



T.C.

KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI

**IRAK'TAKİ MEME KANSERLİ KADINLARDA
OKSİDATİF BİYOMARKERLERİN APE1 GEN
EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

ALTAYEB JASİM MOHAMMED

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR / 2022



T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI

**IRAK'TAKİ MEME KANSERLİ KADINLARDA
OKSİDATİF BİYOMARKERLERİN APE1 GEN
EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

ALTAYEB JASİM MOHAMMED

YÜKSEK LİSANS

DANIŞMAN
Doç. Dr. Murat ÇANLI

KIRŞEHİR / 2022

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Altayeb Jasim Mohammed



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.



ÖNSÖZ

Öncelikle işimi kolaylaştıran ve mesajımı tamamlamamı sağlayan Allah'a hamd ve şükürler olsun, ayrıca bana destek olan ve anlamını öğreten saygıdeğer Doç. Dr. Murat Çanlı'ya da tüm kalbimle teşekkür ederim. Sabrım ve gücüm var ve en zor durumlarımda nezaketi ve destekli tavsiyesiyle beni terk etmeyen, ayrıca bugün bildiğim her şeyi bana öğreten, bana inanıp bana inanan ve bana güç veren güçlü sığınağım anneme yürekten teşekkürler ederim. Yüksek lisansımı tamamlamama yardımcı olacak tüm desteklerinden dolayı güç kaynağım olan canım kardeşime, bana olan sevgi ve desteğinden dolayı ve bana zorlukların üstesinden gelmek ve başarılı olmak için ihtiyacım olan ruhu verdiği için en içten teşekkürlerimi sunarım, hayatımdaki bu önemli adımı atmamda beni cesaretlendiren sevgili halam ve eşi Dr. Amer H. Alkhashali ve oğulları mohamed'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Hayatımdaki bu önemli adımda yer alan herkese tüm sevginiz ve desteğiniz için tüm kalbimle teşekkür ediyorum, sizler olmasaydınız başarıya ulaşmayı hayal edemezdim.

Mayıs, 2022.

Altayeb Jasim Mohammed

İçindekiler

TEZ BİLDİRİMİ	iii
ÖNSÖZ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLO LİSTESİ.....	x
KISALTMA LİSTESİ.....	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç	3
1.2. Araştırma Planı	3
2. LİTERATÜR İNCELEMESİ	4
2.1. Kanser	4
2.2. Meme Kanseri.....	4
2.3. Meme Kanseri Türleri	5
2.3.1. İnvaziv olmayan meme kanseri	5
2.3.2. Lobüler karsinoma in situ (LCIS).....	5
2.3.3. Duktal in situ karsinom	5
2.3.4. İnvaziv meme kanseri	5
2.3.5. Lobüler karsinom infiltrasyonu (LCI).....	6
2.3.6. Sızan duktal karsinom.....	6
2.3.7. Müsinöz karsinom.....	6
2.3.8. İnflamatuar meme kanseri.....	6
2.4. Meme kanserinin evreleri.....	7
2.4.1. Aşama 0.....	7
2.4.2. Aşama 1	7
2.4.3. Aşama 2	7
2.4.4. Aşama 3.....	7
2.4.5. Aşama 4.....	7
2.5. Laboratuvar Tanısı	8
2.6. Meme Kanseri Risk Faktörleri	8
2.7. Glutatyon peroksidaz 1 (GPX1).....	9
2.8. Estradiol (E2).....	10

2.9. Malondialdehit (MDA)	12
2.10. Reaktif oksijen türleri (ROS).....	13
2.11. APE1 Geni	14
2.12. APE1 gen ifadesi	18
2.13. APE1 redoks sinyalleşmesinde.....	18
2.14. APE1 DNA onarımı veya redoks sinyali inhibitörleri.....	20
3. MATERYALLER VE YÖNTEM	22
3.1. Materyaller	22
3.1.1. Hastalar ve Kontrol Grupları.....	22
3.1.2. Ekipman ve Aparat.....	22
3.1.3. Kimyasal Malzemeler	23
3.1.4. Çalışmada kullanılan primerler	24
3.1.5. Kitler	24
3.2. Yöntemler.....	25
3.2.1. Kan Örneklemeşi	25
3.2.2. İnsan Glutasyon Peroksidaz 1 (GPX1) Ölçümü.....	25
3.2.2.1.Prensip.....	25
3.2.2.2.Reaktif hazırlama	26
3.2.2.3.Prosedür	27
3.2.2.4.Sonuçların hesaplanması	28
3.2.3. İnsan Estradiol (E2) Ölçümü.....	28
3.2.3.1.Prensip.....	28
3.2.3.2.Reaktif hazırlama	28
3.2.3.3.Prosedür	29
3.2.3.4.Sonuçların hesaplanması	29
3.2.4. İnsan Malondialdehit (MDA) Ölçümü.....	30
3.2.4.1.Prensip.....	30
3.2.4.2.Reaktif hazırlama	30
3.2.4.3.Prosedür	31
3.2.4.4.Sonuçların hesaplanması	32
3.2.5. İnsan reaktif oksijen türlerinin (ROS) ölçümü.....	33
3.2.5.1.Reaktif hazırlama	33
3.2.5.2.Prosedür	33
3.2.5.3.Sonuçların hesaplanması	34
3.3. APE1 gen ekspresyon seviyesinin tahmini:.....	34

3.3.1. RNA Ekstraksiyonu	34
3.3.1.1. RNA Arıtma	34
3.3.2. Ters Transkripsiyon (RNA'dan cDNA'ya) prosedürü	35
3.3.2.1. Protokol:	35
3.3.3. Gerçek zamanlı- PCR	36
3.3.3.1. KAPA SYBR® FAST qPCR Master Mix (2X) Kiti.	36
3.3.3.2. Prosedür	36
3.4. Gen ifadesi denklemleri	38
3.5. İstatistiksel Analiz:	38
4. BULGULAR	39
4.1. Antropometrik ve vücut kitle indeksi (BMI) çalışması	39
4.2. Aile öyküsü	39
4.3. Glutasyon peroksidaz 1 (GPX1)	40
4.4. Estradiol (E2)	40
4.5. Malondialdehit (MDA):	41
4.6. Reaktif oksijen türleri (ROS)	41
4.7. APE1 gen ekspresyon seviyesinin tahmini	42
4.8. Kimyasal ölçümler arasındaki korelasyon	43
4.9. Değişkenler ve gen katlanması arasındaki korelasyon	44
5. SONUÇLAR	45
5.1. Obezite	45
5.2. Aile geçmişi	45
5.3. Glutasyon peroksidaz 1	46
5.4. Malondialdehit	46
5.5. Estradiol	47
5.6. Oksidatif stres	47
5.7. Reaktif oksijen türleri	48
5.8. APE1 geni	48
6. TARTIŞMA VE ÖNERİLER	50
6.1. Tartışma	50
6.2. Öneriler	50
KAYNAKLAR	51
EKLER	65
ÖZGEÇMİŞ	69

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil (2- 1): Dönüşüm süreci [12].....	4
Şekil (2- 2): Östrojenin temel biyolojik olarak aktif formları [36].	11
Şekil (2- 3): Dönüştürülmüş enol formundaki malondialdehitin (MDA) yapısı [40].	12
Şekil (2- 4) : ROS üretimine çeşitli faktörler neden olur.	13
Şekil (2- 5): Baz eksizyon onarım proteinlerinin protein yapısı [50].	14
Şekil (2- 6): Apürinik/apirimidinik endonükleaz 1 (APE1) protein bölgeleri, işlevleri ve uygulamaları [56].	15
Şekil (2- 7): Apürinik/apirimidinik endonükleaz 1'in (APE1) redoks sinyalleme işlevi [56].	20
Şekil (3- 1): standart GPX1'in seri dilüsyonu.	27
Şekil (3- 2): GPX1 konsantrasyonunun belirlenmesi için standart eğri.....	28
Şekil (3- 3): E2 konsantrasyonunun belirlenmesi için standart eğri.	30
Şekil (3- 4): standart MDA'nın seri dilüsyonu.	31
Şekil (3- 5): MDA konsantrasyonunun belirlenmesi için standart eğri.	33
Şekil (3- 6): ROS konsantrasyonunun belirlenmesi için standart eğri.	34
Şekil (4- 1): Real-time – PCR ile APE1 geninin amplifikasyon eğrileri.	42

TABLO LİSTESİ

Tablo (2- 1): Meme kanseri risk faktörleri [29].....	8
Tablo (2- 2): APE1'in kanserlerdeki rolü.	16
Tablo (2- 3): APE1 redoks kontrollü TF'ler.	19
Tablo (2- 4): APE1 DNA onarımı ve redoks sinyali inhibitörleri.	20
Tablo (3 - 1): Çalışmada Kullanılan Ekipman ve Aparatlar.....	22
Tablo (3 - 2): Bu çalışmada kullanılan kimyasallar firmalar ve menşei ile birlikte.	23
Tablo (3 - 3): Bu çalışmada kullanılan primerlerin sırası.....	24
Tablo (3 - 4): Çalışmada kullanılan kitler.....	24
Tablo (3 - 5): Ters Transkripsiyonun Bileşenleri.	36
Tablo (3 - 6): RT-PCR'nin reaksiyon bileşenleri.....	37
Tablo (3 - 7): RT-PCR Bisiklet Programı.....	37
Tablo (3 - 8): Referans genin (GAPDH) RT-PCR Döngü Programı.	37
Tablo (4- 1): Kontrol ve hasta gruplarının Yaş ve VKİ açısından karşılaştırılması.....	39
Tablo (4- 2) : Örneklem çalışmasının kontrol ve hasta gruplarında Aile yüküne göre dağılımı.	40
Tablo (4- 3) : Glutatyon peroksidaz l'de kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma.	40
Tablo (4- 4) : Estradiol'de kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma.....	41
Tablo (4- 5) : Malondialdehitte kontrol ve hasta gruplarının karşılaştırılması.....	41
Tablo (4- 6) : Reaktif oksijen türlerinde kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma.	42
Tablo (4- 7): APE1 geninin gen ifadesi.....	43
Tablo (4- 8): Meme hastası grubundaki değişkenler arasındaki korelasyonlar (P-değeri). 43	
Tablo (4- 9) : Değişkenler ve gen kıvrımı arasındaki korelasyon katsayısı ifade hastalarda.	44

KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
α	: Alfa
β	: Beta
<i>pg/mL</i>	: Mililitre başına pikogram
μ l	: mikrolitre
mL	: Mililitre
<i>nm</i>	: Nanometre
<i>IU/mL</i>	: Mililitre başına uluslararası birimler
nmol/ml	: Mililitre başına nanomol
<i>kg/m²</i>	: Metrekare başına kilogram

Kısaltmalar	Açıklama
BC	: Meme kanseri
APE1	: Redoks efektör faktör 1, yaygın olarak Ref-1 olarak bilinir
DNA	: Deoksiribonükleik asit
GPX1	: Glutasyon Peroksidaz 1
ROS	: Reaktif oksijen türleri
E2	: Estradiol
MDA	: Malondialdehit
TFs	: Transkripsiyon faktörleri
LCIS	: Lobüler karsinom in situ
LCI	: Lobüler karsinom infiltrasyonu
DCI	: Sızan duktal karsinom
DCIS	: Duktal hücreli karsinom in situ
CEA	: karsinom embriyonik antijen
HRT	: Hormon değişim terapisi
BMI	: Vücut kitle indeksi
BER	: Baz Eksizyon Onarımı
FEN1	: Kanat endonükleaz 1
MEFs	: Fare Embriyonik Fibroblastları
GAPDH	: Gliseraldehit fosfat dehidrojenaz
PCR	: Polimeraz zincirleme reaksiyonu
RT-PCR	: gerçek zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rpm	: Dakikada devrim
oC	: Santigrat derece
OD	: Optik yoğunluk
bp	: çift bazlı
ELISA	: Enzim bağlı immünosorbent deneyi
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
BRCA	: Meme Kanseri Geni
EPIC	: Avrupa grubu kanser ve beslenmeyi araştırarak

ÖZET

YÜKSEK LİSANS / TEZİ

IRAK MEME KANSERİ KADINLARINDA OKSİDATİF BİYOBELİRTEÇLERİN APE1 GEN EKSPRESYONU ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

ALTAYEB JASIM MOHAMMED

KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYO MÜHENDİSLİK BÖLÜMÜ

Danışman: Doç. Dr. Murat Çanlı

Bu çalışma, meme kanserli kadınlarda bazı klinik biyobelirteçlerle APE1 gen ekspresyonunu araştırmayı amaçladı. Bu çalışmaya doksan kadın alındı; eşit olarak 2 gruba ayrıldılar: Bağdat'taki Al-Eluia kadın bakımı hastanesine giden meme kanseri hasta grubu ve sağlıklı kontrol kadın grubu. Hastalardan ve sağlıklı kontrol grubundan beş mililitre kan alındı. İki mililitre kan doğrudan EDTA tüplerine iletildi ve ardından Glutatyon Peroksidaz 1 (GPX1), Estradiol (E2), Malondialdehit (MDA) ve reaktif oksijen türleri (ROS) gibi oksidatif biyobelirteçleri belirlemek için ELISA tekniği kullanıldı. RT-PCR yöntemi kullanılarak gen ekspresyonu için üç mililitre kan kullanıldı. Bu çalışmanın sonucu, APE1 geninin ekspresyonunda anlamlı farklılıklar olduğunu gösterdi, hastalar için gen katlanması 3.004 ± 0.15 idi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1.00 ± 0.00 , Estradiol için ise hasta grubu için yüksek bulundu. meme kanseri hastalarında 146.26 ± 10.07 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek derecede anlamlıydı 34.19 ± 1.80 P-Değeri 0.0001 idi, kontrol grubu için glutatyon peroksidaz 1 (GPX1) yüksek bulundu, fark meme kanseri hastalarında oldukça önemliydi 509.38 ± 37.78 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1253.94 ± 40.09 P-Değeri 0.0001 idi, reaktif oksijen türleri (ROS) hasta grubu için yüksek bulundu, meme kanseri hastalarında fark oldukça önemliydi 623.19 ± 67.53 kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında 351.01 ± 23.35 P-Değeri 0.0003 idi ve malondialdehitte (MDA) hasta grubu için yüksek bulundu, meme kanserinde fark anlamlıydı r hasta 4.09 ± 0.52 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2.76 ± 0.42 P-Değeri 0.050 idi. Sonuç olarak, meme kanseri hastaları ile sağlıklı kişiler karşılaştırıldığında, birçok faktörün (GPX1, E2, MDA, ROS ve APE1 geni gibi) olağan dışı olduğu keşfedildi.

Mayıs 2022, Sayfa 84

Anahtar Kelimeler: APE1 geni, Glutasyon Peroksidaz 1 (GPX1), Estradiol (E2), Malondialdehit (MDA) ve reaktif oksijen türleri (ROS), RT-PCR.



ABSTRACT

M.Sc. THESIS

INFLUENCE OF OXIDATIVE BIOMARKERS ON APE1 GENE EXPRESSION IN IRAQI BREAST CANCER WOMEN

ALTAYEB JASIM MOHAMMED

KIRSEHIR AHI EVRAN UNIVERSITY

INSTITUTE OF SCIENCES

DEPARTMENT OF GENETICS AND BIOENGINEERING

Supervisor: Associate Prof. Murat ÇANLI

This study aimed to investigate the APE1 gene expression with some clinical biomarkers in breast cancer women. Ninety women were enrolled in this study; they were divided equally into 2 groups: the breast cancer patients' group, which attended the Al-Eluia hospital for women's care in Baghdad, and the healthy control women's group. Five milliliters of blood were taken from patients and a healthy control group. Two milliliters of blood were transmitted directly to EDTA tubes, and then the ELISA technique was used to determine the oxidative biomarkers like Glutathione Peroxidase 1 (GPX1), Estradiol (E2), Malondialdehyde (MDA), and reactive oxygen species (ROS). Three milliliters of blood were used for gene expression by using the RT-PCR method. The result of this study showed that there were significant differences in the expression of the APE1 gene were the gene folding for patients was 3.004 ± 0.15 when compared with the control group 1.00 ± 0.00 , as for Estradiol was found elevated for the patients group the difference was highly significant when in breast cancer patients 146.26 ± 10.07 when compared with the control group 34.19 ± 1.80 the P-Value was 0.0001, glutathione peroxidase 1 (GPX1) were found elevated for the control group the difference was highly significant when in breast cancer patients 509.38 ± 37.78 when compared with control group 1253.94 ± 40.09 the P-Value was 0.0001, reactive oxygen species (ROS) were found elevated for the patients group the difference was highly significant when in breast cancer patients 623.19 ± 67.53 when compared with control group 351.01 ± 23.35 the P-Value was 0.0003 and in malondialdehyde (MDA) were found elevated for the patients group the difference was

significant when in breast cancer patients 4.09 ± 0.52 when compared with the control group 2.76 ± 0.42 the P-Value was 0.050. In conclusion, when comparing breast cancer patients to healthy people, it was discovered that several factors (like GPX1, E2, MDA, ROS, and APE1 gene) were out of the ordinary.

May 2022, Pages 84

Keywords: APE1 gene, Glutathione Peroxidase 1 (GPX1), Estradiol (E2), Malondialdehyde (MDA), and reactive oxygen species (ROS), RT-PCR.



1. GİRİŞ

Meme kanseri, dünya genelinde kadınlar arasında kansere bağlı ölümlerin en yaygın nedenidir. Oranlar dünya genelinde yaklaşık beş kat farklılık gösteriyor, ancak yakın zamana kadar hastalık oranlarının düşük olduğu bölgelerde artıyor. Östrojenler, bilinen birçok risk faktörü ile ilişkilidir. Obezitede, menopoz sonrası kadınlarda, erken menarşta ve geç menopozda risk artar ve ileriye dönük çalışmalar, artan riskin yüksek endojen östradiol seviyeleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Çocuk doğurma, daha erken ilk doğan güvenliği ve daha fazla sayıda doğum ile riski azaltır; emzirmenin koruyucu bir etkisi olması muhtemeldir. Hem oral kontraseptifler hem de menopoz hormon tedavisi meme kanseri riskinde, kullanım sona erdikten sonra azalma eğiliminde olan küçük bir artışa neden olur. Fiziksel aktivite koruyucu olsa da alkol riski artırır. Bazı genlerdeki mutasyonlar meme kanseri riskini önemli ölçüde artırır, ancak bunlar vakaların az bir kısmını oluşturur [1].

Son yıllarda kanser insidansındaki artış ve bunun bir kişinin çeşitli fiziksel, zihinsel ve sosyal yönleri üzerindeki etkisi, kanseri yüzyılın büyük bir sorunu haline getirmiştir [2]. Ayrıcalıklı bölgelerde, bu durumun prevalansı %1 ila %2 arasında değişmekte olup, az gelişmiş ülkelerde yıllık yaklaşık %5'lik bir artış söz konusudur [3]. Kadınlar arasında en yaygın kanser türü meme kanseridir. Bir hastanın meme kanserinden ölme olasılığı 35'te birdir [2]. X-ray mamografi, ultrason ve manyetik rezonans görüntüleme (MRI), meme kanseri için en düzenli olarak kullanılan klinik tanı teknikleridir [4]. Bu üç prosedür, rutin tıbbi kontrollerde veya semptomu olmayan kişilerde meme kanserini teşhis etmek için kullanılır. Tıbbi biyopsi ile karşılaştırıldığında, bu üç prosedür ağrısızdır ve klinik tanıda sıklıkla kullanılır. Ancak meme kompresyonu nedeniyle röntgen mamografisi ağırlıdır [5]. Bunun dışında kullanılan yüksek doz iyonlaştırıcı radyasyon hastalar için tehlikelidir ve sağlıklı dokularda kansere neden olabilir. Ultra-ses ekipmanı ile derinde yatan veya katı malign dokuyu tespit etmek zordur [4]. MRI teknolojisi, özellikle küçük tümörler için, yumuşak dokuların olağanüstü yüksek çözünürlüklü resimlerini üretir [5].

Yağ dokusu adı verilen bir tür yağ dokusu memeyi oluşturur. Kadın göğüsleri genellikle erkek göğüslerinden daha fazla salgı dokusuna sahiptir [6]. Kadın göğüsleri, süt kanalları

yoluyla bu loblara ve lobüllere bağlanan küçük lobüllere ayrılan 12-20 lob içerir [7]. Memenin yağ dokusu, sinirler, kan damarları, lenf damarları, lenf düğümleri, fibröz bağ dokusu ve bağlardan oluşan bir ağla doludur [7]. Kadın memesi, yeni doğan bebeklere harika bir beslenme sunarken aynı zamanda kadına cinsel haz da sağlamak üzere tasarlanmıştır [8]. Göğüsler, vücudun hormonal seviyelerinde ortaya çıkan düzensizliklere hızla tepki veren salgı organlarıdır. Adet döngüsü ile senkronize olarak, döngüsel değişikliklere izin verirler [8]. Kadınların genital sistemleri onlarla yakından ilişkilidir. Meme ucunun uyarılması, hipofiz bezinden protaktinyum salgısını artırır. Rahim de bu hormondan etkilenir ve kasılmalar yapabilir. Koltuk altlarında ayrıca meme dokularını drene eden bir lenf düğümü bulunur. Bir kadın doğum yaptıktan ve sütü tamamen geliştikten sonra, o bölgedeki meme dokusunun şişmesi nedeniyle kollarının altında belirgin şişlikler hissedebilir [8].

Yaygın olarak Ref-1 olarak bilinen redoks efektör faktör 1, çeşitli transkripsiyon faktörlerinin (TF'ler) indirgeyici bir uyarıcısı olarak çalışır. Örneğin, APE1, aktivatör protein-1, nükleer faktör kappa B, hipoksi ile indüklenebilir faktör 1, birleştirilmiş kutu gen 8, transkripsiyon 3'ün sinyal dönüştürücü aktivatörü ve ayrıca p53'ü uyararak apoptoz, inflamasyon, anjiyogenez ve birçok yolda yer alır. Hücresel homeostaz, reaktif oksijen ve nitrojeni kontrol etmek için çeşitli fizyolojik süreçleri yöneten ve redoks dengeleme ajanları (tioredoksin, katalaz ve süperoksit dismutaz gibi) ile etkileşime giren aktive edici transkripsiyon faktörleri (TF'ler) aracılığıyla APE1/Ref-1 (redoks) tarafından kontrol edilir. Tür konsantrasyonları. APE1/fonksiyon(lar) Ref-1'lerin etkinliği, katılımcı protein(ler) ile çift bağlı etkileşimlerle belirlenir; BER yolu, TF'ler, enerji metabolizması, hücre iskeleti elemanları ve strese bağlı tepkiler, APE1/Ref-1 tarafından düzenlenen aktiviteler arasındadır. Sonuç olarak, APE1/Ref-1, temel hücre hayatta kalma yollarını düzenleyen bir " hub proteini " olarak işlev görür. APE1/Ref-1, birkaç çalışma grubunun çeşitli kanser türleri (örneğin, yumurtalık, gastro-özofageal, pankreatikobiliyer) için gösterdiği gibi, düzensizliği, translasyon sonrası değişiklikler veya dizisindeki polimorfizm yoluyla bu rahatsızlıklara giden tepkiyi değiştirebilir (akciğer, prostat, servikal, kolorektal, meme, hepatoselüler, mesane, baş ve boyun, mide ve glial kanserler) [9].

