S., Hu, B., Wang, H., Chen, S., ... & Arditi, M. (2010). Toll-like receptor 2 signaling protects mice from tumor development in a mouse model of colitis-induced cancer. *PLoS one*, 5(9).
19. Ma, F. J., Liu, Z. B., Hu, X., Ling, H., Li, S., Wu, J., & Shao, Z. M. (2014). Prognostic value of myeloid differentiation primary response 88 and Toll-like receptor 4 in breast cancer patients. *PLoS one*, 9(10).
20. Mockenhaupt, F. P., Cramer, J. P., Hamann, L., Stegemann, M. S., Eckert, J., Oh, N. R., ... & Bienzle, U. (2006). Toll-like receptor (TLR) polymorphisms in African children: common TLR-4 variants predispose to severe malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(1), 177-182.
21. O'Byrne, K. J., & Dalglish, A. G. (2001). Chronic immune activation and inflammation as the cause of malignancy. *British journal of cancer*, 85(4), 473-483.
22. Oosting, M., Cheng, S. C., Bolscher, J. M., Vestering-Stenger, R., Plantinga, T. S., Verschueren, I. C., ... & Kullberg, B. J. (2014). Human TLR10 is an anti-inflammatory pattern-recognition receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(42), E4478-E4484.
23. Ozbayer, C., Kurt, H., & Yangi, B. (2014). Genetic variants of TLR4 and TLR4 signal pathway and its association with insulin resistance and diabetes risk. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 5(2), 168-172.
24. Ren, T., Wen, Z. K., Liu, Z. M., Liang, Y. J., Guo, Z. L., & Xu, L. (2007). Functional expression of TLR9 is associated to the metastatic potential of human lung cancer cell. *Cancer biology & therapy*, 6(11), 1704-1709.
25. Robertson, F. M., Bondy, M., Yang, W., Yamauchi, H., Wiggins, S., Kamrudin, S., ... & Barsky, S. H. (2010). Inflammatory breast cancer: the disease, the biology, the treatment. *CA: a cancer journal for clinicians*, 60(6), 351-375.
26. Schmid, H. (2012). " Aromatase and the Pharmacogenomic Profile-Influence of CYP19A1 polymorphisms in the response of breast cancer patients treated with aromatase inhibitors".
27. Smirnova, I., Mann, N., Dols, A., Derkx, H. H., Hibberd, M. L., Levin, M., & Beutler, B. (2003). Assay of locus-specific genetic load implicates rare Toll-like receptor 4 mutations in meningococcal susceptibility. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(10), 6075-6080.
28. Wendt, C., & Margolin, S. (2019). Identifying breast cancer susceptibility genes—a review of the genetic background in familial breast cancer. *Acta Oncologica*, 58(2), 135-146.
29. Yıldırım M. (2019). Meme kanserinde usnik asitin inflamasyon üzerine olan etkilerinin araştırılması. Doktora tezi, Mersin Üniversitesi, MERSİN