1.1. Amaç

Bu çalışma, meme kanserli kadınlarda bazı klinik biyobelirteçlerle APE1 gen ekspresyonunu araştırmayı amaçladı.

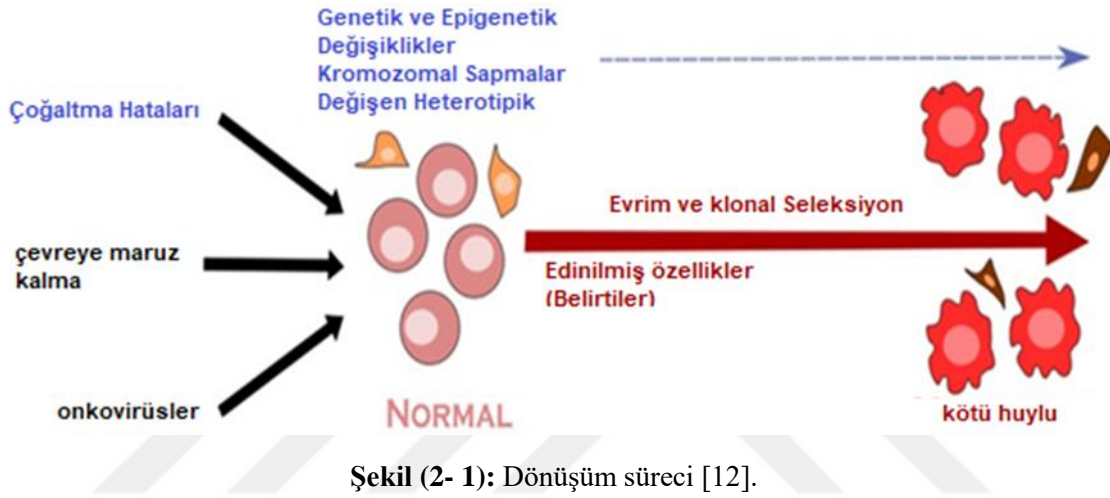
1.2. Araştırma Planı

1. Sağlıklı kontrol ve meme kanseri kadınlardan kan örneklerinin toplanması.
2. Bazı kan biyobelirteçlerini araştırın (GPX1, E2, ROS, MDA).
3. Toplam RNA'nın ekstraksiyonu ve cDNA'ya dönüřtürülmesi.
4. APE1 gen ekspresyonunun meme kanseri insidansı ile tespiti.

2. LİTERATÜR İNCELEMESİ

2.1. Kanser

Kanser, son yıllarda insanlarda ciddi bir tehlike ve önde gelen bir ölüm nedeni olarak ortaya çıkmıştır. Normal hücrelerin kötü huylu hücelere fenotipik dönüşümü ile sonuçlanan dış etkiler ve iç genetik değişikliklerin bir kombinasyonundan kaynaklanır [10]. Daha sonra kanserli hücreler sağlıklı doku sınırlarının ötesinde çoğaldı ve vücudun uzak bölgelerine metastaz yaptı [11].



Şekil (2- 1): Dönüşüm süreci [12].

Kötü huylu bir tümörün yakındaki dokuları ve uzak yerleri hedefleyerek ikincil kanserlere yol açma potansiyeli kritik bir özelliktir (metastaz). Metastatik tümör, kansere bağlı ölümlerin yüzde 90'ından fazlasından sorumludur [12].

2.2. Meme Kanseri

Meme kanseri (BC), kadınlarda en sık görülen malignitelerden biridir ve mortalitenin ikinci önde gelen nedenidir. Asya'da daha yaygın hale geliyor ve çevresel ve genetik değişkenlerin karmaşık bir etkileşiminden kaynaklanıyor. Meme kanseri sağkalım oranları, düşük gelirli ülkelerde yüzde 40'tan yüksek gelirli ülkelerde yüzde 80'e kadar değişen 5 yıllık sağkalım oranları ile gezegende büyük farklılıklar göstermektedir [13][14]. Irak Kanser Kayıt Defteri'ne göre meme kanseri, topluma zarar veren ilk 10 malign tümör arasında ilk sırada yer almaktadır ve kadınlar arasında en sık görülen kanser türüdür ve belgelenen tüm kadın malignitelerinin üçte birini oluşturmaktadır [15]. 2016 yılında 897 kadın bu habis hastalıktan öldü, bu da onu Iraklı kadınlar arasında kansere bağlı ölümlerin

%23,6'sının önde gelen nedeni ve genel olarak erkekler ve kadınlar arasında kansere bağlı ölümlerin %12,1'inin ikinci en büyük nedeni haline getirdi. Meme kanseri durumunda, potansiyel meme kanseri risk faktörleri bilgisine ve tanı konan kadınların klinik özelliklerine dayalı olarak erken teşhisin planlanması kritik öneme sahiptir [16].

2.3. Meme Kanseri Türleri

2.3.1. İnvaziv olmayan meme kanseri

Lobül veya kanal bölgesinin ötesine geçmemiş kanserdir. Yerinde duktal karsinoma olarak bilinen bir tür invaziv olmayan meme kanseri. Duktal karsinoma in situ, süt kanallarının içinde anormal hücreler olarak başlayan ancak yakındaki dokuya veya dışarıya hareket etmeyen bir kanser türüdür. Atipik hücreler, lobüllerin veya kanalların ötesine yayılmadıkları için gelişecek ve invaziv meme kanserine dönüşecektir. "Yerinde", "yerinde" anlamına gelen bir deyimdir. Her bilimsel birimin olağan bağlamı görülür ve mevcut bilginin biyolojik yorumu sağlanır. Lobüler karsinoma in situ, invaziv kanserin ilerlemesinin öncüsü olarak hizmet eden minimal düzeyde tehdit edici bir endikasyon olduğundan, seçim yapıldıktan sonra daha fazla operasyonel müdahale gereksizdir ve basitçe ardışık takip önerilir. Duktal karsinoma in situ tedavisinde meme koruyucu tedavinin meme kanseri için en güvenli tedavi olarak kabul edildiğini, önlemeye çalıştığımız kanser olduğunu hatırlamakta fayda var. [17].

2.3.2. Lobüler karsinoma in situ (LCIS)

Bu tür meme kanseri meme lobüllerinden gelişir. Meme kanseri meme dokusunun lobüllerine yayılmamıştır. İnvaziv olmayan meme kanserine yaygın olarak lobüler in situ karsinom denir [18].

2.3.3. Duktal in situ karsinom

Göğüs kanalına lokalize olan meme kanseri, invaziv olmayan meme kanserinin en yaygın türüdür. Duktal karsinoma in situ örneği, duktal komedokarsinomdur [19].

2.3.4. İnvaziv meme kanseri

Lobüllerdeki veya süt kanallarındaki düzensiz hücrelerin meme dokusuna yaklaşmasıyla oluşur. Kanser hücreleri, bağışıklık sistemi veya sistemik dolaşım yoluyla meme yoluyla

vücudun diğer bölgelerine göç edebilir. Tümör, bir dakika veya daha sonra önemli ölçüde daha büyük olduğunda, büyümesinin erken döneminde hareket edebilir. Kadınlarda en sık görülen karsinom invaziv meme kanseridir [20].

2.3.5. Lobüler karsinom infiltrasyonu (LCI)

İnfiltrate lobüler karsinom, invaziv lobüler karsinom olarak da bilinir. LCI, vücudun diğer bölgelerine yayılabilmesine rağmen, anne sütü bezlerinin lobüllerinde (lobüller) başlar [21].

2.3.6. Sızan duktal karsinom

İnvaziv duktal karsinom, sızan duktal kanseri tanımlamak için kullanılan bir terimdir. DCI anne sütü kanallarında başlar ve meme yağ dokularına ve belki de vücudun diğer bölümlerine girdiği kanal duvarına yayılır [22].

2.3.7. Müsinöz karsinom

Kolloid karsinom olarak da bilinen mutinöz karsinom, mukus üreten kanser hücrelerinin neden olduğu nadir görülen bir meme kanseridir. Genel olarak, asi karsinomlu bayanlar, diğer invaziv kanser türlerine sahip kadınlardan daha iyi tahminlere sahiptir [23].

2.3.8. İnflamatuar meme kanseri

İnflamatuar meme kanseri, meme yüzeyindeki lenf damarlarını veya kanallarını tıkayan kanser hücreleri nedeniyle gamzeli ve/veya büyük çıkıntılı memelerin şişmesi (kırmızı ve sıcak) olarak görülür. İnflamatuar meme kanseri en nadir görülenidir, ancak hızla büyür. Radyasyon tedavisi, cerrahi, kemoterapi ve görüntüleme, tedavi sırasında titizlikle senkronize edilmesi gereken multidisipliner prosedürlerden sadece birkaçıdır. Bu konudaki ilk çalışmalardan bu yana neoadjuvan kemoterapi genel sağkalımı büyük ölçüde olumlu etkilemiştir ve bu hastalıkta radyasyon ve cerrahi gibi bölgesel tedavilerin işlevini geliştirmede önemli bir rol oynamıştır [24].

2.4. Meme kanserinin evreleri

2.4.1. Aşama 0

Bu, invaziv olmayan bir tümör aşamasıdır; bu hem kanserli hem de kanserli olmayan hücrelerin, tümörün gelişmeye başladığı memenin sınırları içinde mevcut olduğu ve bunların istilasına dair hiçbir kanıt bulunmadığı anlamına gelir. Duktal hücreli karsinom in situ (DCIS) gibi çevre dokularda bulunur [25].

2.4.2. Aşama 1

Bu aşama, invaziv meme kanserini tespit eder ve mikroskopik invazyonun gerçekleşmesinin muhtemel olduğunu gösterir. İki tip vardır: aşama 1A ve aşama 1B. Çapı 2 cm'ye kadar ulaşan ve lenf nodu içermeyen bir tümör kategori 1A olarak sınıflandırılır, ancak bir lenf nodu içinde 0,2 mm'den daha büyük olan az sayıda kanser hücresi evre 1B olarak sınıflandırılır [25].

2.4.3. Aşama 2

Ayrıca iki 2A ve 2B varyantı vardır. Evre 2A'da koltuk altı lenf düğümünde veya sentinel lenf düğümünde bir tümör var, ancak memede tümör yok. Tümörün çapı 2 cm veya daha fazla olabilir, ancak uzunluğu 5 cm'yi geçmemelidir. Adım 2B, tümörün çapının 5 cm'den büyük olabileceğini ve aksiller lenf düğümlerine ulaşamayacağını söyler [25].

2.4.4. Aşama 3

Üç alt kategori oluşturulmuştur: 3A, 3B ve 3C. Evre 3A, memede tümör olmadığını, ancak 4-9 aksiller lenf nodu veya sentinel lenf nodlarında bulunabileceğini, evre 3B ise tümörün herhangi bir boyutta olabileceğini, ancak şişlik veya ülser nedeniyle ortaya koymaktadır. Meme derisi ve 9 aksiller lenf noduna veya sentinel lenf noduna yayılabilir. Evre 3B, memenin derisi kırmızı, sıcak ve şiş olduğu için inflamatuvar meme kanseri olarak sınıflandırılabilir. Adım 3C ise tümörün 10 veya daha fazla aksiller lenf noduna ve ayrıca klavikulanın üstündeki ve altındaki lenf nodlarına yayıldığını gösterir [25].

2.4.5. Aşama 4

Bu, kanserin akciğerler, kemikler, beyin ve karaciğer gibi diğer vücut organlarına yayılmasını tanımlayan kanserin ileri ve metastatik aşamasıdır [25].

2.5. Laboratuvar Tanısı

Birçok malignite için, hasta yönetiminde serum tümör belirteçleri önemli bir rol oynamaktadır. Meme kanserinde serum belirteçlerinin potansiyel kullanımları arasında erken tanıya yardımcı olmak, prognozu belirlemek, spesifik tedavilere yanıtı veya direnci ileriye dönük olarak tahmin etmek, birincil cerrahi sonrası gözetim ve ilerlemiş hastalığı olan hastalarda tedaviyi izlemek yer alır. Meme kanseri için tümör belirteçleri arasında kanser antijeni 15 – 3(CA 15 – 3), kanser antijeni 27.29 (CA 27.29), karsinom embriyonik antijeni (CEA), doku polipeptit antijeni, doku polipeptiti, spesifik antijen ve HER-2 (hücre dışı) etki alanı bulunur. Ancak en yaygın olarak kullanılan CA 15 – 3 ve CEA dır [26].

2.6. Meme Kanseri Risk Faktörleri

Meme kanserine yakalanma riskini artıran her şeye risk faktörü denir. Meme kanseri risk faktörlerinin varlığı her zaman kanserin ortaya çıkacağı anlamına gelmez; Sonuç olarak, risk faktörlerine maruz kalan birçok kadın meme kanserine yakalanmamaktadır [27]. Tablo (2-1)'de belirtildiği gibi, epidemiyolojik araştırmalar menarş yaşı, menopoz yaşı ve ilk dönem gebelik yaşı gibi başlıca üreme risk değişkenlerini belirlemiştir. Premenopozal kadınlar tarafından kontraseptif olarak eksojen seks steroidlerinin ve postmenopozal kadınlar tarafından hormon replasman tedavisinin (HRT) kullanımı, epidemiyologlara meme kanseri gelişiminde seks steroidlerinin rolünü anlama konusunda eşsiz bir şans sağlar [28].

Tablo (2- 1): Meme kanseri risk faktörleri [29].

Risk faktörü	Göreceli risk
Üreme faktörleri	
Erken menarş	(+)
İlk çocuğun doğum yaşı	(++)
Doğum sayısı	(+)
Menopoz yaşı	(+)
Emzirme	(-)
Hormonal faktörler	
Oral kontraseptif (mevcut vs. yok)	(+)

Östrojen replasmanı (10+ yıl vs. Yok)	(+)
Östrojen artı progesteron	(++)
Yüksek kan östrojen veya androjen (menopoz sonrası)	(+++)
Yüksek prolaktin	(++)
Beslenme ve yaşam tarzı faktörleri	
Obezite (BMI: >30 vs <.25)	
menopoz öncesi	(-)
menopoz sonrası	(+)
Yükseklik	(+)
Fiziksel aktivite	(-)
Tekli doymamış yağ ve doymuş yağ	(-)
Diğer faktörler	
Aile öyküsü [anne ve kız kardeş] _a	(+++)
Aile öyküsü [birinci derece akraba] _b	(++)
İyonlaştırıcı radyasyon [olumlu vs. Olumsuz)	(+)
İyi huylu meme hastalığı [fibrokistik hastalık vs. yok)	(++)
<p>BMI: Vücut Kitle İndeksi. RR Göreceli Risk: (+):1.1-1.4; (++): 1.5-2.9; (+++): 3.0-6.9; (-): 0.7-0.8. A: 65 yaşından önce meme kanseri öyküsü olan ve akrabası olmayan iki birinci derece akraba. B: 65 yaşından önce meme kanseri öyküsü olan ve akrabası olmayan birinci derece akraba.</p>	

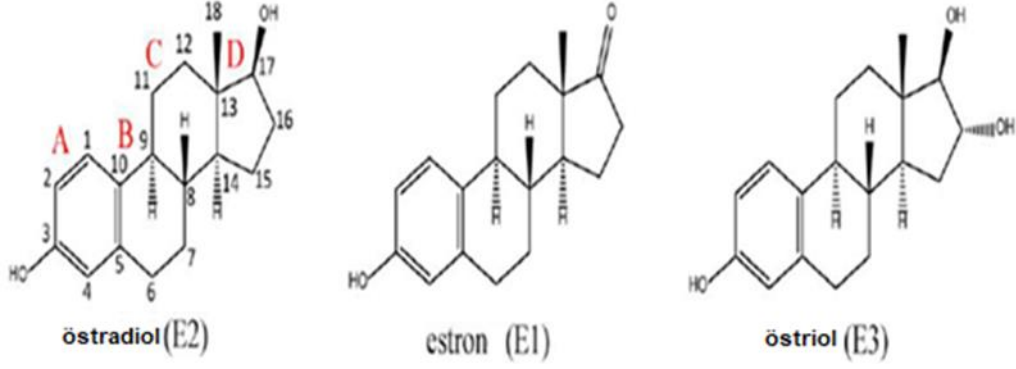
2.7. Glutatyon peroksidaz 1 (GPX1)

GPX-1, bağırsakta aşırı eksprese edilen epitelyal spesifik bir enzimi de (GPX-2) içeren GPX enzim ailesinin en bol bulunan üyelerinden biridir; salgılanan bir alt tip (GPX-3); ve yaygın olarak ifade edilen ancak ailenin diğer üyelerinden farklı bir substrat spesifikliğine sahip olan GPX-4. Sonuç olarak, GPX-1, hücreler içinde tehlikeli hidrojen peroksit birikimini sınırlamada rol oynayan önemli bir antioksidan enzimdir. Sitozolik, mitokondriyal ve bazı hücrelerde peroksizomal bölmelerde (Forman) bulunur ve çeşitli

fizyolojik durumlarda hücre içi peroksitleri ortadan kaldırmada katalazdan daha etkili olduğu gösterilmiştir [30]. Hücre içi hidrojen peroksit seviyelerini kontrol etmede GPX'lere karşı peroksiredoksinlerin nispi etkinliği bir çekişme noktası olmuştur: Peroksiredoksinler yaygın olarak ifade edilir ve sitozol ve mitokondride çoklu peroksiredoksin izoformları tespit edilebilir. Bununla birlikte, belirli peroksiredoksinler, düşük mikromolar hidrojen peroksit seviyelerinde oksidatif inaktivasyona eğilimlidir. GPX-1, lipid hidroperoksitleri ve diğer çözünür hidroperoksitleri, membran lipidlerinden salındıktan sonra ve ayrıca 1-linoleoil lizofosfatidilkolin hidroperoksit gibi fosfolipid-monoasilgliserol hidroperoksitleri azaltabilir, ancak tri-veya diaçilgliserol hidroperoksitleri azaltmaz [31]. Tercihen membranlarla birleşen ve hücre içi hidrojen peroksit tonu üzerinde küçük bir etkiye sahip gibi görünen GPX-4 [31], bunun yerine, hidrojen peroksit veya yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırma açısından GPX-4 olmasına rağmen, bu diğer membranla ilişkili fosfolipitleri azaltır. GPX-1'den daha az etkili değildir. Son sonuçlara göre, peroksiredoksin 6 hücrelerdeki fosfolipid hedeflerini azaltabilir [32]. Ayrıca, GPX-1 in vivo olarak peroksinitrit ile indüklenen sinyal yollarını değiştirerek bir peroksinitrit redüktaz olarak işlev görebilir [33]. Ancak, GPX-1'in in vivo peroksinitrit akışını etkilediğine dair güçlü bir kanıt yoktur; daha ziyade, araştırmalar GPX-1 eksikliğinin iyi çalışılmamış mekanizmalar yoluyla peroksinitrit sağkalımını iyileştirdiğini ima etmektedir [31].

2.8. Estradiol (E2)

Östrojen, kadın genital ve kadın cinsiyet özelliklerinin gelişiminde ve büyümesinde bulunan kadın cinsiyet hormonlarıdır, E2 yumurtalık, plasenta, testisler ve adrenal kortekste oluşturulur [34], doğal ES, C 18-karbon iskeletine sahip steroid hormonlardır. [35] ve biyolojik olarak aktif üç temel formu vardır; Şekil (1-1)'de gösterildiği gibi estron (E1), 17-β Estradiol (E2) ve Estriol (E3).



Şekil (2- 2): Östrojenin temel biyolojik olarak aktif formları [36].

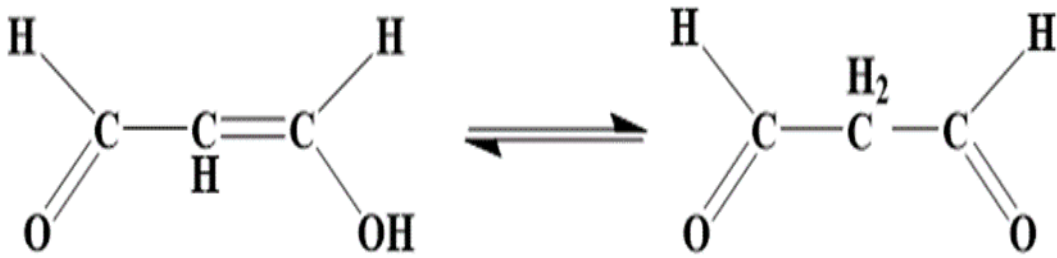
E2, yüksek biyolojik aktivitedir [36]. E2 veya 17-β Estradiol, menopozdan önce yumurtalıklar tarafından üretilen iki hidroksil grubuna sahiptir. E1, menopoz sırasında yükselme seviyesinde atılan bir hidroksil grubuna sahiptir; yumurtalıklar, yağ dokusu tarafından üretilir ve diğer hormonlardan veya dış ortam öncülerinden değişir. E3, hamilelik sırasında plasentadan yükselme seviyesinde atılan üç hidroksil grubuna sahiptir. Ana östrojen türü olan E2 de erkeklerde aktif, metabolik bir testosteron ürünü olarak bulunur. Serum düzeyindeki miktarı, menopoz sonrası kadınlarınkiyle hemen hemen aynıdır. Enzimatik eylemler androjenlerden östradiol üretir ve testosteron ürününe katkıda bulunur, östron ise androstenediondan oluşur [37]. ES'nin aşağıdakiler dahil birçok işlevi vardır:

- Erkeklerde ve kadınlarda cinsel davranış.
- İkincil kadın cinsiyet özellikleri.
- Yumurtlama.
- Destek (progesteronlu) rahim endometriumu.
- Organizasyon, of. Kardiyovasküler, fizyoloji, kemik, bütünlük ve nöronal büyüme [38].

Östrojenlerin, büyük olasılıkla artan mitotik aktiviteyle bağlantılı olan hücre proliferasyonunu artırarak hareket ettiğine inanılır ve etkiyi başlatmaktan çok teşvik edici olduğu düşünülür. Hücre bölünmesi sırasında deoksiribonükleik asit (DNA) replikasyonu sırasında hata yapma tehlikesi arttığından, bu durum onarılmazsa kansere yol açabilir, hücre çoğalması karsinogenez için çok önemlidir. Bu, östrojenin neden meme kanseri riskini artırdığının düşünüldüğünü açıklar [39].

2.9. Malondialdehit (MDA)

MDA, $C=C-C=O$ genel yapısına sahip olan ve karbon 1 üzerinde bir aldehit grubu ($C=O$) ve aralarında bir konjuge çift bağ ($C=C$) ile ayırt edilen α , β -doymamış aldehitlerin bir örneğidir. Şekil (1-3)'te gösterildiği gibi her iki karbon iki ve üç. Karbonil grubundaki oksijen atomunun α , β -doymamış aldehitler biçiminde olması nedeniyle, çift bağın polaritesi artırılarak onları daha güçlü elektrofiller yapar. MDA bir dikarbonil molekülüdür ve yapısındaki ikinci oksijen atomu çift bağı ekstra reaktif hale getirir [40].



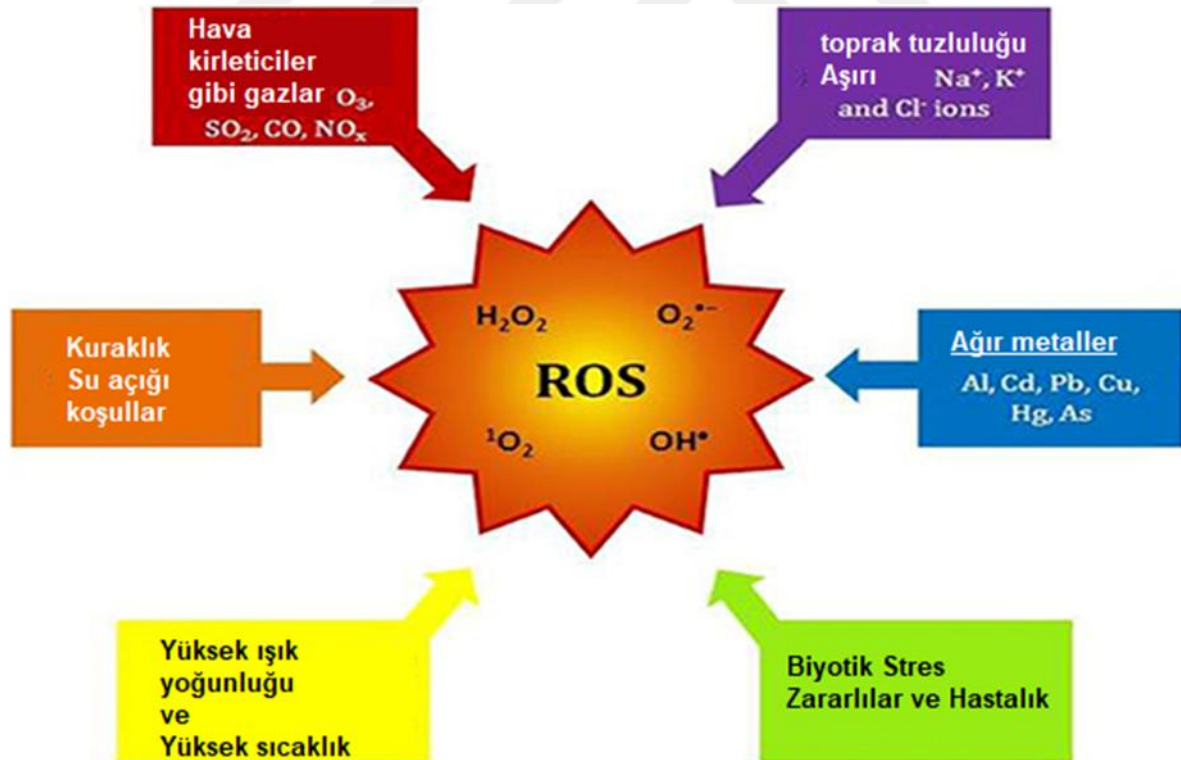
Şekil (2- 3): Dönüştürülmüş enol formundaki malondialdehitin (MDA) yapısı [40].

Hidroksil radikali, lipid peroksidasyonu sırasında hücresel membranlara ve lipoproteinlere zarar verebilir. Lipid peroksidasyon işlemi sırasında üretilen MDA ve konjuge dien kimyasallarının sitotoksik ve mutajenik olduğu bulunmuştur. Büyük miktarlarda ROS zararlı olabilir veya proteinlerin, nükleik asitlerin ve lipidlerin oksidasyonunu artırarak ikincil yan ürünlere neden olabilir. ROS, çoklu doymamış yağ asitlerine karşı özel bir reaktiviteye sahip oldukları için hücre zarında lipid peroksidasyonuna ve MDA dahil olmak üzere tehlikeli aldehitlerin üretimine neden olur. MDA, bir lipid peroksidasyon belirteci olarak kullanılır [41].

MDA, klinik durumlarda oksidatif stres için en yaygın ve güvenilir belirteçlerden biridir, bu nedenle yüksek reaktivitesi ve toksisitesi günümüz biyomedikal araştırma alanıyla oldukça ilgilidir [41]. Lipid peroksidasyonu ve antioksidan durumu doğum sırasında değişebilir ve bu durum oksidatif stres üreterek fetüsü etkileyebilir. Yenidoğanın antioksidan savunma sistemi oksidatif strese karşı savaştırmaz, bu nedenle oksidatif hasar meydana gelir ve bu stres için biyokimyasal bir belirteç olarak MDA düzeyi yükselir [42]. MDA'nın ateroskleroz ve inme hastalığı gibi çeşitli hastalıkların patogenezi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [43].

2.10. Reaktif oksijen türleri (ROS)

O₂ - gelişen fotosentetik canlılar, yaklaşık 2,7 milyar yıl önce Dünya'nın erken indirgeyen atmosferine moleküler oksijen getirdi ve bu da istenmeyen yan ürünler olarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşmasına neden oldu (44). ROS sürekli olarak aerobik metabolizma tarafından üretilir ve kloroplast, mitokondri ve peroksisomlar gibi çeşitli bitki hücre bölmelerinde lokalizedir. Son araştırmalar ayrıca reaktif oksijen türlerinin (ROS) kaynağı olarak apoplastın önemi hakkında fikir vermiştir (45). ROS, uygun koşulların varlığında temel seviyelerde sürekli olarak üretilir. Bununla birlikte, çeşitli antioksidan işlemlerle uzaklaştırıldıkları için zarar veremezler. Tuz, kuraklık, yüksek sıcaklıklar, ağır metaller, kirlilik, yüksek radyasyon, patojen enfeksiyonu ve diğerleri gibi stres faktörleri ROS oluşumu ve ROS süpürme arasındaki hassas dengeyi bozar (Şekil 2-4). Bu nedenle bitki ömrü, büyüme koşullarındaki değişiklikler, stres durumlarının yoğunluğu ve uzunluğu ve bitkilerin değişen enerji denklemlerine hızla uyum sağlama yeteneği dahil olmak üzere bazı önemli unsurlara bağlıdır (46). Hesaplamalara göre, bitki dokuları tarafından tüketilen O₂'nin sadece % 1-2'si ROS üretimi ile sonuçlanır.

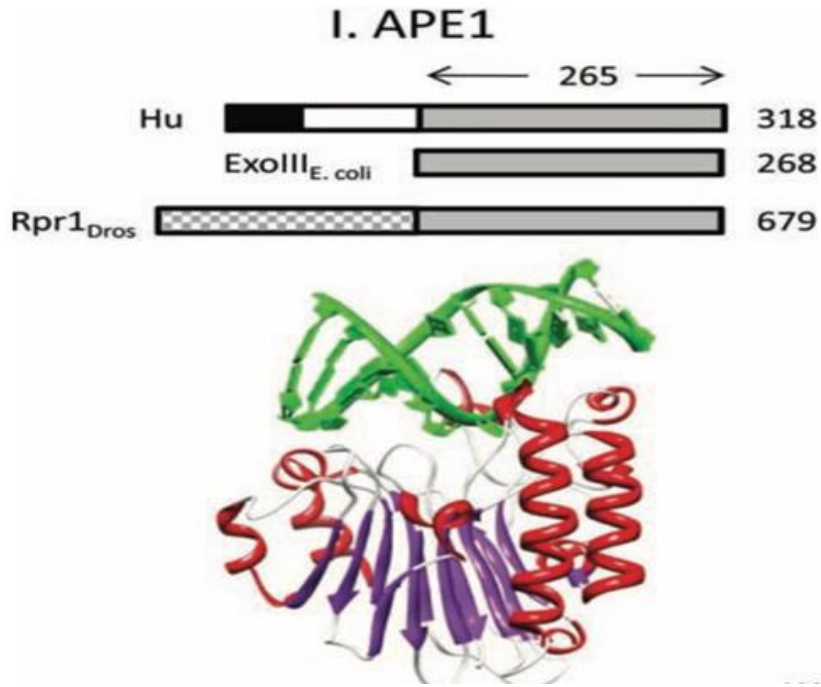


Şekil (2- 4) : ROS üretimine çeşitli faktörler neden olur.

ROS, gen transkripsiyonu, sinyalizasyon ve immünolojik yanıt dahil olmak üzere çeşitli biyolojik işlevlerde rol oynar. Hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$), süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot-}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) ROS örnekleridir. ROS, kanserin başlangıcında, ilerleyişinde ve yayılmasında rol oynar. Malign dokulardaki ROS kaynaklı DNA mutasyonları başlangıç aşamasında düzeltilmezse ilerleyebilir [47]. Aşırı reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi, kansere yol açabilen onkogenik DNA mutasyonlarına neden olabilir. Değişen metabolizma ve yüksek enerji gereksinimi nedeniyle kanser hücreleri, normal hücrelerden daha fazla ROS sağlar [47]. Karsinom hücrelerinde ROS ile indüklenen OS'nin, hücre büyüme sinyalini aktive ederek, tümörlerin tedavilere direncini artırarak, tümörlere kan akışını artırarak ve metastazı teşvik ederek kanser büyümesini arttırdığı gösterilmiştir [47].

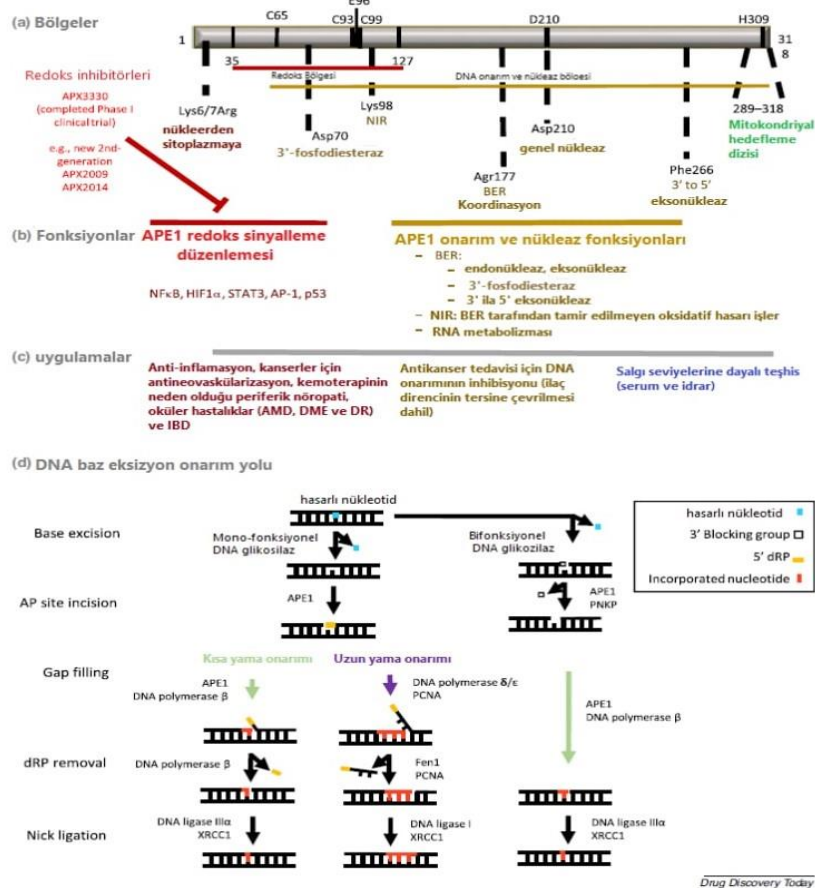
2.11. APE1 Geni

Apurinik/apirimidinik endonükleaz 1 (APE1), baz eksizyon onarım (BER) yolu yoluyla ekzojen ve endojen faktörlerin neden olduğu oksidatif baz hasarını onaran çok işlevli bir enzimdir [48]. İnsan APE1 geni (yaklaşık 2,6 kb'lık bir alana yayılan) kromozom 14 q11.2-12 üzerinde bulunur ve şekil (2-5)'te gösterildiği gibi 4 intron ve 5 ekzondan oluşur [49,50].



Şekil (2- 5): Baz eksizyon onarım proteinlerinin protein yapısı [50].

Baz eksizyon onarımı (BER), oksidatif serbest radikallerin neden olduğu DNA hasarlarının onarımında yer alır. (BER) etkinliğinin meme kanseri riskinin önemli bir belirleyicisi olduğu düşünülmektedir [51]. Genom stabilitesini korumaktan ve dolayısıyla birçok DNA lezyonunu ve endojen ve harici mutajenler tarafından indüklenen iplik kopmalarını sürekli olarak sabitleyerek kansere ve diğer bozukluklara karşı koruma sağlamaktan sorumlu olan kritik bir DNA onarım sistemidir [52]. Tek bir baz kırıldığında, BER yolu enzimleri onu tanımlamaktan ve sabitlemekten sorumludur [53]. Baz eksizyon onarım yolundaki ilk adım, hasarlı bazı değiştirmek ve bir bazık veya AP bölgesi oluşturmak için şeker ve baz arasındaki N-glikosil bağına parçalayan DNA glikosilazlarını içerir. APE1, hasarlı bazın çıkarılmasından sonra 5' fosfodiester omurgasını AP bölgesine hidrolitik olarak ayırır, bu da 5'-deoksiriboz fosfat (5'-dRP) ve bir 3'-OH primerinin üretilmesine neden olur [54]. DNA polimeraz bu noktada bir sağ nükleotidi sokar ve DNA ligazları, şekil (2-6)'da gösterildiği gibi onarılan DNA zincirini kapatır [55].



Şekil (2- 6): Apurink/apirimidinik endonükleaz 1 (APE1) protein bölgeleri, işlevleri ve uygulamaları [56].

APE1, DNA onarımı ve redoks düzenlemesinde yer alan küresel bir proteindir. APE1 enziminin iki farklı konumu bu iki aktiviteyi kodlar. Redoks işlevi N-terminalinde kodlanırken, onarım işlevi C-terminalinde kodlanmıştır [57,58]. 3'-fosfodiesteraz, 3'-fosfataz ve 3-5'-eksonükleaz aktivitelerinin tümü, DNA onarım sürecinin bir parçasıdır [59]. APE1 , BER yolunu düzenlemek için PARP1, XRCC1, DNA polimeraz ve f1ep endonükleaz 1 (FEN1) ile etkileşime girer , APE1 bu proteinlerin her birini ayrı ayrı aktive eder [9]. Diğer kanserlerde de tablo (2-2)'de görüldüğü gibi rolü vardır.

Tablo (2- 2): APE1'in kanserlerdeki rolü.

Kanser türü	APE1 katkısı	Referanslar
PDAC	Aşırı ifade: kemorezistans, radyodirenç Redoks işlevi: kemorezistans, anjiyogenez Onarım işlevi: gemsitabin direnci	[60,61]
M.Ö.	Aşırı ifade Tansal belirteç olarak idrar seviyeleri Yüksek serum seviyeleri	[61]
CRC	Aşırı ifade Redoks işlevi: kemorezistans Asp148 Glu polimorfizmi riski artırır	[62,63]
Lösemi	Stabilite kaybı apoptoza neden olur redoks işlevi endonükleaz aktivitesi	[64]
MPNST	Aşırı ifade: redoks işlevi	[65]
Akciğer	Aşırı ifade ve kemorezistans Ile64Val ve Asp148Glu promotör varyantları riski artırır	[66,63]

M.Ö	Aşırı ifade Asp148Glu polimorfizmi, radyoterapi sonrası akut yan etkilere karşı koruma sağlar Asp148Glu polimorfizmi iyonlaştırıcı radyasyon aşırı duyarlılığına katkıda bulunabilir ve kanser duyarlılığı Salgı ile sonuçlanan hiperasetilasyon, TNBC'de apoptoza neden olur [düşük ekspresyon agresif ER-pozitif kanserler için seçin; Luminal A alt tipinde (ER) yüksek ifade pozitif)	[67,68,69]
Pca	Aşırı ifade redoks işlevi Asp148Glu polimorfizmi kanser riskinin artmasına katkıda bulunur	[70,61]
Karaciğer	Aşırı ifade Hücre altı lokalizasyonu kanser özelliklerine katkıda bulunur Serum içine salgılanması inflamatuvar yanıtı artırır	[71]
EAC	Aşırı ifade Onarım işlevi, asidik safra tuzlarının (ABS) neden olduğu DNA hasarına karşı koruma sağlar EGFR-STAT3 eksen, COX2/VEGF düzenlemesi ve NFkB-p65 aktivasyonu aracılığıyla redoks işlevi	[72]
servikal	Aşırı ifade Sitoplazmik aşırı ekspresyon: radyorezistans	[73]
Kafa ve boyun	Nükleer lokalizasyon, HNSCC'leri oksidatif stresten korur, böylece ölümden kaçınır Sigara ve/veya tütün çiğneme ile ilişkili Asp148Glu polimorfizmi riski artırır	[63]
Oral	Aşırı ifade ve yüksek serum seviyeleri Malign transformasyonla ilişkili Asp148Glu polimorfizmi	[63,74]
GBM	Aşırı ifade Onarım etkinliği: kemorezistans Redoks işlevi: TMZ'ye karşı direnç	[75]

Yumurtalık	Aşırı ifade ve kemorezistans Tümör ilerlemesi ve düşük sağkalım ile ilişkili sitoplazmik lokalizasyon BER ve rRNA aktiviteleri aracılığıyla NPM1 ile etkileşim, kanser saldırganlığını artırır redoks işlevi	[61]
Osteosarkom	Aşırı ifade Sitoplazmik Aşırı İfade - Platin Direnci anjyogenezi indükler	[76]
Melanom	Aşırı ifade MiTF- pozitif melanom hücrelerinde aşırı ekspresyon Onarım aktivitesi inhibisyonu melanomu hedefler Wnt antagonisti sFRP2 yoluyla kaybı, melanomu vemurafenib'e duyarlı hale getirir rezistans	[77]

2.12. APE1 gen ifadesi

APE1, hücre canlılığı ve embriyonik gelişim için gerekli olan her yerde bulunan bir proteindir. Hem insan hücrelerindeki yıkım teknikleri hem de koşullu knock-out fare hücre modelleri, hücre çoğalması ve hayatta kalmasındaki kritik işlevini doğruladı. NIH3T3 fare embriyonik fibroblastlarında (MEF'ler), APE1 ekspresyonu hücre döngüsü tarafından düzenlenir. APE1 transkripti G1'de 2.5-3.5 kat arttı, S fazında yüksek kaldı, ardından mitozun ardından diğer DNA onarım genleriyle aynı olan başlangıç seviyelerine geri döndü. İmmünolojik, nörolojik, sindirim, kas ve salgı sistemleri dahil tüm dokular APE1'i eksprese eder. APE1 proteini genellikle DNA onarım rolü ile tutarlı olan çekirdekte bulunur, ancak aynı zamanda mitokondride (mitokondriyal DNA onarımı için) ve endoplazmik retikulumda fizyolojik olarak uygun lokalizasyona sahiptir [50].

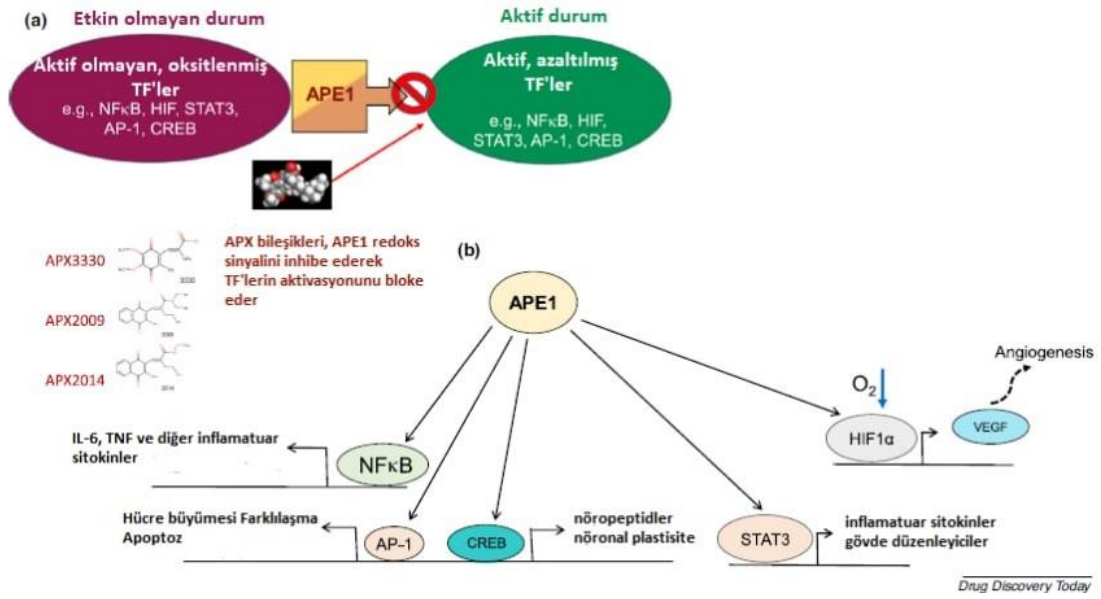
2.13. APE1 redoks sinyalleşmesinde

APE1, memelilere özgü bir redoks işlevine sahiptir. APE1 redoks sinyali, gen ekspresyonunu ve protein sentezini etkileyen çeşitli transkripsiyon faktörlerinin (TF'ler) aktivitesini düzenleyen sıkı bir şekilde kontrol edilen bir mekanizmadır (2-7). APE1'in

redoks aktivitesi esas olarak N-terminal kuyruğunun içinde yer alan ve APE1'in DNA onarım fonksiyonu figürü (2-6) ile ilgisi olmayan gömülü bir sistein kalıntısı olan Cys65'e bağlıdır [78]. Cys93 ve Cys99 da APE1'in redoks işlevinde yer alır [79]. TF'lerin etkinleştirilmesi için APE1'in indirilmiş durumda olması gerekir. APE1, bir tiyol/sülfür değişimi yoluyla tioredoksin tarafından indirgenir. Aktive transkripsiyon faktörleri (TF'ler), bir kez azaldıklarında DNA'ya bağlanır [78]. APE1 tarafından kontrol edilen TF'ler, bir sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon 3 (STAT3) aktivatörü, Aktivatör protein 1 (AP-1), hipoksi ile indüklenebilir faktör (HIF)-1a, p53, nükleer faktör (NF)kB ve diğerlerini içerir (Tablo 2 -3). Bu transkripsiyon faktörlerinin büyüme, inflamasyon ve anjiyogenez gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda rolü vardır [80,81]. APE1'in aşırı ekspresyonu, klinik ortamlarda tümörjenik transformasyon, migrasyon ve ilaç direncini içerebilen TF'lerin ve bunların aşağı akış efektörlerinin kontrolünü etkiler [80].

Tablo (2- 3): APE1 redoks kontrollü TF'ler.

TF	İşlev	APE1 tarafından düzenlenen kanser türü	Referanslar
AP-1	Proliferasyon, farklılaşma, apoptoz	Pankreas, BC, CRC	[78]
ATF	stres tepkisi	Laboratuvar ortamında	
c-Myb	Hücre döngüsü düzenlemesi		
CREB	Nöroplastisite, hafıza oluşumu		
Egr-1	Farklılaşma, mitogenez	Kemik, kolon, HeLa	[82]
HIF-1	Glikoliz, anjiyogenez	pankreas	[80,81]
NFkB	Yayılma, göç, istila	Pankreas, M.Ö.	[81]
NY-F	Kromatin erişilebilirliği, transkripsiyon başlangıç yeri seçimi	HeLa	[83]
P53	DNA onarımı, hücre döngüsü durması, apoptoz	kolon, karaciğer	[78,62]
PAX5/8	farklılaşma	lenfosit	[83]
PEBP2	hematopoez	Laboratuvar ortamında	[83]
PTEN	Hücre döngüsü düzenlemesi	Kemik, kolon, HeLa	[82]
STAT3	Proliferasyon, istila, immüno-supresyon	Pankreas, karaciğer, BCa	[78]
TTF-1	Tiroid ve akciğer gen aktivasyonu	HeLa	[84]



Şekil (2- 7): Apürinik/apirimidinik endonükleaz 1'in (APE1) redoks sinyalleme işlevi [56].

2.14. APE1 DNA onarımı veya redoks sinyali inhibitörleri

DNA etkileşim ilaçlarına direnç ve kanser patogenezinin her ikisi de APE1 ile ilişkilendirilmiştir. Sonuç olarak, APE1, kanser tedavileri için hedeflenen önemli bir düğümdür. Örneğin, APE1'in DNA onarım aktivitesinin inhibisyonu, dirençli tümörleri DNA-etkileşimli ilaçlara (bleomisin, karmustin, TMZ ve gemsitabin) karşı daha duyarlı hale getirdi ve apoptoz düzeylerini yükseltti. APE1'in redoks aktivitesi inhibe edildi, bu da kanserle ilişkili TF'lerin DNA'ya bağlanmasını ve sonuç olarak transkriptom etkilerini yasakladı. Sonuç olarak, hem APE1'in onarım hem de redoks aktiviteleri için etkin inhibitörlere acilen ihtiyaç duyulmaktadır. Çeşitli tarama paradigmaları aracılığıyla, birkaç araştırma hem DNA onarımına hem de redoks baskılanmasına baktı [56]. Tablo (2-4), çeşitli çalışma seviyelerindeki APE1 inhibitörlerinin bir listesini göstermektedir.

Tablo (2- 4): APE1 DNA onarımı ve redoks sinyali inhibitörleri.

Bileşik	Engellenen fonksiyon	Referanslar
3-Benzilkarbamoiil-2-metoksibenzoik asit inhibitörleri	Tamirat	[85]
5-(Hydroxymethyl)-2-furfural,	antioksidan	[85]
6-Hidroksi-dl-DOPA	Tamirat	[85]
9-Aminoelliptisin aminoelliptisin 1, izopropil - oksazolopiridokarbazol	Tamirat	[85]

AJAY -1, -2, -3, -4	Tamirat	[86]
APE1-endonükleaz inhibitörü (Bileşik 3)	Tamirat	[87]
APX2007, APX2009, APX2014, APX2032	Redoks	[88,89]
APX3330	Redoks	[90,91]
ARO1, ARO3, ARO6	Tamirat	[92]
AT-101	Tamirat	[85]
Aurintrikarboksilik asit inhibitörleri	Tamirat	[85]
Bis-naftalin makro döngüleri	Tamirat	[85]
CRT0044876	Tamirat	[85]
Fiduxosin	Tamirat	[93]
Heterodimerik bileşikler	Tamirat	[85]
Hycanthone	Tamirat	[85]
Lucanthone	Tamirat	[85]
MC043, MC047, MC042, and MC018	Tamirat	[94]
Metoksiamin	Tamirat	[85]
Metil-3,4-defostatin	Tamirat	[85]
MGAP-9	Tamirat	[95]
Mitoksantron	Tamirat	[85]
MLS001196838, MLS000587064, MLS000737267, ve MLS000090966	Tamirat	[85]
Mirisetin	Tamirat	[85]
N-(3-(Benzo[d]tiazol-2-il)-6-izopropil-4,5,6,7- tetrahidrotieno[2,3-c]piridin-2-il)asetamid	Tamirat	[85]
NCI-13,755, NCI-13793	Tamirat	[96]
Farmakofor modeli inhibitörleri	Tamirat	[97]
PNRI-299	Zayıf redoks	[85]
Reaktif Mavi 2	Tamirat	[85]
SB206553	Hafif onarım	[93]
Spiklomazin	Tamirat	[93]
Tanshinon IIA	Zayıf redoks	[85]
Tiyolaktomisin	Tamirat	[85]
Troglitazon	Hafif onarım	[93]
Tirfostin AG 538	Tamirat	[85]
Çinko69565400/ilgili bileşikler	Tamirat	[98]

3. MATERYALLER VE YÖNTEM

3.1. Materyaller

3.1.1. Hastalar ve Kontrol Grupları

Bu çalışmaya, yaşları 30 ile 70 arasında değişen 90 katılımcı (yeni tanı almış 45 meme kanseri hastası ve 45 sağlıklı kontrol) dahil edildi. Al-Eluia kadın bakım hastanesi, bir kanser eğitim hastanesi, kan örnekleri verdi. Her hastaya Mart 2021'den Temmuz 2021'e kadar kapsamlı bir fizik muayene yapıldı. Kesin tanı kistlerin aspire edilmesi ve sitoloji, histoloji (biyopsi) ve mamografinin kontrol edilmesiyle konuldu.

3.1.2. Ekipman ve Aparat

Tablo (3-1), araştırma boyunca kullanılan tüm ekipman ve aparatları, imalatçıları ve kökenleri ile listeler.

Tablo (3- 1): Çalışmada Kullanılan Ekipman ve Aparatlar.

aparat	Şirket	Menşei
kuluçka makinesi	JRAD	Çin
Mikrodalga fırın	Gosonic	Çin
hassas terazi	KERN	Almanya
Mikro dönüşlü 12, Yüksek hızlı Mini santrifüj	Bio San	Almanya
Girdap	Digsystem	Almanya
AURA TM PCR Kabini	Labnet	İtalya
Mini Güç Kaynağı 300V, 2200V		Çin
Termal ısı döngüleyici	Labnet	ABD
Elektroforez birimi	CBS, Scientific	ABD
Mikrospin	Bio San	Litvanya
Kombi-spin	Bio San	Litvanya
Santrifüj	Hettich	Almanya
Derin dondurucu	Sanyo	Japonya
Mikropipetler	Slamed	ABD
NanoDrop (Kuantustmflorometre)	Promega	ABD
Su damıtma cihazı	GFL	Almanya
İpuçları (mavi, sarı, beyaz)	AFCO	Ürdün
Otomatik Elisa Okuyucu	PARA medically	İtalya

SaCycler-96 Real-Time PCR SİSTEMİ	sacace	İtalya
Eppendorf tezgahı santrifüj	Hermle	Almanya
jel tüp	AFCO	Ürdün
EDTA tüpü	AFCO	Ürdün
Jel dokümantasyon sistemi	Labnet	ABD
UV transillüminatör	Vilber lourmat	Fransa
Bio TDB-100, Kuru blok termostat yapılı	Bio San	Almanya

3.1.3. Kimyasal Malzemeler

Bu çalışmadaki deneyimlerde kullanılan kimyasallar aşağıda Tablo (3-2)'de gösterilmiştir.

Tablo (3 - 2): Bu çalışmada kullanılan kimyasallar firmalar ve menşei ile birlikte.

No	Kimyasal	Şirket	Menşei
1.	Pre-mix pcr (Master mix-pcr)	Intron	Kore
2.	PrimeScript™ RT Enzim Karışımı I 100 µl	Takara	Kore
3.	RNAsız d H ₂ O (1ml)	Takara	Kore
4.	ESAY Seyreltme Tamponu (Real Time PCR için) * 2 1 ml	Takara	Kore
5.	TRI Reaktif(50ml).	Zymo	ABD
6.	Direct-zol RNA ÖN YIKAMA (40ml).	Zymo	ABD
7.	Zymo-Spin II C Kolonları/Koleksiyon Tüpleri.	Zymo	ABD
8.	DNase/RNase-Free su (6 ml).	Zymo	ABD
9.	RNA yıkama tamponu (12ml).	Zymo	ABD

10.	DNaz (liyofilize).	Zymo	ABD
11.	DNA Sindirim Tamponu (4ml).	Zymo	ABD
12.	Primerler	Idt	ABD

3.1.4. Çalışmada kullanılan primerler

Hedef gen ve endojen gen dahil tüm primerler, tablo (3-3)'de gösterildiği gibi 10 pmol'lük bir konsantrasyonda hazırlandı.

Tablo (3 - 3): Bu çalışmada kullanılan primerlerin sırası.

Gen	Primer dizisi (5' → 3')	Tm (°C)	GC%	Ürün boyutu(bp)
APE1	F: GAGTAAGACGGCCGCAAAGAAAAA	58	50	128
	R: CCGAAGGAGCTGACCAGTATTGAT	58.5	50	
GAPDH (Referans gen.)	F: CACTAGGCGCTCACTGTTCTC	60	60	89
	R: AATCCGTTGACTCCGACCTT	59	59	

3.1.5. Kitler

Tablo (3-4), üretici ve menşe ülke ile birlikte bu çalışmada kullanılan kitleri listeler.

Tablo (3 - 4): Çalışmada kullanılan kitler.

No	Kitler	Şirket	Menşei
1.	KAPA SYBR FAST qPCR Master Mix (2X) Kitleri	Takara	Kore
2.	PrimeScript™ RT (Mükemmel Gerçek Zamanlı) #RR037A	Takara	Kore
3.	RNA ekstraksiyon Kiti •Direct-zol RNA MiniPrep Kit boyutu(50Prep).	Zymo	ABD

4.	İnsan GPX1(Glutatyon Peroksidaz 1) ELISA Kiti	Elabscience	ABD
5.	Estradiol(E2) ELISA Kiti	Monobind	ABD
6.	İnsan Malondialdehit (MDA) ELISA Kiti	Mybiosource	ABD
7.	Direct-zol™ RNA MiniPrep Kit Boyutu (Hazırlıklar)	Zymo	ABD
8.	İnsan reaktif oksijen türleri (ROS) ELISA Kiti	Mybiosource	ABD

3.2. Yöntemler

3.2.1. Kan Örneklemesi

Hastalardan ve sağlıklı kontrol grubundan beş mililitre kan alındı ve iki mililitre kan doğrudan EDTA tüplerine iletildi, ardından tüp çalkalanarak EDTA'nın kanda çözünmesi sağlandı ve 100 µl, 300 µl içeren yeni bir steril tüpe aktarıldı. Tryzol reaktifi. Kanın geri kalanı (3 mililitre) bir jel tüpüne aktarıldı, kanın oda sıcaklığında pıhtılaşmasına izin verildi ve 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve serum, ELISA tekniği tamamlanana kadar Eppendorf tüplerinde alikotlara bölündü. Sonuçları belirlemek için kullanılır. Serum izole edildi ve tahlile kadar (-20C)'de tutuldu.

3.2.2. İnsan Glutatyon Peroksidaz 1 (GPX1) Ölçümü.

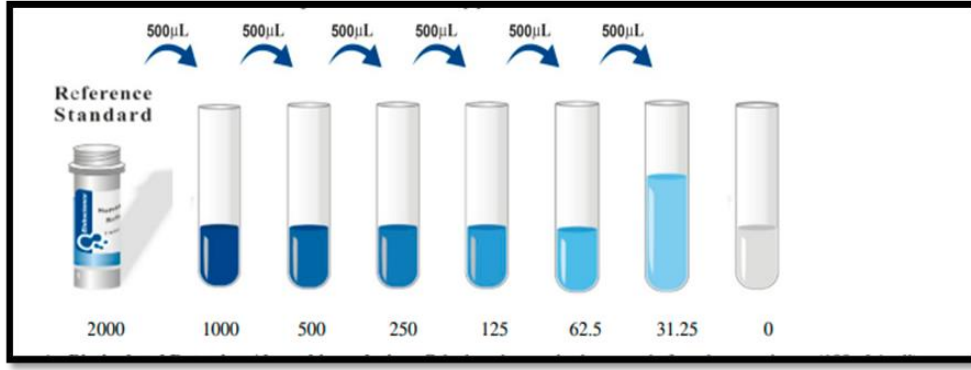
3.2.2.1. Prensip

Bu ELISA kiti, Sandwich-ELISA prensibini kullanır. Bu kitte sağlanan mikro-ELISA plakası, Human GPX1'e özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, mikro-ELISA plaka kuyularına eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Daha sonra, İnsan GPX1 ve Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatına özgü biyotinlenmiş bir saptama antikorunu, her bir mikrolaka kuyusuna art arda eklenir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanır. Substrat çözeltisi her kuyuya eklenir. Yalnızca İnsan GPX1, biyotinlenmiş saptama antikorunu ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyular mavi görünecektir. Enzim -substrat reaksiyonu, stop solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır ve renk sararır. Optik yoğunluk (OD), 450 nm ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. OD değeri, Human GPX1 konsantrasyonuyla orantılıdır. Numunelerin

OD'sini standart eğriyle karşılaştırarak numunelerdeki Human GPX1 konsantrasyonunu hesaplayabilirsiniz.

3.2.2.2. Reaktif hazırlama

1. Reaktifler kullanımdan önce oda sıcaklığına (18~25°C) getirildi. Kurulum için Mikroplaka okuyucu kılavuzu izlendi ve reaktifler OD ölçümünden önce 15 dakika önceden ısıtıldı.
2. Yıkama Tamponu: 30 mL Konsantre Yıkama Tamponu 720 mL deiyonize veya distile su ile seyreltilerek 750 mL Yıkama Tamponu hazırlandı.
3. Standart çalışma çözümü: standart, 10.000xg'de 1 dakika santrifüjlendi. 1.0 mL Referans Standardı ve Numune Seyreltici eklendi, ardından karışım 10 dakika beklemeye bırakıldı ve birkaç kez hafifçe ters çevrildi. Tamamen çözüldükten sonra pipetle iyice karıştırıldı. Bu sulandırma, 2000 pg/mL'lik bir çalışma solüsyonu üretti. Daha sonra gerektiği gibi seri seyreltmeler hazırlandı. Önerilen seyreltme derecesi aşağıdaki gibidir: 2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 0 pg/mL. Seyreltme yöntemi: Her 7 EP tüpüne 500uL Referans Standardı ve Örnek Seyreltici eklendi. 2000 pg/mL çalışma solüsyonunun 500µL'si birinci tüpe pipetlendi ve 1000 pg/mL'lik bir çalışma solüsyonu üretmek üzere karıştırıldı. Şekil (3-1)'de gösterildiği gibi bu adımlara göre çözeltinin 500 µL'si önceki tüpten ikinci tüpe pipetlendi.
4. Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu: Deneyden önce gerekli miktar hesaplandı (100 µL/well). Hazırlanırken hesaplanandan biraz daha fazla hazırlanmalıdır. Stok tüp kullanılmadan önce santrifüjlendi, 100x Konsantre Biotinlenmiş Saptama Ab, Biotinlenmiş Saptama Ab Seyreltici ile 1x çalışma solüsyonuna seyreltildi.
5. Konsantre HRP Konjugat çalışma solüsyonu: Gerekli miktar deneyden önce hesaplandı (100 µL/well). Hazırlanırken hesaplanandan biraz daha fazla hazırlanmalıdır. 100x Konsantre HRP Konjugat, Konsantre HRP Konjugat Seyreltici ile 1x çalışma solüsyonuna seyreltildi.



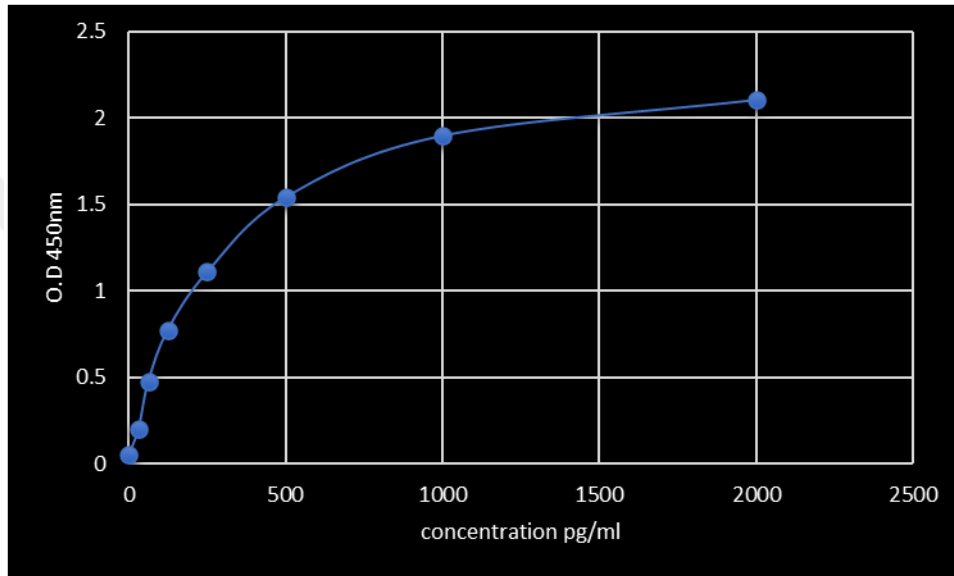
Şekil (3- 1): standart GPX1'in seri dilüsyonu.

3.2.2.3. Prosedür

- 1) Standart çalışma solüsyonu ilk iki sütuna eklendi: Solüsyonun her konsantrasyonu ikişer kez, her bir kuyucuğa yan yana eklendi (her well için 100 µL) . Örnekler diğer kuyucuklara eklendi (her well için 100 µL). Plak, kitle sağlanan kapatıcı ile kaplandı ve ardından 90 dakika 37°C'de inkübe edildi.
- 2) Sıvı her welldan çıkarıldı, yıkamayın Hemen, her well 100 µL Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu eklendi. Plaka, Plaka kapatıcı ile kaplandı. Yavaşça karıştırılır. 37°C'de 1 saat inkübe edildi.
- 3) Çözelti, her bir well aspire edildi veya döküldü ve her bir kuyucuğa 350 µL yıkama tamponu ilave edildi. 1~2 dakika bekletin ve çözelti aspire edildi veya her well döküldü ve temiz emici kağıda hafifçe vurarak kurutun. Bu yıkama adımı 3 kez tekrarlandı.
- 4) Her well 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonu eklendi. Plaka kapatıcı ile kaplandı. 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.
- 5) Çözüm her well aspire edildi veya döküldü ve yıkama işlemi 3. adımda gerçekleştirildiği gibi beş kez tekrarlandı.
- 6) Her well 90 µL Substrate Reaktif eklendi. Plaka yeni bir plaka kapatıcı ile kaplandı. 37°C'de yaklaşık 15 dakika inkübe edildi. Plaka ışıktan korunmuştur.
- 7) Her well 50 µL Stop Solution eklendi.
- 8) Optik yoğunluk (OD değeri), 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro-plaka okuyucu ile bir kerede her kuyu için belirlendi.

3.2.2.4. Sonuçların hesaplanması

Standart eğri, dikey (Y) ekseninde standart konsantrasyonların her biri için elde edilen absorbanstın (450 nm) yatay (X) ekseninde karşılık gelen GPX1 konsantrasyonu hesaplandı (pg/mL) karşı çizilmesiyle oluşturulabilir. Standart numunenin her bir koordinat noktasını bağlamak için düz bir çizgi kullanarak, numunelerin konsantrasyonu, Şekil (3-2)'de gösterildiği gibi numune OD okumasını kontrol ederek bulunabilir. Bilinmeyen hesaplanırken sonuç seyreltme faktörü ile çarpıldı.



Şekil (3- 2): GPX1 konsantrasyonunun belirlenmesi için standart eğri.

3.2.3. İnsan Estradiol (E2) Ölçümü.

3.2.3.1. Prensip

Bir enzim immün testi için gerekli olan temel reaktifler arasında bir antikor, enzim-antijen konjugatı ve doğal antijen bulunur. Biotinlenmiş antikorun antijeni içeren bir serumla karıştırılması üzerine, antijen ve antikor arasında bir reaksiyon meydana gelir.

3.2.3.2. Reaktif hazırlama

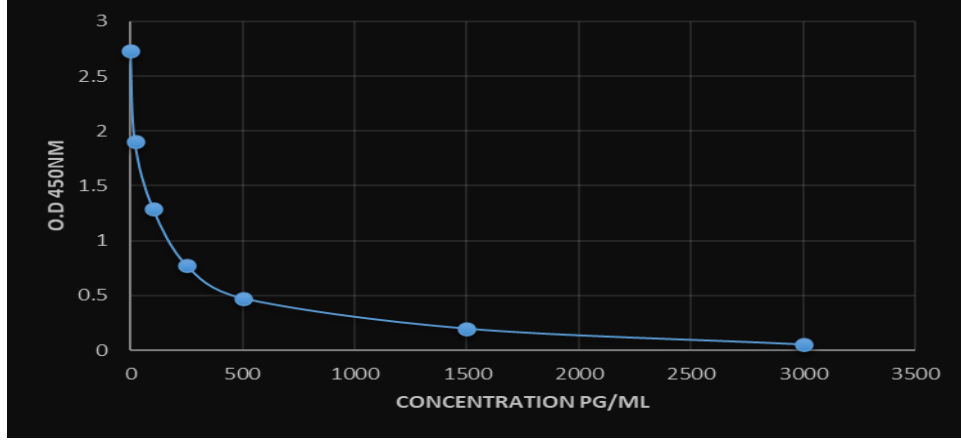
Yıkama Tamponu: Yıkama solüsyonunun içeriği uygun bir saklama kabında distile veya deiyonize su ile 1000 ml'ye seyreltilir.

3.2.3.3. Prosedür

1. Uygun serum referans kalibratörü, kontrolü veya numunesinden 0,025 ml (25 µL) atanan kuyuya pipetlendi.
2. Tüm wells 0.050 ml (50 µl) Estradiol Biotin Reaktifi ilave edildi. Mikroplaka karıştırmak için 20-30 saniye hafifçe döndürüldü. Daha sonra üzeri kapatılarak oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.
3. Tüm wells 0.050 ml (50 µl) Estradiol Enzim Reaktifi ilave edildi. Mikroplaka nazikçe 20-30 saniye karıştırılarak döndürülür. Daha sonra üzeri kapatılarak oda sıcaklığında 90 dakika inkübe edildi. Mikroplakanın içeriği, dekantasyon veya aspirasyon yoluyla atıldı. Boşaltma yapıyorsanız, plakayı emici kağıtla kurulaşın.
4. Toplam üç yıkama için iki kez daha tekrarlamak üzere 0.350 ml (350 µl) yıkama tamponu eklendi.
5. Tüm wells 0.100 ml (100 µl) substrat solüsyonu ilave edildi. Kuyular arasındaki reaksiyon süresi farklılıklarını en aza indirmek için reaktifleri aynı sırada kullanın.
6. Oda sıcaklığında yirmi (20) dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa 0.050ml (50µl) stop solüsyonu eklendi ve 15-20 saniye hafifçe karıştırıldı. Kuyular arasındaki reaksiyon süresi farklılıklarını en aza indirmek için reaktifleri aynı sırada kullanın.
7. Her kuyudaki absorbans 450 nm'de okunmuştur.

3.2.3.4. Sonuçların hesaplanması

Standart eğri, dikey (Y) ekseninde standart konsantrasyonların her biri için elde edilen absorbansın (450 nm) yatay (X) ekseninde karşılık gelen E2 konsantrasyonu hesaplandı (pg/mL) karşı çizilmesiyle oluşturulabilir. Standart numunenin her bir koordinat noktasını bağlamak için düz bir çizgi kullanarak, numunelerin konsantrasyonu, Şekil (3-3)'te gösterildiği gibi numune OD okumasını kontrol ederek bulunabilir. Bilinmeyen hesaplanırken sonuç seyreltme faktörü ile çarpıldı.



Şekil (3- 3): E2 konsantrasyonunun belirlenmesi için standart eğri.

3.2.4. İnsan Malondialdehit (MDA) Ölçümü.

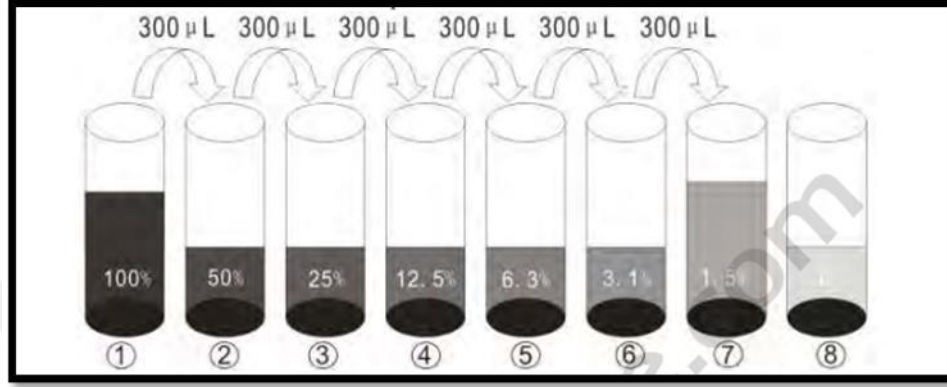
3.2.4.1. Prensip

Bu kit, Çift Antikorlu Sandviç Tekniği kullanır. Çift Antikorlu Sandviç prensibi, kaplanmış antikor ve saptama antikorunu aynı anda tanımlayabilen ikiden fazla değerlikli test edilen antijenin özelliklerine dayanır.

3.2.4.2. Reaktif hazırlama

- 1) İnsan MDA standart numunesi: İnsan MDA liyofilize standart numunesine 1.0 ml seyreltici ilave edildi ve 30 dakika hareketsiz tutuldu. Numune tamamen çözüldükten sonra hafifçe karıştırıldı ve tüp 1 olarak işaretlendi. Sonra seyreltme gerektiği gibi alındı.
- 2) Standart numune seyreltme yönteminin açıklaması: 7 temiz tüp alındı ve sırasıyla 2, 3 , 4 , 5 , 6 , 7 , 8 ile etiketlendi . 300µl standart numunenin alikuotları bir test tüpüne ilave edildi ve şekil (3-4)'deki gibi seyreltildi. Tüp 1'den tüp 2'ye 300 µl seyreltici pipetle alındı ve iyice karıştırıldı. Yukarıdaki adım, tüp 7'ye kadar tekrarlandı. Tüp 8'deki standart numune dilüsyonu negatif kontroldür.
- 3) Biotinlenmiş insan MDA antikor sıvısı: Gerekli miktara istinaden, bir biyotinlenmiş antikor sıvısı oluşturmak üzere konsantre biyotinlenmiş antikoru (1:100) seyreltmek için antikor seyreltici kullanıldı. Hazırlık 30 dakika önceden yapılmalıdır.

- 4) Enzim -konjugat sıvısı: Gerekli miktara istinaden konsantre enzim-konjugat, bir enzim-konjugat sıvısı oluşturmak için bir enzim-konjuge seyreltici (1:100) ile seyreltilir. Hazırlık 30 dakika önceden yapılmalıdır.
- 5) Renk Reaktifi sıvısı: Renk Reaktifi sıvısı 30 dakika önceden Renk Reaktifi A ve Renk Reaktifi B ile 9:1 oranında hazırlanır.



Şekil (3- 4): standart MDA'nın seri dilüsyonu.

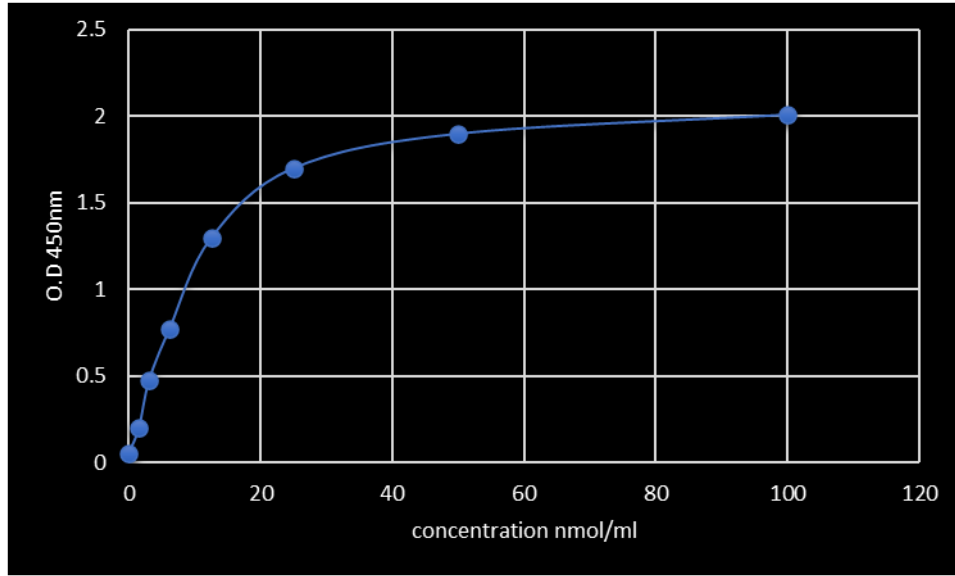
3.2.4.3. Prosedür

1. Gerekli şeritler oda sıcaklığına denk gelen kilitli poşetten çıkarılmıştır. Kullanılmayan şeritler ve kurutucu, saklama için 2-8°C'de mühürlü alüminyum folyo torbaya geri konmalıdır.
2. Boş wells Kenara koyun.
3. Numuneler veya farklı konsantrasyonlarda insan MDA standart numuneleri karşılık gelen kuyucuklara eklenmiştir (her kuyu için 100µl), 0 nmol/ml kuyucuk standart seyreltici ile doldurulmalıdır. Reaksiyon kuyuları yapışkan bantlarla kapatıldı ve 37°C'de 90 dakika inkübe edildi.
4. Biotinlenmiş insan MDA antikor sıvısı 30 dakika önceden hazırlandı.
5. Elisa plakası 2 kez yıkandı.
6. Biotinlenmiş insan MDA antikor sıvısı, her bir kuyucuğa ilave edildi (her biri için 100 µl). Reaksiyon kuyucukları yapışkan bantlarla kapatıldı ve 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
7. Bir enzim-konjugat sıvısı 30dk önceden hazırlanır.

8. Elisa plakası 3 kez yıkandı.
9. Boş kuyucuklar hariç her kuyucuğa enzim-konjugat sıvısı eklendi (her biri için 100µl). Reaksiyon kuyucukları yapışkan bantlarla kapatıldı ve 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.
10. Elisa plakası 5 kez yıkandı.
11. Ayrı ayrı kuyucuklara (kör kuyucuklara da) 100µl Renk Reaktif sıvısı ilave edildi ve karanlık bir inkübatörde 37°C'de inkübe edildi.
12. Ayrı ayrı kuyucuklara (kör kuyucuğa da) 100µl Renk Reaktif C eklendi. İyice karıştırılır. OD (450nm) okuma 10 dakika içinde.

3.2.4.4. Sonuçların hesaplanması

Standart eğri, dikey (Y) ekseninde standart konsantrasyonların her biri için elde edilen absorbansın (450 nm) yatay (X) ekseninde karşılık gelen MDA konsantrasyonu hesaplandı (nmol/ml) karşı çizilmesiyle oluşturulabilir. Standart numunenin her bir koordinat noktasını bağlamak için düz bir çizgi kullanarak, numunelerin konsantrasyonu, Şekil (3-5)'te gösterildiği gibi numune OD okumasını kontrol ederek bulunabilir. Bilinmeyen hesaplanırken sonuç seyreltme faktörü ile çarpıldı.



Şekil (3- 5): MDA konsantrasyonunun belirlenmesi için standart eğri.

3.2.5. İnsan reaktif oksijen türlerinin (ROS) ölçümü.

3.2.5.1. Reaktif hazırlama

20×yıkama solüsyonu: Distile veya deiyonize su ile 1:20 oranında seyreltilir.

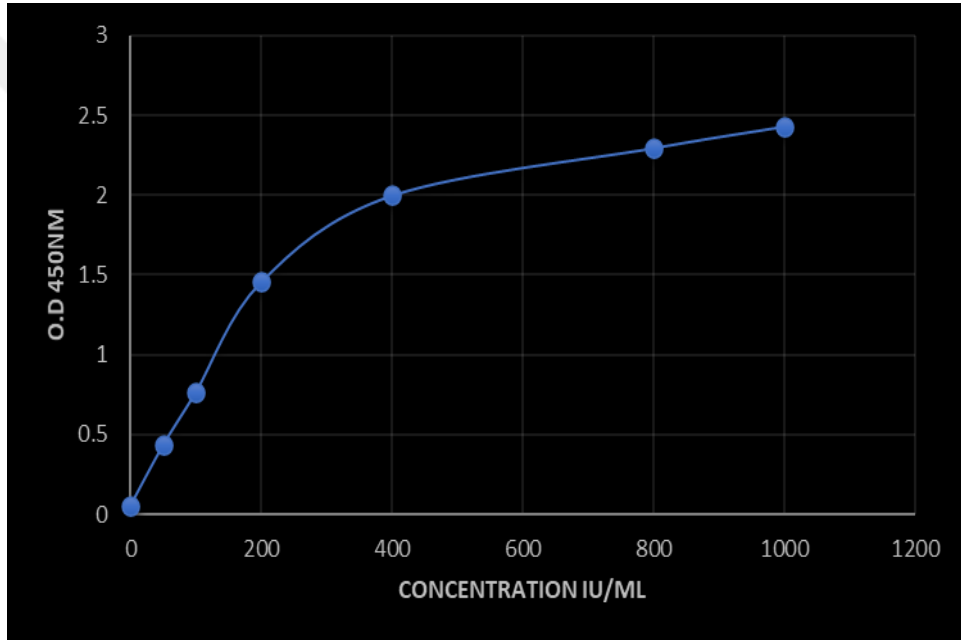
3.2.5.2. Prosedür

- 1) Tüm reaktifler tahlil prosedürüne başlamadan önce hazırlanmıştır.
- 2) Standart kuyusuna 50µl standart eklendi.
- 3) 10µl numune eklendi Daha sonra 40µl numune eklendi numune kuyusunu test etmek için numune seyreltici de eklenmiştir.
- 4) Her bir kuyucuğa 100µl HRP-konjugat reaktifi eklendi, ardından yapışkan bir şeritle kapatıldı ve 60 dakika 37°C'de inkübe edildi.
- 5) Her kuyu yıkandı ve aspire edildi, işlem toplam beş yıkama için dört kez tekrarlandı.
- 6) 50µl _ her bir kuyucuğa kromojen solüsyonu A ve kromojen solüsyonu B ilave edildi. Daha sonra nazikçe karıştırılarak 37°C'de 15 dakika inkübe edildi ve karanlık bir yerde muhafaza edildi.
- 7) Her kuyucuğa 50µl Stop Solution eklendi. Renk maviden sarıya dönene kadar.

- 8) Optik Yoğunluk (OD) 15 dakika içinde bir mikrotitre plaka okuyucu kullanarak 450 nm'de okuyun.

3.2.5.3. Sonuçların hesaplanması

Standart eğri, dikey (Y) ekseninde standart konsantrasyonların her biri için elde edilen absorbansın (450 nm) yatay (X) ekseninde karşılık gelen ROS konsantrasyonu hesaplandı (IU/ml) karşı çizilmesiyle oluşturulabilir. Standart numunenin her bir koordinat noktasını bağlamak için düz bir çizgi kullanarak, numunelerin konsantrasyonu, Şekil (3-6)'da gösterildiği gibi numune OD okumasını kontrol ederek bulunabilir. Bilinmeyen hesaplanırken sonuç seyreltme faktörü ile çarpıldı.



Şekil (3- 6): ROS konsantrasyonunun belirlenmesi için standart eğri.

3.3. APE1 gen ekspresyon seviyesinin tahmini:

3.3.1. RNA Ekstraksiyonu

Tüm tampon hazırlığı oda sıcaklığında yapılır, protokol iki bölümden oluşur:

3.3.1.1. RNA Arıtma

1. TRI Reaktifinde parçalanmış bir numuneye eşit hacimde etanol (%95-100) ilave edildi ve iyice karıştırıldı.

2. Karışım, bir toplama tüpü içinde bir Zymo-Spin™ IIC Sütununa aktarıldı ve 30 saniye 16.000 rpm'de santrifüjlendi.
3. Sütun yeni bir toplama tüpüne aktarıldı ve akış atılan.
4. Kolona 400 µl RNA Yıkama Tamponu eklendi ve 30 saniye 16.000 rpm'de santrifüjlendi.
5. RNase içermeyen bir tüpte, 5µl DNase I (6U/µl), 75µl DNA Digestion Buffer ve mix4. Karışım doğrudan kolon matrisine eklendi ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi.
6. Kolona 400 µl Direct-zol™ RNA PreWash eklendi ve 30 saniye 16.000 rpm'de santrifüjlendi. Akış oldu atıldı ve bu adım tekrarlandı.
7. Kolona 700µl RNA Yıkama Tamponu eklendi ve yıkama tamponunun tamamen çıkarılmasını sağlamak için 16.000 rpm'de iki dakika santrifüjlendi.
8. Sütun dikkatli bir şekilde RNase içermeyen bir tüpe aktarıldı.
9. RNA'yı ayırtırmak için, doğrudan kolon matrisine 50µl DNase/RNase-Free Su ilave edildi ve 30 saniye 16.000 rpm'de santrifüjlendi.

3.3.2. Ters Transkripsiyon (RNA'dan cDNA'ya) prosedürü

Prime Script™ RT reaktif Kiti, gerçek zamanlı (RT-PCR) için optimize edilmiş ters transkripsiyonu gerçekleştirmek üzere tasarlanmıştır.

3.3.2.1. Protokol:

- 1) Aşağıdaki reaksiyon karışımı, buz üzerinde hazırlanır.
- 2) 5 × Prime Script™ karışımından 2 µl, 3-5 µl toplam RNA'ya ilave edildi.
- 3) Hacim 10 µl'ye tamamlandı. tabloda görüldüğü gibi (3-5).
- 4) Reaksiyon karışımı, aşağıdaki koşul altında inkübe edildi. 15 dakika 37°C (Ters transkripsiyon), 5 saniye 85°C ve Ters transkriptazı ısıl işleme inaktive etmek için 4°C.

Tablo (3 - 5): Ters Transkripsiyonun Bileşenleri.

Reaktifler	Birimler
5 × PrimeScript™ karışımı	3-5 µl
Toplam RNA	8 µl
RNazsız dH ₂ O	10 µl'ye kadar

3.3.3. Gerçek zamanlı- PCR

3.3.3.1. KAPA SYBR® FAST qPCR Master Mix (2X) Kiti.

qPCR'de bir hedefin amplifikasyonu ve tespiti için tüm bileşenleri (primerler ve şablon hariç) içeren kullanıma hazır bir kokteyldir.

3.3.3.2. Prosedür

- 1) Tüm reaksiyon bileşenleri uygun şekilde çözüldü ve karıştırıldı.
- 2) Şablonsuz Denetim (NTC) reaksiyon bileşenlerinin kontaminasyonunun tespitine izin vermek için dahil edilmiştir.
- 3) KAPA SYBR FAST qPCR Master Mix (2X) Universal'den 10 µl ve her bir Forward ve Reverse primer için 0,4 µl ve 10 µl'ye kadar Nükleazsız su.
- 4) Her bir bileşenin gerekli hacmi tabloya göre hesaplanmıştır (3-6).
- 5) Bileşenlerin eklenmesinden sonra tüpler kapatılır ve APE-1 geni için tablo (3-7)'da ve GAPDH için tablo (3-8)'de özetlendiği gibi programlanan bir termal döngüleyiciye yerleştirilir.

Tablo (3 - 6): RT-PCR'nin reaksiyon bileşenleri.

Bileşen	hacim (µL)	Son konsantrasyon
KAPA SYBR FAST qPCR Master Mix (2X) Evrensel	10	2x
ileri astar	0.4	0.2µM
Ters astar	0.4	0.2µM
Nükleaz içermeyen su	10 A kadar	
Şablon cDNA Örnek Hacmi	3	1pg-100ng

Tablo (3 - 7): RT-PCR Bisiklet Programı.

Adımlar	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü
Enzim aktivasyonu	95	5 dakika	Tutmak
Denatürasyon	95	20 saniye	40
Tavlama	60	20 saniye	
Uzantı	72	20 saniye	

Tablo (3 - 8): Referans genin (GAPDH) RT-PCR Döngü Programı.

Adımlar	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü
Enzim aktivasyonu	95	5 dakika	Tutmak
Denatürasyon	95	20 saniye	40
Tavlama	56	20 saniye	40
Uzantı	72	20 saniye	40
Son uzatma	72	2 dakika	1

3.4. Gen ifadesi denklemleri

$$\Delta Ct = \text{Hedef Ct} - \text{Referans Ct}$$

$$\Delta \Delta Ct = \Delta Ct \text{ (her numune için)} - \text{normalin ortalama } \Delta Ct \text{'si}$$

$$\text{Katlama değişimi} = 2 - (\Delta \Delta Ct) \text{ [99].}$$

3.5. İstatistiksel Analiz:

İstatistiksel Analiz Sistemi-SAS (2012) programı, farklı faktörlerin çalışma parametreleri üzerindeki etkisini tespit etmek için kullanıldı. Ortalamalar arasında anlamlı bir karşılaştırma yapmak için bir T-testi kullanıldı. Yüzdeler arasında anlamlı karşılaştırma yapmak için Ki-kare testi kullanıldı (0,05 ve 0,01 olasılık). Bu çalışmada değişkenler arasında korelasyon katsayısı tahmin edilmiştir [100].

4. BULGULAR

4.1. Antropometrik ve vücut kitle indeksi (BMI) çalışması

Ortalama kontrol yaşı 51.64 ± 1.13 yıl, hastalar 52.49 ± 1.21 yıl idi. P değeri 0.612'dir. Meme kanseri hastalarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aradaki fark anlamlı olarak farklı değildi ($p > 0.05$), Vücut kitle indeksi (VKİ) hasta grubunda kg/m^2 yüksek bulundu. P-Değeri 0.0533'tür. Kontrol grubu 26.22 ± 0.56 ile karşılaştırıldığında meme kanseri hastalarında 27.75 ± 0.55 iken VKİ'de fark anlamlı olarak farklı değildi ($p > 0.05$), ancak her ikisi de tablo (4-1)'de gösterildiği gibi normal VKİ aralığındaydı. Ve ek (1), (2).

Tablo (4- 1): Kontrol ve hasta gruplarının Yaş ve VKİ açısından karşılaştırılması.

Grup	Ortalama \pm SE	
	Yaş (yıl)	VKİ (kg/m^2)
Kontrol	51.64 ± 1.13	26.22 ± 0.56
Hastalar	52.49 ± 1.21	27.75 ± 0.55
T- testi	3.301 NS	1.558 NS
P- değeri	0.612	0.0533
NS: Önemsiz.		

4.2. Aile öyküsü

Hasta ve kontrol karşılaştırıldığında gösterilen sonuçlar anlamlı bir fark vardı ($P \leq 0.01$).

Tablo (4- 2) : Örnekleme çalışmasının kontrol ve hasta gruplarında Aile öyküsüne göre dağılımı.

Aile öyküsü	Kontrol Numara. (%)	Hastalar Numara. (%)	P- değeri
Evet	9 (20.00)	23 (51.11)	0.0013 **
hayır	36 (80.0)	22 (48.89)	0.0013 **
P- değeri	0.0001 **	0.761 NS	---
** Çok Önemli ($P \leq 0.01$), NS: Önemsiz.			

4.3. Glutasyon peroksidaz 1 (GPX1)

Kontrol grubu için glutasyon peroksidaz yüksek bulundu. P-Değeri 0.0001'dir. Tablo (4-3) ve ek (3)'te gösterildiği gibi kontrol grubu 1253.94 ± 40.09 ile karşılaştırıldığında meme kanseri hastalarında 509.38 ± 37.78 olduğunda GPX1 pg/ml'de fark oldukça anlamlıydı ($P \leq 0.01$).

Tablo (4- 3) : Glutasyon peroksidaz 1'de kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma.

Grup	Ortalama \pm SE (pg/ml)
Kontrol	1253.94 ± 40.09
Hastalar	509.38 ± 37.78
T- testi	109.49
P- değeri	0.0001**
** Çok Önemli ($P \leq 0.01$).	

4.4. Estradiol (E2)

Hasta grubunda östradiol yüksek bulundu. P-Değeri 0.0001'dir. Tablo (4-4) ve ek (4)'te gösterildiği gibi kontrol grubu 34.19 ± 1.80 ile karşılaştırıldığında meme kanseri hastalarında 146.26 ± 10.07 olduğunda E2 pg/ml'de fark oldukça anlamlıydı ($P \leq 0.01$).

Tablo (4- 4) : Estradiol'de kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma.

Grup	Ortalama \pm SE (pg/ml)
Kontrol	34.19 \pm 1.80
Hastalar	146.26 \pm 10.07
T- testi	20.339 **
P- değeri	0.0001
** Çok Önemli (P \leq 0.01).	

4.5. Malondialdehit (MDA):

Hasta grubunda malondialdehit yüksekliği saptandı. P-Değeri 0.050'dir. Tablo (4-5) ve ek (5)'te gösterildiği gibi kontrol grubu 2.76 \pm 0.42 ile karşılaştırıldığında meme kanseri hastalarında 4.09 \pm 0.52 MDA nmo/ml'de fark anlamlıydı (P \leq 0.05).

Grup	Ortalama \pm SE (nmo/ml)
Kontrol	2.76 \pm 0.42
Hastalar	4.09 \pm 0.52
T- testi	1.245 *
P- değeri	0.050
* Önemli (P \leq 0.05).	

Tablo (4- 5) : Malondialdehitte kontrol ve hasta gruplarının karşılaştırılması.

4.6. Reaktif oksijen türleri (ROS)

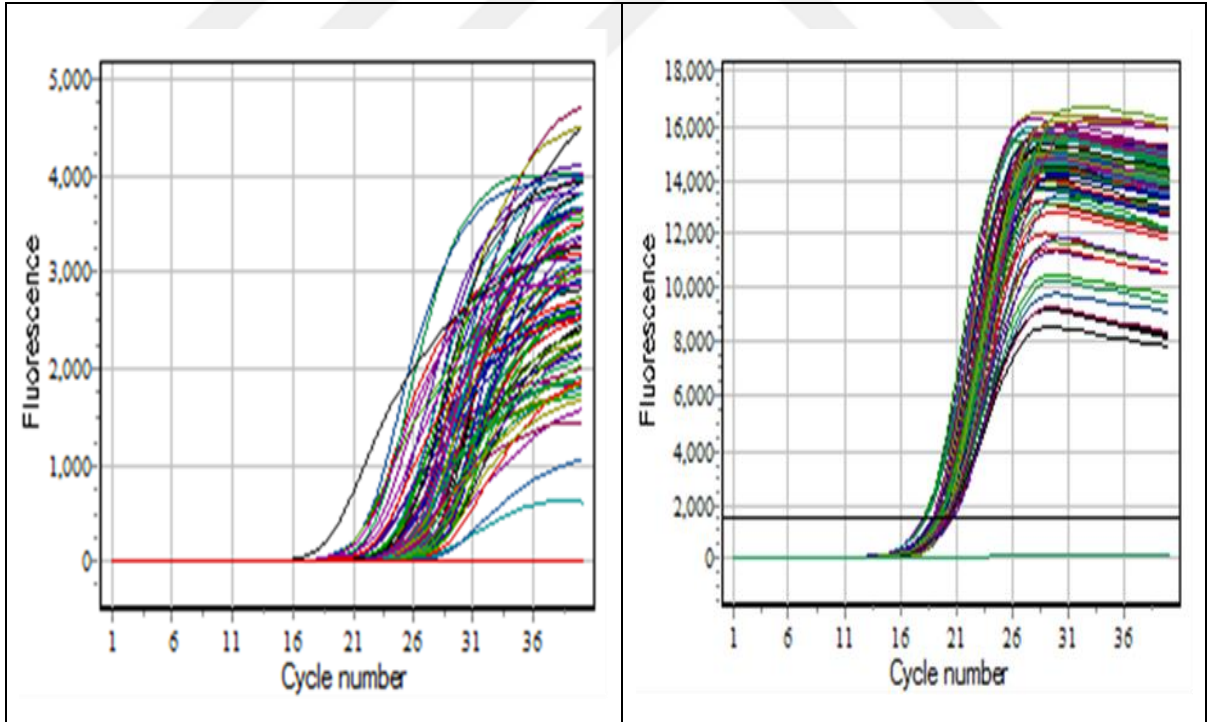
Hasta grubunda reaktif oksijen türleri yüksek bulundu. P-Değeri 0.0003'tür. Tablo (4-6) ve ek (6)'da gösterildiği gibi kontrol grubu 351.01 \pm 23.35 ile karşılaştırıldığında meme kanseri hastalarında 623.19 \pm 67.53 olduğunda ROS IU/ml'de fark oldukça anlamlıydı (P \leq 0.01).

Tablo (4- 6) : Reaktif oksijen türlerinde kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma.

Grup	Ortalama \pm SE (IU/ml)
Kontrol	351.01 \pm 23.35
Hastalar	623.19 \pm 67.53
T- testi	142.01 **
P- değeri	0.0003
** Çok Önemli ($P \leq 0.01$).	

4.7. APE1 gen ekspresyon seviyesinin tahmini

Bu işaretçinin gen ifadesi, q RT-PCR kullanılarak kullanıldı. Tüm numuneler iki kopya halinde çalıştırıldı. Her numuneden döngü numarasına karşı floresan sinyalleri arasındaki amplifikasyon grafikleri, şekil (4-7)'de gösterildiği gibi gerçek zamanlı PCR deneyi boyunca ürün birikimini temsil eder.



Şekil (4- 1): Real-time – PCR ile APE1 geninin amplifikasyon eğrileri.

3.004 ±0.15 VS 1.00± 0.00, Tablo (4-7)'de gösterildiği gibi, hastalarda önemli ölçüde (p<0.01) daha yüksek bir APE-1 gen ekspresyonu seviyesi ortaya çıkardı. APE1gen ekspresyonu için qRT-PCR, GAPDH referans genine normalleştirildi. Katlama değışikliği verileri, göreceli karşılaştırma yöntemi 2- ($\Delta\Delta Ct$) kullanılarak hesaplandı.

Tablo (4- 7): APE1 geninin gen ifadesi.

Grup	APE1 geninin Ct'si	GAPDH'nin Ct'si	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	Katlama
Hastalar	21.78	17.19	4.60	-1.38	3.004 ±0.15
Kontrol	23.02	17.06	5.96	-0.022	1.00 ±0.00
P- değeri	-	-	-	-	0.0001 **
** Çok Önemli (P≤0.01).					

4.8. Kimyasal ölçümler arasındaki korelasyon

Kimyasal ölçümlerle ilgili mevcut çalışmada yer alan tüm parametreler arasındaki ilişki Pearson korelasyon analizi kullanılarak incelenmiştir. Toplu sonuçlar Tablolarda (4-8) sunulmaktadır. Reaktif oksijen türleri (ROS) düzeylerinin östradiol (E2) ve ROS ile önemli ölçüde anlamlı bir pozitif korelasyona sahip olduğu, glutatyon peroksidaz (GPX1) ile anlamlı bir negatif korelasyona ve ayrıca E2 ve GPX1 arasında önemli bir negatif korelasyona sahip olduğu bulundu.

Tablo (4- 8): Meme hastası grubundaki değışkenler arasındaki korelasyonlar (P-değeri).

Değişkenler	Korelasyon katsayısı-r	işaret
ROS & E2	0.39	**
ROS & GPX1	-0.35	**
ROS & MDA	-0.08	NS
E2 & GPX1	-0.66	**
E2 & MDA	0.19	NS
GPX1 & MDA	-0.19	NS
** Çok Önemli (P≤0.01). NS: Önemsiz.		

4.9. Değişkenler ve gen katlanması arasındaki korelasyon

Tüm parametreler ile gen katlanması arasındaki ilişki Pearson korelasyon analizi kullanılarak incelenmiştir. Tablolarda (4-9) görüldüğü gibi gen katlanması ile ROS, GPX1 ve MDA'da anlamlı olmayan bir değişiklik ve E2 ile anlamlı olmayan bir negatif ilişki değişikliği gösterdi.

Tablo (4- 9) : Değişkenler ve gen kıvrımı arasındaki korelasyon katsayısı ifade hastalarda.

Değişkenler	Katlama ile korelasyon katsayısı-r	işaret
ROS	0.07	NS
E2	-0.02	NS
GPX1	0.04	NS
MDA	0.04	NS
NS: Önemsiz.		

5. SONUÇLAR

Bu çalışma, meme kanserli hastalarda APE1 gen ekspresyonunun etkinliğini ve bazı biyokimyasal parametreleri, yaşlı sağlıklı bireylere göre değerlendirdi ve bu çalışmanın sonucuna göre, APE1, Estradiol (E2) ekspresyonunda önemli farklılıklar olduğu gösterildi, Glutasyon peroksidaz (GPX1), Reaktif oksijen türleri (ROS) ve Malondialdehit (MDA) arasında iki gruptur. Ayrıca (ROS ve E2), (ROS ve GPX1) ve (E2 ve GPX1) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler bulundu. Ancak, APE1 ile tüm biyokimyasal parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Uluslararası hasta sağkalımını belirlemek için kullanılan her prognostik belirteç, meme bezi kanseri klinik davranışı hakkında faydalı bilgiler sağlayabilir. Bununla birlikte, vakaların büyük çoğunluğunda ne tahmin edilen tümör gelişimi ne de kemoterapi yanıtıdır [101,102]. Vant't Veer ve arkadaşlarına göre, hastalığın aynı evresinde meme kanseri olan kadınlar aynı tedaviye tamamen farklı tepkiler verebilirler [101].

5.1. Obezite

Obezite veya kilo artışı, tüm riskler arasında en önlenebilir olan meme kanseri için bir risk faktörüdür [103]. Obezite 25-29 kg/m² ağırlık artışı olarak tanımlanır; Dünya çapında 475 milyon kişinin BMI'si 30 kg/m²'nin altındadır. Meme kanseri, tüm dünyada kansere bağlı ölümlerin başlıca nedenlerinden biridir [104]. Sonuçlar, diğer çalışmaların yanı sıra [106] önceki çalışmaya göre istatistiksel olarak anlamlı değildir [105],.

5.2. Aile geçmişi

Aile öyküsü genetik bir faktör olmasına rağmen (bu araştırmada meme tümörü olan kadınların yüzde 51,11'i doğrudan bir bağlantıya (anne, kız kardeş veya kızı) sahipti), tüm vakaların aile geçmişinde meme kanseri yok (yaklaşık yüzde 48,89'u negatif aile geçmişi) [107]. Meme kanseri risk oranları, etkilenen birinci derece akrabaların sayısı arttıkça arttı [108]. Thorlacius'un uzun süredir devam eden "iki vuruş" hipotezine göre, aile meme kanseri hastalarındaki tümör hücreleri genellikle bir alelde mutasyona ve diğer alelde delesyona sahiptir [107]. Kalıtsal meme kanseri vakalarının çoğu, iki kusurlu genle bağlantılıdır: BRCA1 (meme kanseri geni bir) ve BRCA2 (meme kanseri geni iki). BRCA genleri, hücre hasarını onarmaktan ve meme, yumurtalık ve diğer hücrelerin doğru

gelişmesini sağlamaktan sorumludur. Bununla birlikte, bu genlerde nesilden nesile aktarılan anormallikler veya mutasyonlar olduğunda, genler düzgün çalışmayı durdurarak meme, yumurtalık ve diğer kanser riskini artırır [109].

5.3. Glutatyon peroksidaz 1

Glutatyon peroksidaz (GPX1), H_2O_2 'yi H_2O 'ya düşürmek için elektron donörü olarak GSH'yi kullanan ve glutatyon disülfidi (GSSG) oksitlenmiş formuna dönüştüren selenyum içeren bir enzimdir [110,111]. GSH, hücrenin antioksidan savunma mekanizmasının en kritik bileşenlerinden biridir. GSH, GPX'e konjuge olduğu için ksenobiyotik ve kanserojen maddelerin eliminasyonunda işlev görür [112]. Birçok tümör hücresinde gösterildiği gibi, yüksek miktarda GSH ve/veya GPX, antioksidan kapasitesini artırır. Bu değişikliklerin mekanizması ve etkileri iyi tanımlanmamasına rağmen [111], Son çalışmalar neoplastik meme dokusundaki antioksidanlardaki artışın bu hücelere sağlıklı dokuya göre önemli avantajlar sağladığını göstermiştir. Kanser hücrelerinde bu enzimlerin varlığı, radyasyon ve diğer kemoterapötikler gibi oksidatif hasara neden olan tedavilere düşük dereceli bir yanıt olabilir [113].

Tas et al. [114] meme kanseri hastalarında böyle bir ilişkiyi araştırmış ve kanser dokusundaki MDA seviyeleri ile GPX1 aktivitesi arasında hiçbir korelasyon göstermemiş, ancak her iki parametre de iyi huylu tümörlere kıyasla önemli ölçüde artmıştır [114].

5.4. Malondialdehit

Meme kanseri hastalarının oksidan/antioksidan durumunu araştırmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Zarrini ve ark. [115] bir çalışmada meme kanseri hastalarının sağlıklı kontrollerden [115] daha yüksek MDA konsantrasyonlarına sahip olduğunu bulmuşlardır, bu da bizim bulgularımız ile uyumludur.

Gönenç ve ark. [116] tarafından yapılan bir çalışmada, kontrol grubu [116] ile karşılaştırıldığında evre II, III ve IV'te serum MDA düzeylerinde önemli farklılıklar vardı. Başka bir araştırmada meme kanserli hastalarda serum MDA düzeyleri daha düşüktü ($p<0.05$) [117], bu bulgularımızla çelişiyor, ancak Yeh ve ark. [118] MDA, SOD ve GPX aktivitelerinde bir artış gözlemledi [118]. Ray ve ark.'na göre MDA konsantrasyonları,

hastalığın II ve III. evrelerinde kontrollere kıyasla önemli ölçüde arttı. [119] GPX seviyeleri, hastalarda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksektir [119].

5.5. Estradiol

Nsaif [120] tarafından yapılan araştırma, diğerlerine göre anlamlı yükselme gösteren menopoz sonrası malign grup dışında ($p < 0.05$), menopoz öncesi ve iyi huylu ve radyoterapi grupları ile menopoz sonrası kontrol grupları. Bu bulgular, Malezya ve Mısır'da [121] yürütülen önceki araştırmalarla eşleşti. Ancak premenopozal malign meme hastalarında serum E2 seviyelerinde artış vardır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır [122]. Ek olarak, sonuçları, kontrollere kıyasla menopoz öncesi vakalar arasında ortalama E2 konsantrasyonlarında anlamlı olmayan bir artış öneren diğer önceki çalışmalarla uyumludur [123,121]. Meme kanseri, biyolojik özelliklerini etkileyen hormon açısından zengin bir ortamda büyür ve bu nedenle nihayetinde klinik davranıştır [124]. Östrojenler, artan proliferasyon ve azalan apoptoz ile ilişkilidir ve genetik mutasyonlu hücrelerin proliferasyonunu teşvik edebilir [125]. Artan dolaşımdaki östrojen konsantrasyonlarının, postmenopozal kadınlarda meme kanseri riskinin artmasıyla güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur [126], bu bizim çalışmamızla uyumludur.

Estradiol düzeylerindeki artış, bu hormonların meme kanserindeki rolünü gösteren kanıtları desteklemektedir. Bu çalışma, menopoz öncesi ve meme kanserindeki kadınlarda artan estradiol seviyeleri arasında bir ilişki olmadığını göstermektedir [127]. Bu sonuçlar, östradiol ile hiçbir ilişki göstermeyen bir grup premenopozal kadın üzerinde kanser ve beslenmeyi (EPIC) araştırmak için Avrupa grubunda yürütülen en yeni çalışma ile tutarlıdır [121].

5.6. Oksidatif stres

Oksidatif stres, lipidlerde, proteinlerde veya DNA'da oksidasyon göstergeleri aranarak ölçülür. Nihai lipid peroksidasyon ürünleri, lipid peroksidasyon derecesini değerlendirmek için ölçülür. Malondialdehit, en yaygın lipid peroksidasyon son ürünüdür (MDA). Oksidatif stres için bir belirteçtir. ROS'a karşı hücre direncinde glutatyon ve glutatyon bağımlı enzimler (glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz gibi) gereklidir [128]. Birçok çalışma, insanlarda mutajenik MDA özelliklerini araştırdı; mutajenik MDA'nın kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz ve dünyadaki

kadınlarda ölüme neden olan en ileri kanser olan meme kanseri de dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinin gelişimini desteklediğini gösterdiler [129]. Bu, MDA'nın tümör boyutundan [130,131], sitoplazmik yayılımdan ve kanser türünden (zayıf farklılaşmış) [129] etkilenmesiyle ilişkili olabilir. MDA, plazma zarında çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) kaybına yol açan vücuttaki oksidatif stresle bağlantılıdır ve oksidatif stresin mitokondriyal arızaya neden olduğunu ve hatta nükleer solunum ajanı gibi kritik değişkenleri düzenlediğini belirtir [132]. Meme kanserli hastaların serumunda lipidlerin peroksidasyon düzeyinin normale göre artması bazı çalışmalar [133] ve bizim çalışmamız ile uyumludur.

5.7. Reaktif oksijen türleri

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ve ROS kaynaklı apoptoza karşı savunmasızlık, mitokondriyal arıza ile bağlantılı iki özelliştir. Çeşitli kanserlerde daha yüksek ROS seviyeleri rapor edilmiştir ve dönüştürülmemiş hücrelerde veya kanser hücrelerinde daha yüksek ROS seviyelerinin nükleik asitleri yok ederek ve hücre hasarına neden olarak pro-tümörjenik özelliklere sahip olabileceği öne sürülmüştür. Ancak literatürde reaktif oksijen türlerinin (ROS) tümörjenezdeki rolüne dair tartışmalar mevcuttur. Bazı çalışmalar ROS'un kanser hücrelerinde pro-tümörjenik sinyal yollarını tetikleyebileceğini öne sürerken [134,135], diğerleri anti-oksidan tedavinin tümör büyümesini, metastazı arttırdığını ve kanser fare modellerinde sağkalımı azalttığını buldu [136,137].

5.8. APE1 geni

BER işleme apuridik/apirimidinik endonükleaz (APE), kromozom 14 üzerindeki APE1 (14q11.2–q12) yardımcı olur, APE1 geni 2.21 kb açıklığa sahip beş ekzon içerir [138], 3' ucunda hidrolize edildiğinde, tek veya çift zincir kopmalarında DNA onarımı için gerekli olan 3'-hidroksil terminallerini oluşturarak DNA oksidasyonunu inhibe eder [139,140].

Irak'ta bir ilk olabilecek bu çalışmada, Iraklı meme kanserli hastaların yanıtında rol alan APE1 onarım genini değerlendirmek için RT-PCR yöntemi uygulandı.

Bu araştırmanın bulguları, hastaların AlMutairi ve ark.,[141] tarafından Suudi Arabistan'da bildirilen bulgularla tutarlı olarak, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hastaların APE1 geninin gen ekspresyonunun arttığını ortaya koydu. DNA bazı eksizyon onarım yolundaki

azalmış APE1 aktivitesi, APE1 modifikasyonu (Asp148Glu) olan hastalarda meme kanseri riskinin artmasına bağlanabilir. Yakın tarihli meta-analiz araştırmasına göre, APE1 Asp148Glu varyasyonu olan Asyalı insanlar, Asyalı olmayan insanlara göre daha fazla kanser riskine sahipti [142]. Redoks efektör faktör 1 (Ref-1) olarak da bilinen APE1, DNA onarımına ek olarak başka bir önemli role sahiptir [143]. APE1/Ref-1, c-Jun, aktivatör protein-1 (AP-1), nükleer faktör kappa B (NF-B), tümör baskılayıcı protein p53, hipoksi ile indüklenebilir faktör 1a (HIF-1a) gibi transkripsiyon faktörlerini soyut olarak uyarır) ve hücrenin hayatta kalması, büyüme sinyali ve inflamatuvar yol gibi hücresel işlevlerde rol oynayan eşleştirilmiş kutu geni 8 [144,145]. APE1'in, promotörlerinde negatif kalsiyum-yanıt elementine bağlı kalarak genlerin baskılanmasında doğrudan trans-etkili bir faktör olarak çalıştığı da keşfedilmiştir. APE1/Ref-1'in düzensizliği, nörodejeneratif [146] ve kardiyovasküler [147] bozuklukların yanı sıra insan maligniteleri [148,149] dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. APE1/ Ref-1'in DNA onarımını ve antiapoptotik, inflamatuvar ve büyümeyi teşvik edici yetenekleri destekleme kapasitesi kanser gelişiminde rol oynayabilir [150]. APE1 genindeki polimorfizmler, APE1/Ref-1'in çalışma şeklini değiştirebilen amino asit değişikliklerine neden olabilir.

6. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

6.1. Tartışma

Bu çalışmanın sonuçlarından aşağıdaki sonuçlar gözlemlenmiştir:

1. GPX, kontrol grubunda hasta grubuna göre daha yüksek bulundu.
2. Hasta grupta E2 düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlendi.
3. Hasta grupta MDA düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu.
4. Hasta grubunda ROS düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlendi.
5. Hasta grubundaki gen ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu.
6. ROS ve E2 değişkenleri arasında pozitif bir ilişki bulduk.
7. ROS ve GPX değişkenleri arasında negatif bir ilişki bulduk.
8. E2 değişkenindeki artış, GPX değişkenindeki artışla ilişkilidir.

6.2. Öneriler

- I. Meme kanserli kadınlarda APE1 geninde tek nükleotid polimorfizmlerinin saptanması.
- II. APE1 gen ifadesi ve diğer kan biyobelirteçleri arasındaki ilişkiyi belirleyin.
- III. Meme kanseri hastasında diğer genlerin gen ekspresyonunun tahmini.
- IV. Daha ileri çalışmaların diğer oksidatif stres biyobelirteçlerini incelemesi gerekiyor.

KAYNAKLAR

1. Key, T. J., Verkasalo, P. K., & Banks, E. (2001). Epidemiology of breast cancer. *The lancet oncology*, 2(3), 133-140.
2. Pourkiani, M., Hazrati, M., ABBASZADEH, A., Jafari, P., Sadeghi, M., DEZH, B. T., & Mohammadianpanah, M. (2010). Does a rehabilitation program improve quality of life in breast cancer patients?.
3. Aghabarari M, Ahamadi F, Mohammadi E, Hajizadeh E, Farahania V. (2005). Physical, emotional and social dimension of quality of life among breast cancer women under chemotherapy. *Iranian Journal of Nursing Research.*; 3:55–65.
4. Bozzini, A., Nicosia, L., Pruneri, G., Maisonneuve, P., Meneghetti, L., Renne, G., ... & Mastropasqua, M. G. (2020). Clinical performance of contrast-enhanced spectral mammography in pre-surgical evaluation of breast malignant lesions in dense breasts: a single center study. *Breast Cancer Research and Treatment*, 184(3), 723-731.
5. Ekici, S., & Jawzal, H. (2020). Breast cancer diagnosis using thermography and convolutional neural networks. *Medical hypotheses*, 137, 109542.
6. Stark G, Grandel S, SpilkerG. (1992). Tissue suction of the male and female breast. *Aesth. Plast Surg.*,16, 317-324.
7. Jagannathan, N. R., & Sharma, U. (2017). Breast tissue metabolism by magnetic resonance spectroscopy. *Metabolites*, 7(2), 25.
8. Hassiotou, F., & Geddes, D. (2013). Anatomy of the human mammary gland: Current status of knowledge. *Clinical anatomy*, 26(1), 29-48.
9. Thakur, S., Sarkar, B., Cholia, R. P., Gautam, N., Dhiman, M., & Mantha, A. K. (2014). APE1/Ref-1 as an emerging therapeutic target for various human diseases: phytochemical modulation of its functions. *Experimental & molecular medicine*, 46(7), e106-e106.
10. Parsa, N. (2012). Environmental factors inducing human cancers. *Iranian journal of public health*, 41(11), 1.
11. Si, W., Shen, J., Zheng, H., & Fan, W. (2019). The role and mechanisms of action of microRNAs in cancer drug resistance. *Clinical epigenetics*, 11(1), 1-24.
12. Fouad, Y. A., & Aanei, C. (2017). Revisiting the hallmarks of cancer. *American journal of cancer research*, 7(5), 1016.
13. Shah, R.; Rosso, K. and Nathanson, S. (2014). Pathogenesis, Prevention, Diagnosis and Treatment of Breast Cancer. *World J. of Cli. Oncology*. 5(3):283–98.

14. Anjum, F., Razvi, N., & Masood, M. A. (2017). Breast cancer therapy: a mini review. *MOJ Drug Des Develop Ther*, 1(2), 00006.
15. Iraqi Cancer Registry (2015). Iraqi Cancer Board. Ministry of Health, Republic of Iraq, 2010.
16. Alwan, N. A., Tawfeeq, F. N., & Mallah, N. (2019). Demographic and clinical profiles of female patients diagnosed with breast cancer in Iraq. *Journal of Contemporary Medical Sciences*, 5(1), 14-19.
17. Hang j, Sim L, Zakaria Z. (2017): Non-invasive breast carcinoma. *Breast cancer*: 9:15-20.
18. Chuba, P. J., Hamre, M. R., Yap, J., Severson, R. K., Lucas, D., Shamsa, F., & Aref, A. (2005). Bilateral risk for subsequent breast cancer after lobular carcinoma-in-situ: analysis of surveillance, epidemiology, and end results data. *Journal of Clinical Oncology*, 23(24), 5534-5541.
19. Nakhlis, F., & Morrow, M. (2003). Ductal carcinoma in situ. *Surgical Clinics*, 83(4), 821-839.
20. Ziperstein, M. J., Guzman, A., & Kaufman, L. J. (2016). Evaluating breast cancer cell morphology as a predictor of invasive capacity. *Biophysical Journal*, 110(3), 621a.
21. Arpino, G., Bardou, V. J., Clark, G. M., & Elledge, R. M. (2004). Infiltrating lobular carcinoma of the breast: tumor characteristics and clinical outcome. *Breast cancer research*, 6(3), 1-8.
22. Somiari, R. I., Sullivan, A., Russell, S., Somiari, S., Hu, H., Jordan, R., ... & Shriver, C. (2003). High-throughput proteomic analysis of human infiltrating ductal carcinoma of the breast. *Proteomics*, 3(10), 1863-1873.
23. Priya, V., & Prasaad, P. (2017). Tubulo-lobular carcinoma: a rare mixed invasive carcinoma of breast. *Int J Res Med Sci*, 5(6), 2818-2820.
24. Cariati, M., Bennett-Britton, T. M., Pinder, S. E., & Purushotham, A. D. (2005). "Inflammatory" breast cancer. *Surgical oncology*, 14(3), 133-143.
25. Neuman, H. B., Morrogh, M., Gonen, M., Van Zee, K. J., Morrow, M., & King, T. A. (2010). Stage IV breast cancer in the era of targeted therapy: does surgery of the primary tumor matter?. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 116(5), 1226-1233.
26. Duffy, M. J. (2006). Serum tumor markers in breast cancer: are they of clinical value?. *Clinical chemistry*, 52(3), 345-351.

27. Lakshmi, R., Athira, R., Mary, J. T., & Vijayalakshmi, S. (2012). Breast cancer risk factors: preventable and non-preventable. *Int Res J Pharm*, 3(10), 48-52.
28. Roses, D. (2005). *Breast Cancer*. 2nd ed. Elsevier Churchill Livingstone. p:788.
29. Hoda, S.; Brogi, E.; Koerner, F. and Rosen, P. (2014). *Rosen's Breast Pathology*. 4th ed. China: Wolters Kluwer Health. p: 1401
30. Antunes, F., Han, D., & Cadenas, E. (2002). Relative contributions of heart mitochondria glutathione peroxidase and catalase to H₂O₂ detoxification in in vivo conditions. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(9), 1260-1267.
31. Lubos, E., Loscalzo, J., & Handy, D. E. (2011). Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities.
32. Paradies, G., Petrosillo, G., Paradies, V., & Ruggiero, F. M. (2010). Oxidative stress, mitochondrial bioenergetics, and cardiolipin in aging. *Free radical biology and Medicine*, 48(10), 1286-1295.
33. Ferrer-Sueta, G., Campolo, N., Trujillo, M., Bartesaghi, S., Carballal, S., Romero, N., ... & Radi, R. (2018). Biochemistry of peroxynitrite and protein tyrosine nitration. *Chemical reviews*, 118(3), 1338-1408.
34. Chaturvedi, A. K., Engels, E. A., Anderson, W. F., & Gillison, M. L. (2008). Incidence trends for human papillomavirus-related and-unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. *Journal of clinical oncology*, 26(4), 612-619.
35. Nelson, L. R., & Bulun, S. E. (2001). Estrogen production and action. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 45(3), S116-S124.
36. Sanghi D.K., and Rakesh T. (2014); an elaborate review on hormone & its importance. *International journal of pharmacological screening*, 4: 56-68.
37. Ruiz-Cortés, Z. T. (2012). Gonadal sex steroids: production, action and interactions in mammals. *Steroids-From Physiology to Clinical Medicine*, 3-44.
38. Hu, J., Zhang, Z., Shen, W. J., & Azhar, S. (2010). Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones. *Nutrition & metabolism*, 7(1), 1-25.
39. Ho, C. C. K., Rohaizak, M., Zulkifli, S. Z., Siti-Aishah, M. A., Nor-Aini, U., & Sharifah-Noor-Akmal, S. H. (2009). Serum sex hormone levels in pre-and postmenopausal breast cancer patients. *Singapore medical journal*, 50(5), 513.
40. Pillon, N. J., & Soulage, C. O. (2012). Lipid peroxidation by-products and the metabolic syndrome. *Lipid peroxidation*, 409-436.

41. Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014.
42. Jain, S., Nair, A., & Shrivastava, C. (2015). Evaluation of oxidative stress marker malondialdehyde level in the cord blood of newborn infants. *International Journal of Scientific Study*, 3(6), 73-76.
43. Kirisattayakul, W., Wattanathorn, J., Tong-Un, T., Muchimapura, S., Wannanon, P., & Jittiwat, J. (2013). Cerebroprotective effect of *Moringa oleifera* against focal ischemic stroke induced by middle cerebral artery occlusion. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2013.
44. Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 141, 312–322. doi: 10.1104/pp.106.077073
45. Roychoudhury, A., and Basu, S. (2012). “Ascorbate-Glutathione and plant tolerance to various abiotic stresses,” in *Oxidative Stress in Plants: Causes, Consequences and Tolerance*, eds N. A. Anjum, S. Umar, and A. Ahmad (New Delhi: IK International Publishers), 177–258.
46. Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S., and Mittler, R. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environ.* 33, 453–467. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02041.x
47. Liu, Z., Ren, Z., Zhang, J., Chuang, C. C., Kandaswamy, E., Zhou, T., & Zuo, L. (2018). Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. *Frontiers in physiology*, 9, 477.
48. Sangrajang, S., Schmezer, P., Burkholder, I., Waas, P., Boffetta, P., Brennan, P., ... & Popanda, O. (2008). Polymorphisms in three base excision repair genes and breast cancer risk in Thai women. *Breast cancer research and treatment*, 111(2), 279-288.
49. Robson, C. N., Hochhauser, D., Craig, R., Rack, K., Bukie, V. J., & Hickson, I. D. (1992). Structure of the human DNA repair gene HAP1 and its localisation to chromosome 14q 11.2–12. *Nucleic acids research*, 20(17), 4417-4421.
50. L Illuzzi, J., & M Wilson III, D. (2012). Base excision repair: contribution to tumorigenesis and target in anticancer treatment paradigms. *Current medicinal chemistry*, 19(23), 3922-3936.
51. Gros, L., Saparbaev, M. K., & Laval, J. (2002). Enzymology of the repair of free radicals-induced DNA damage. *Oncogene*, 21(58), 8905-8925.

52. Dianov, G. L., & Hübscher, U. (2013). Mammalian base excision repair: the forgotten archangel. *Nucleic acids research*, 41(6), 3483-3490.
53. Mitra, S., Izumi, T., Boldogh, I., Bhakat, K. K., Hill, J. W., & Hazra, T. K. (2002). Choreography of oxidative damage repair in mammalian genomes. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(1), 15-28.
54. Doetsch, P. W., & Cunningham, R. P. (1990). The enzymology of apurinic/apyrimidinic endonucleases. *Mutation Research/DNA Repair*, 236(2-3), 173-201.
55. Demple, B., & Harrison, L. (1994). Repair of oxidative damage to DNA: enzymology and biology. *Annual review of biochemistry*, 63(1), 915-948.
56. Caston, R. A., Gampala, S., Armstrong, L., Messmann, R. A., Fishel, M. L., & Kelley, M. R. (2021). The multifunctional APE1 DNA repair–redox signaling protein as a drug target in human disease. *Drug Discovery Today*, 26(1), 218-228.
57. Barzilay, G., & Hickson, I. D. (1995). Structure and function of apurinic/apyrimidinic endonucleases. *Bioessays*, 17(8), 713-719.
58. Xanthoudakis, S., Miao, G. G., & Curran, T. (1994). The redox and DNA-repair activities of Ref-1 are encoded by nonoverlapping domains. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(1), 23-27.
59. Bhakat, K. K., Mantha, A. K., & Mitra, S. (2009). Transcriptional regulatory functions of mammalian AP-endonuclease (APE1/Ref-1), an essential multifunctional protein. *Antioxidants & redox signaling*, 11(3), 621-637.
60. Logsdon, D. P., Shah, F., Carta, F., Supuran, C. T., Kamocka, M., Jacobsen, M. H., ... & Fishel, M. L. (2018). Blocking HIF signaling via novel inhibitors of CA9 and APE1/Ref-1 dramatically affects pancreatic cancer cell survival. *Scientific reports*, 8(1), 1-14.
61. Fishel, M. L., Xia, H., McGeown, J., McIlwain, D. W., Elbanna, M., Craft, A. A., ... & Jerde, T. J. (2019). Antitumor activity and mechanistic characterization of APE1/Ref-1 inhibitors in bladder cancer. *Molecular cancer therapeutics*, 18(11), 1947-1960.
62. Codrich, M., Comelli, M., Malfatti, M. C., Mio, C., Ayyildiz, D., Zhang, C., ... & Tell, G. (2019). Inhibition of APE1-endonuclease activity affects cell metabolism in colon cancer cells via a p53-dependent pathway. *DNA repair*, 82, 102675.
63. Huang, H. I., Chen, C. H., Wang, S. H., Wang, L. H., & Lin, Y. C. (2019). Effects of APE1 Asp148Glu polymorphisms on OPMD malignant transformation, and on susceptibility to and overall survival of oral cancer in Taiwan. *Head & Neck*, 41(6), 1557-1564.

64. Ding, J., Fishel, M. L., Reed, A. M., McAdams, E., Czader, M. B., Cardoso, A. A., & Kelley, M. R. (2017). Ref-1/APE1 as a transcriptional regulator and novel therapeutic target in pediatric T-cell leukemia. *Molecular cancer therapeutics*, 16(7), 1401-1411.
65. Shah, F., Babb, O., Zhang, C., Gampala, S., Zhang, E., Rhodes, S. D., ... & Fishel, M. L. (2019). Abstract C017: Signaling through Ref-1 and STAT3 in soft tissue sarcoma (MPNST) and the effects of perturbing this pathway on tumor cell survival and gene expression.
66. Yang, X., Peng, Y., Jiang, X., Lu, X., Duan, W., Zhang, S., ... & Li, M. (2018). The regulatory role of APE1 in epithelial-to-mesenchymal transition and in determining EGFR-TKI responsiveness in non-small-cell lung cancer. *Cancer medicine*, 7(9), 4406-4419.
67. Chang-Claude, J., Popanda, O., Tan, X. L., Kropp, S., Helmbold, I., Von Fournier, D., ... & Ambrosone, C. B. (2005). Association between polymorphisms in the DNA repair genes, XRCC1, APE1, and XPD and acute side effects of radiotherapy in breast cancer patients. *Clinical cancer research*, 11(13), 4802-4809.
68. Ma, X., Dang, C., Min, W., Diao, Y., Hui, W., Wang, X., ... & Kang, H. (2019). Downregulation of APE1 potentiates breast cancer cells to olaparib by inhibiting PARP-1 expression. *Breast Cancer Research and Treatment*, 176(1), 109-117.
69. Woo, J., Park, H., Sung, S. H., Moon, B. I., Suh, H., & Lim, W. (2014). Prognostic value of human apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 (APE1) expression in breast cancer. *PloS one*, 9(6), e99528.
70. Cocchiola, R., Rubini, E., Altieri, F., Chichiarelli, S., Paglia, G., Romaniello, D., ... & Eufemi, M. (2019). STAT3 post-translational modifications drive cellular signaling pathways in prostate cancer cells. *International journal of molecular sciences*, 20(8), 1815.
71. Pascut, D., Sukowati, C. H. C., Antoniali, G., Mangiapane, G., Burra, S., Mascaretti, L. G., ... & Tell, G. (2019). Serum AP-endonuclease 1 (sAPE1) as novel biomarker for hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*, 10(3), 383.
72. Lu, H., Bhat, A. A., Peng, D., Chen, Z., Zhu, S., Hong, J., ... & El-Rifai, W. (2019). APE1 upregulates MMP-14 via redox-sensitive ARF6-mediated recycling to promote cell invasion of esophageal adenocarcinoma. *Cancer research*, 79(17), 4426-4438.
73. Li, Q., Wei, X., Zhou, Z. W., Wang, S. N., Jin, H., Chen, K. J., ... & Shan, J. L. (2018). GADD45 α sensitizes cervical cancer cells to radiotherapy via increasing cytoplasmic APE1 level. *Cell death & disease*, 9(5), 1-11.
74. Xie, J., Li, Y., Kong, J., & Li, C. (2019). Apurinic/apyrimidinic endonuclease 1/redox factor-1 could serve as a potential serological biomarker for the diagnosis and

- prognosis of oral squamous cell carcinoma. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 77(4), 859-866.
75. Cholia, R. P., Dhiman, M., Kumar, R., & Mantha, A. K. (2018). Oxidative stress stimulates invasive potential in rat C6 and human U-87 MG glioblastoma cells via activation and cross-talk between PKM2, ENPP2 and APE1 enzymes. *Metabolic Brain Disease*, 33(4), 1307-1326.
 76. Liu, Y., Zhang, Z., Zhang, L., & Zhong, Z. (2020). Cytoplasmic APE1 promotes resistance response in osteosarcoma patients with cisplatin treatment. *Cell biochemistry and function*, 38(2), 195-203.
 77. Kaur, A., Webster, M. R., Marchbank, K., Behera, R., Ndoye, A., Kugel, C. H., ... & Weeraratna, A. T. (2016). sFRP2 in the aged microenvironment drives melanoma metastasis and therapy resistance. *Nature*, 532(7598), 250-254.
 78. Shah, F., Logsdon, D., Messmann, R. A., Fehrenbacher, J. C., Fishel, M. L., & Kelley, M. R. (2017). Exploiting the Ref-1-APE1 node in cancer signaling and other diseases: from bench to clinic. *NPJ precision oncology*, 1(1), 1-19.
 79. Luo, M., Zhang, J., He, H., Su, D., Chen, Q., Gross, M. L., ... & Georgiadis, M. M. (2012). Characterization of the redox activity and disulfide bond formation in apurinic/aprimidinic endonuclease. *Biochemistry*, 51(2), 695-705.
 80. Logsdon, D. P., Grimard, M., Luo, M., Shahda, S., Jiang, Y., Tong, Y., ... & Fishel, M. L. (2016). Regulation of HIF1 α under hypoxia by APE1/Ref-1 impacts CA9 expression: dual targeting in patient-derived 3D pancreatic cancer models. *Molecular cancer therapeutics*, 15(11), 2722-2732.
 81. Fishel, M. L., Jiang, Y., Rajeshkumar, N. V., Scandura, G., Sinn, A. L., He, Y., ... & Kelley, M. R. (2011). Impact of APE1/Ref-1 redox inhibition on pancreatic tumor growth. *Molecular cancer therapeutics*, 10(9), 1698-1708.
 82. Cesaratto, L., Calligaris, S. D., Vascotto, C., Deganuto, M., Bellarosa, C., Quadrifoglio, F., ... & Tell, G. (2007). Bilirubin-induced cell toxicity involves PTEN activation through an APE1/Ref-1-dependent pathway. *Journal of molecular medicine*, 85(10), 1099-1112.
 83. Evans, A. R., Limp-Foster, M., & Kelley, M. R. (2000). Going APE over ref-1. *Mutation Research/DNA Repair*, 461(2), 83-108.
 84. Tell, G., Pines, A., Paron, I., D'Elia, A., Bisca, A., Kelley, M. R., ... & Damante, G. (2002). Redox effector factor-1 regulates the activity of thyroid transcription factor 1 by

- controlling the redox state of the N transcriptional activation domain. *Journal of Biological Chemistry*, 277(17), 14564-14574.
85. Laev, S. S., Salakhutdinov, N. F., & Lavrik, O. I. (2017). Inhibitors of nuclease and redox activity of apurinic/aprimidinic endonuclease 1/redox effector factor 1 (APE1/Ref-1). *Bioorganic & medicinal chemistry*, 25(9), 2531-2544.
86. Feng, Z., Kochanek, S., Close, D., Wang, L., Srinivasan, A., Almeshia, A. A., ... & Gold, B. (2015). Design and activity of AP endonuclease-1 inhibitors. *Journal of chemical biology*, 8(3), 79-93.
87. Rai, G., Vyjayanti, V. N., Dorjsuren, D., Simeonov, A., Jadhav, A., Wilson III, D. M., & Maloney, D. J. (2012). Synthesis, biological evaluation, and structure–activity relationships of a novel class of apurinic/aprimidinic endonuclease 1 inhibitors. *Journal of medicinal chemistry*, 55(7), 3101-3112.
88. Pasha, S. P. B. S., Sishtla, K., Sulaiman, R. S., Park, B., Shetty, T., Shah, F., ... & Corson, T. W. (2018). Ref-1/APE1 inhibition with novel small molecules blocks ocular neovascularization. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 367(1), 108-118.
89. Kelley, M. R., Wikel, J. H., Guo, C., Pollok, K. E., Bailey, B. J., Wireman, R., ... & Vasko, M. R. (2016). Identification and characterization of new chemical entities targeting apurinic/aprimidinic endonuclease 1 for the prevention of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 359(2), 300-309.
90. Shahda, S., Lakhani, N. J., O'Neil, B., Rasco, D. W., Wan, J., Mosley, A. L., ... & Messmann, R. A. (2019). A phase I study of the APE1 protein inhibitor APX3330 in patients with advanced solid tumors.
91. Jiang, A., Gao, H., Kelley, M. R., & Qiao, X. (2011). Inhibition of APE1/Ref-1 redox activity with APX3330 blocks retinal angiogenesis in vitro and in vivo. *Vision research*, 51(1), 93-100.
92. Bapat, A., Glass, L. S., Luo, M., Fishel, M. L., Long, E. C., Georgiadis, M. M., & Kelley, M. R. (2010). Novel small-molecule inhibitor of apurinic/aprimidinic endonuclease 1 blocks proliferation and reduces viability of glioblastoma cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 334(3), 988-998.
93. Poletto, M., Malfatti, M. C., Dorjsuren, D., Scognamiglio, P. L., Marasco, D., Vascotto, C., ... & Tell, G. (2016). Inhibitors of the apurinic/aprimidinic endonuclease 1

- (APE1)/nucleophosmin (NPM1) interaction that display anti-tumor properties. *Molecular carcinogenesis*, 55(5), 688-704.
94. Trilles, R., Beglov, D., Chen, Q., He, H., Wireman, R., Reed, A., ... & Georgiadis, M. M. (2019). Discovery of macrocyclic inhibitors of apurinic/apurimidinic endonuclease 1. *Journal of medicinal chemistry*, 62(4), 1971-1988.
95. Madala, H. R., Arutla, V., Punganuru, S., & Srivenugopal, K. (2018). Structure-based drug design to overcome temozolomide resistance in glioblastoma (GBM) through a dual inhibition of MGMT and base excision repair.
96. Seiple, L. A., Cardellina, J. H., Akee, R., & Stivers, J. T. (2008). Potent inhibition of human apurinic/apurimidinic endonuclease 1 by arylstibonic acids. *Molecular pharmacology*, 73(3), 669-677.
97. Zawahir, Z., Dayam, R., Deng, J., Pereira, C., & Neamati, N. (2009). Pharmacophore guided discovery of small-molecule human apurinic/apurimidinic endonuclease 1 inhibitors. *Journal of medicinal chemistry*, 52(1), 20-32.
98. Lee, I. W., Yoon, J., Lee, G., & Lee, M. (2017). Identification of new potential APE1 inhibitors by pharmacophore modeling and molecular docking. *Genomics & informatics*, 15(4), 147.
99. Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ΔΔCT method. *methods*, 25(4), 402-408.
100. SAS. (2012). *Statistical Analysis System, User's Guide*. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.
101. van't Veer, L. J., Paik, S., & Hayes, D. F. (2005). Gene expression profiling of breast cancer: a new tumor marker. *Journal of clinical oncology*, 23(8), 1631-1635.
102. Pedersen, L., Gunnarsdottir, K. A., Rasmussen, B. B., Moeller, S., & Lanng, C. (2004). The prognostic influence of multifocality in breast cancer patients. *The Breast*, 13(3), 188-193.
103. Gregory, J. M., Muldowney, J. A., Engelhardt, B. G., Tyree, R., Marks-Shulman, P., Silver, H. J., ... & Winnick, J. J. (2019). Aerobic exercise training improves hepatic and muscle insulin sensitivity, but reduces splanchnic glucose uptake in obese humans with type 2 diabetes. *Nutrition & diabetes*, 9(1), 1-12.
104. Zhao, C., Hu, W., Xu, Y., Wang, D., Wang, Y., Lv, W., ... & Wu, Y. (2021). Current Landscape: The Mechanism and Therapeutic Impact of Obesity for Breast Cancer. *Frontiers in Oncology*, 11.

105. Nelson, S. H., Brasky, T. M., Patterson, R. E., Laughlin, G. A., Kritz-Silverstein, D., Edwards, B. J., ... & LaCroix, A. Z. (2017). The Association of the C-Reactive Protein Inflammatory Biomarker with Breast Cancer Incidence and Mortality in the Women's Health Initiative Association of CRP with Breast Cancer and Mortality in the WHI. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 26(7), 1100-1106.
106. Arakaki, M., Tamaki, K., Kamada, Y., Uehara, K., & Gushikawa, H. (2017). Abstract P5-13-18: The feasibility of nurse intervention to improve and maintain the BMI of breast cancer survivors over 25 to appropriate levels. *Cancer Research*, 77(4_Supplement), P5-13.
107. Ahmed, N. S., Hadi, Y. A., Alfatlawi, W. R., & Nsaif, G. S. Relationship between Breast cancer and Vitamin A and Family history of Iraq women population.
108. Ahern, T. P., Sprague, B. L., Bissell, M. C., Miglioretti, D. L., Buist, D. S., Braithwaite, D., & Kerlikowske, K. (2017). Family history of breast cancer, breast density, and breast cancer risk in a US breast cancer screening population. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 26(6), 938-944.
109. Maas, P., Barrdahl, M., Joshi, A. D., Auer, P. L., Gaudet, M. M., Milne, R. L., ... & Chatterjee, N. (2016). Breast cancer risk from modifiable and nonmodifiable risk factors among white women in the United States. *JAMA oncology*, 2(10), 1295-1302.
110. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
111. Ballatori, N., Krance, S. M., Notenboom, S., Shi, S., Tieu, K., & Hammond, C. L. (2009). Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases.
112. Kumaraguruparan, R., Balachandran, C., Murali Manohar, B., & Nagini, S. (2005). Altered oxidant–antioxidant profile in canine mammary tumours. *Veterinary research communications*, 29(4), 287-296.
113. Rajneesh, C. P., Manimaran, A., Sasikala, K. R., & Adaikappan, P. (2008). Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with breast cancer. *Singapore medical journal*, 49(8), 640.
114. Tas, F., Hansel, H., Belce, A., Ilvan, S., Argon, A., Camlica, H., & Topuz, E. (2005). Oxidative stress in breast cancer. *Medical Oncology*, 22(1), 11-15.
115. Zarrini, A. S., Moslemi, D., Parsian, H., Vessal, M., Mosapour, A., & Kelagari, Z. S. (2016). The status of antioxidants, malondialdehyde and some trace elements in serum of patients with breast cancer. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 7(1), 31.

116. Gönenç, A., Tokgöz, D., Aslan, S., & Torun, M. (2005). Oxidative stress in relation to lipid profiles in different stages of breast cancer.
117. Gönenç, A., Erten, D., Aslan, S., Akıncı, M., Şimşek, B., & Torun, M. (2006). Lipid peroxidation and antioxidant status in blood and tissue of malignant breast tumor and benign breast disease. *Cell biology international*, 30(4), 376-380.
118. Yeh, C. C., Hou, M. F., Tsai, S. M., Lin, S. K., Hsiao, J. K., Huang, J. C., ... & Tsai, L. Y. (2005). Superoxide anion radical, lipid peroxides and antioxidant status in the blood of patients with breast cancer. *Clinica chimica acta*, 361(1-2), 104-111.
119. Erdamar, H., Çimen, B., Gülcemal, H., Saraymen, R., Yerer, B., & Demirci, H. (2010). Increased lipid peroxidation and impaired enzymatic antioxidant defense mechanism in thyroid tissue with multinodular goiter and papillary carcinoma. *Clinical biochemistry*, 43(7-8), 650-654.
120. Nsaif, G. S., Abdallah, A. H., Ahmed, N. S., & Alfatlawi, W. R. (2018). Evaluation of Estradiol and Some Antioxidant in Breast Cancer Iraqi Women. *Al-Nahrain Journal of Science*, 21(1), 35-40.
121. Ho, C. C. K., Rohaizak, M., Zulkifli, S. Z., Siti-Aishah, M. A., Nor-Aini, U., & Sharifah-Noor-Akmal, S. H. (2009). Serum sex hormone levels in pre-and postmenopausal breast cancer patients. *Singapore medical journal*, 50(5), 513.
122. Mady, E. A., Ramadan, E. E. D. H., & Ossman, A. A. (2000). Sex steroid hormones in serum and tissue of benign and malignant breast tumor patients. *Disease markers*, 16(3-4), 151-157.
123. Dorgan, J. F., Stanczyk, F. Z., Kahle, L. L., & Brinton, L. A. (2010). Prospective case-control study of premenopausal serum estradiol and testosterone levels and breast cancer risk. *Breast Cancer Research*, 12(6), 1-8.
124. Thomas, H. V., Key, T. J., Allen, D. S., Moore, J. W., Dowsett, M., Fentiman, I. S., & Wang, D. Y. (1997). A prospective study of endogenous serum hormone concentrations and breast cancer risk in post-menopausal women on the island of Guernsey. *British journal of cancer*, 76(3), 401-405.
125. Mohammad, I., Starskaia, I., Nagy, T., Guo, J., Yarkin, E., Väänänen, K., ... & Chen, Z. (2018). Estrogen receptor α contributes to T cell-mediated autoimmune inflammation by promoting T cell activation and proliferation. *Science signaling*, 11(526), eaap9415.

126. Fortner, R. T., Eliassen, A. H., Spiegelman, D., Willett, W. C., Barbieri, R. L., & Hankinson, S. E. (2013). Premenopausal endogenous steroid hormones and breast cancer risk: results from the Nurses' Health Study II. *Breast Cancer Research*, 15(2), 1-11.
127. Travis, R. C., & Key, T. J. (2003). Oestrogen exposure and breast cancer risk. *Breast Cancer Research*, 5(5), 1-9.
128. Pande, D., Negi, R., Karki, K., Khanna, S., Khanna, R. S., & Khanna, H. D. (2012). Oxidative damage markers as possible discriminatory biomarkers in breast carcinoma. *Translational Research*, 160(6), 411-418.
129. Nath, A., Kumar, A., Priyanka, J. K., & Sinha, R. (2014). Elevated lipid peroxidants in breast cancer patients. *IOSR J Pharm Biol Sci*, 9(4), 17-21.
130. Saintot, M., Astre, C., Pujol, H., & Gerber, M. (1996). Tumor progression and oxidant-antioxidant status.
131. S. Ahmed Khan Assistant Professor, (2015) "Antioxidants and Lipid Peroxidation Status In Women with Breast Cancer" vol. 14, no. 1, pp. 71–75.
132. Ray, G., Batra, S., Shukla, N. K., Deo, S., Raina, V., Ashok, S., & Husain, S. A. (2000). Lipid peroxidation, free radical production and antioxidant status in breast cancer. *Breast cancer research and treatment*, 59(2), 163-170.
133. Gönenç, A., Özkan, Y., Torun, M., & Şimşek, B. (2001). Plasma malondialdehyde (MDA) levels in breast and lung cancer patients. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 26(2), 141-144.
134. Barrera, G. (2012). Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. *International Scholarly Research Notices*, 2012.
135. Chio, I. I. C., & Tuveson, D. A. (2017). ROS in cancer: the burning question. *Trends in molecular medicine*, 23(5), 411-429.
136. Sabharwal, S. S., & Schumacker, P. T. (2014). Mitochondrial ROS in cancer: initiators, amplifiers or an Achilles' heel?. *Nature Reviews Cancer*, 14(11), 709-721.
137. Liou, G. Y., & Storz, P. (2015). Detecting reactive oxygen species by immunohistochemistry. In *Stress Responses* (pp. 97-104). Humana Press, New York, NY.
138. Wood, R. D., Mitchell, M., Sgouros, J., & Lindahl, T. (2001). Human DNA repair genes. *Science*, 291(5507), 1284-1289.
139. Izumi, T., Hazra, T. K., Boldogh, I., Tomkinson, A. E., Park, M. S., Ikeda, S., & Mitra, S. (2000). Requirement for human AP endonuclease 1 for repair of 3'-blocking damage at DNA single-strand breaks induced by reactive oxygen species. *Carcinogenesis*, 21(7), 1329-1334.

140. Kelley, M. R. (Ed.). (2011). DNA repair in cancer therapy: molecular targets and clinical applications. Academic Press.
141. AlMutairi, F., Ali Khan Pathan, A., Alanazi, M., Shalaby, M., Alabdulkarim, H. A., Alamri, A., ... & Reddy Parine, N. (2015). Association of DNA repair gene APE1 Asp148Glu polymorphism with breast cancer risk. *Disease Markers*, 2015.
142. Zhao, Z., Liu, C., Zeng, Y., Gu, L., Ying, M., Wang, N., ... & Ma, Y. (2014). The association between the APE1 Asp148Glu polymorphism and breast cancer susceptibility: a meta-analysis based on case-control studies. *Tumor Biology*, 35(5), 4727-4734.
143. Bhakat, K. K., Mantha, A. K., & Mitra, S. (2009). Transcriptional regulatory functions of mammalian AP-endonuclease (APE1/Ref-1), an essential multifunctional protein. *Antioxidants & redox signaling*, 11(3), 621-637.
144. Tell, G., Pellizzari, L., Cimarosti, D., Pucillo, C., & Damante, G. (1998). Ref-1 controls pax-8 DNA-binding activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 252(1), 178-183.
145. Xanthoudakis, S., Miao, G., Wang, F., Pan, Y. C., & Curran, T. (1992). Redox activation of Fos-Jun DNA binding activity is mediated by a DNA repair enzyme. *The EMBO journal*, 11(9), 3323-3335.
146. Shaikh, A. Y., & Martin, L. J. (2002). DNA base-excision repair enzyme apurinic/apyrimidinic endonuclease/redox factor-1 is increased and competent in the brain and spinal cord of individuals with amyotrophic lateral sclerosis. *Neuromolecular medicine*, 2(1), 47-60.
147. Song, S. H., Cho, E. J., Park, M. S., Lee, Y. R., Joo, H. K., Kang, G., ... & Jeon, B. H. (2012). Redox regulating protein APE1/Ref-1 expression is increased in abdominal aortic coarctation-induced hypertension rats. *Journal of the Korean Society of Hypertension*, 18(3), 126-135.
148. Al-Attar, A., Gossage, L., Fareed, K. R., Shehata, M., Mohammed, M., Zaitoun, A. M., ... & Madhusudan, S. (2010). Human apurinic/apyrimidinic endonuclease (APE1) is a prognostic factor in ovarian, gastro-oesophageal and pancreatobiliary cancers. *British journal of cancer*, 102(4), 704-709.
149. Di Maso, V., Avellini, C., Crocè, L. S., Rosso, N., Quadrifoglio, F., Cesaratto, L., ... & Tiribelli, C. (2007). Subcellular localization of APE1/Ref-1 in human hepatocellular carcinoma: possible prognostic significance. *Molecular medicine*, 13(1), 89-96.

150. Tell, G., Quadrioglio, F., Tiribelli, C., & Kelley, M. R. (2009). The many functions of APE1/Ref-1: not only a DNA repair enzyme. *Antioxidants & redox signaling*, 11(3), 601-619.





مختبر الطعنة للتحليلات المرضية والهرمونات

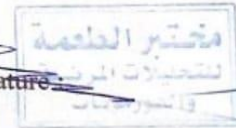
CLINICAL ALTOAAMA LABORATORY

الطعنة - شارع الطعنة التجاري - مجاور الدكتورة سوسن البياتي

بناء على الطلب المقدم من قبل طالب الدراسات العليا الماجستير
الطبيب جاسم محمد في جامعة اهي افران كير شهير تركيا بان عمل
بحثه في مختبرنا و قمنا بتزويده بالعينات و الاجهزة لاستكمال بحثه
الموسوم
influence of oxidative biomarkers on APE1
gene expression in Iraqi breast cancer woman
في سنة 2021\3\1 الى 2021\7\20

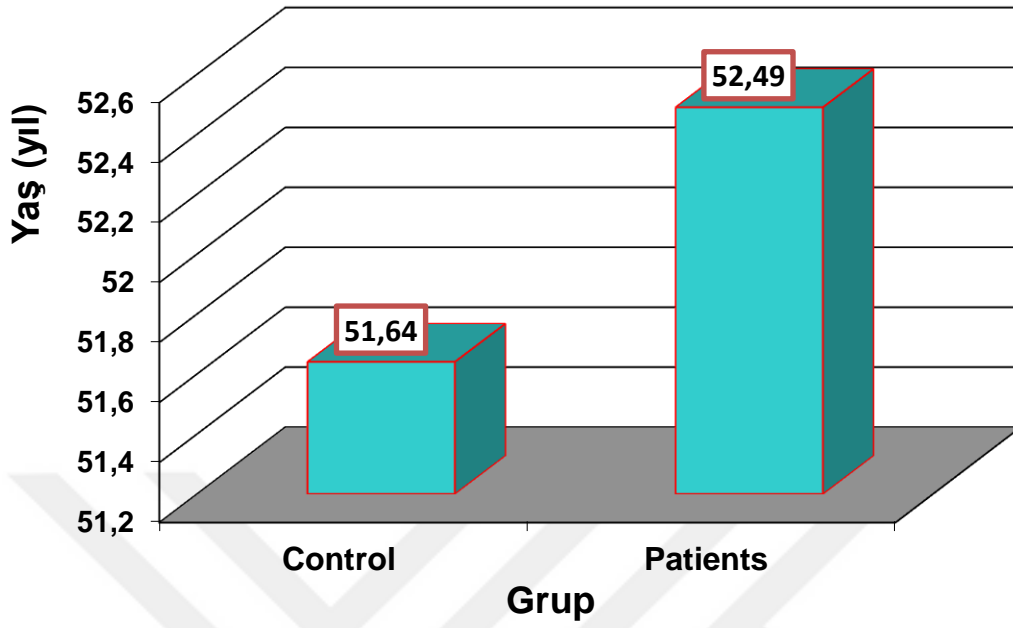
Result Date : 18/ 5/2022

Signature

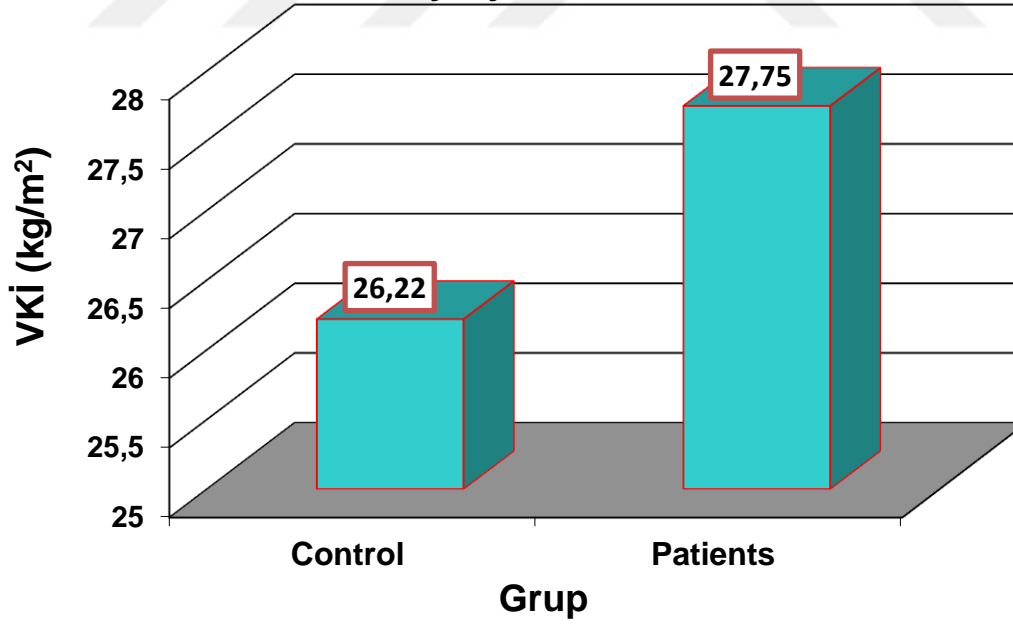


EKLER

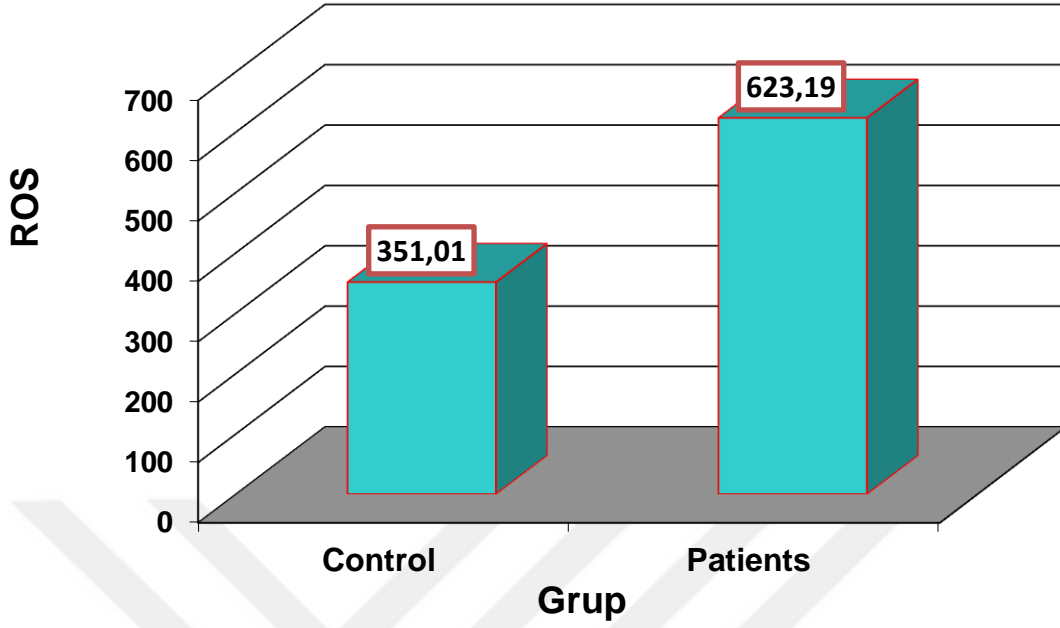
EKLER 1. Yaşta kontrol ve hasta grupları arasında karşılaştırma.



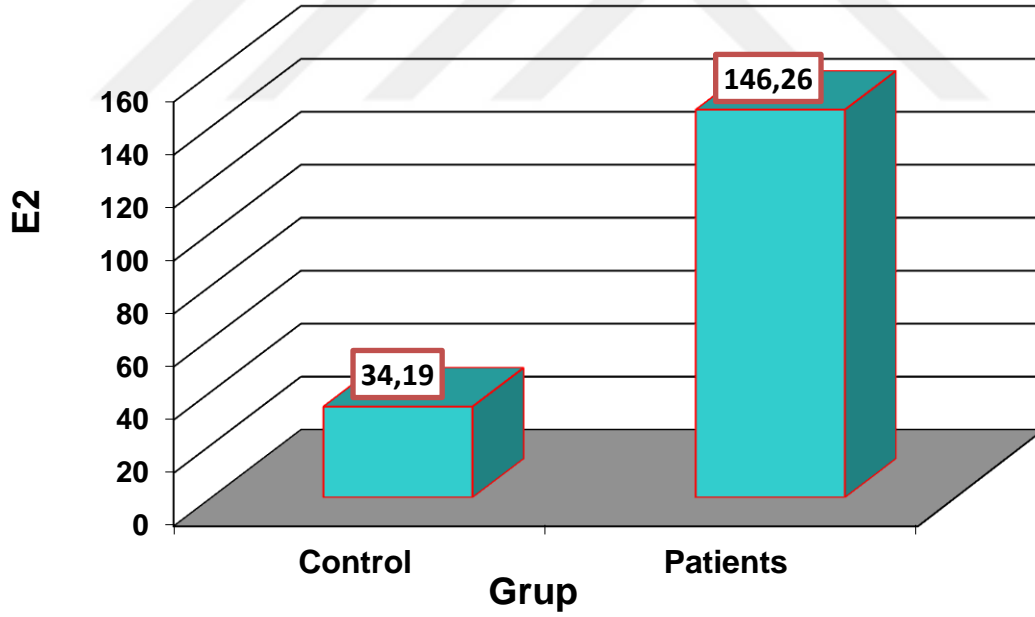
EKLER 2. VKİ'de kontrol ve hasta gruplarının karşılaştırılması.



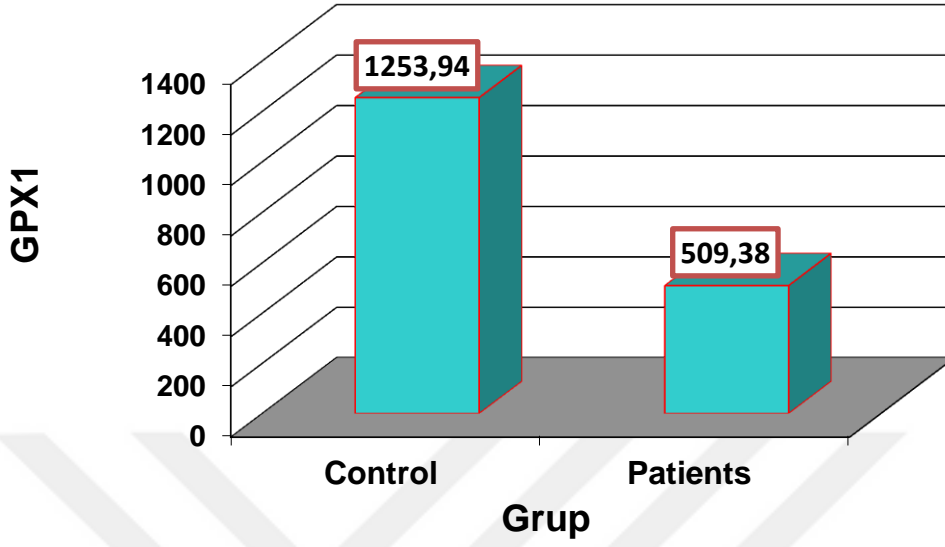
EKLER 3. ROS'ta kontrol ve hasta grupları arasında karşılaştırma.



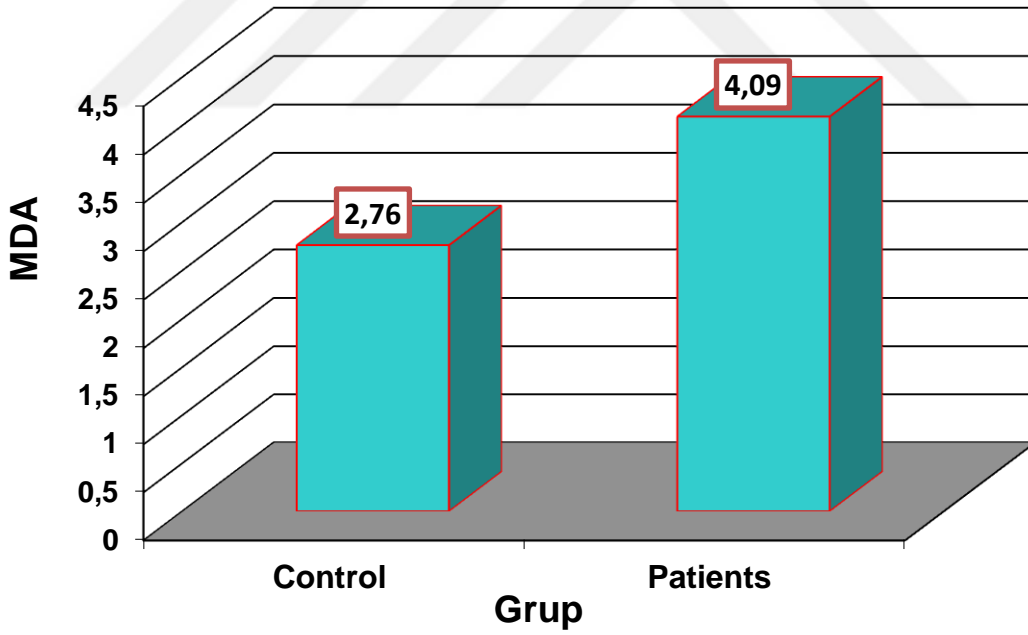
EKLER 4. E2'de kontrol ve hasta grupları arasında karşılaştırma.



EKLER 5. GPX'te kontrol ve hasta grupları arasında karşılaştırma.



EKLER 6. MDA'da kontrol ve hasta grupları arasında karşılaştırma.



ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Altayeb Jasim MOHAMMED
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	<input type="checkbox"/> T.C. <input checked="" type="checkbox"/> Diğer:

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	El Farabi Üniversitesi
Fakülte	Bilim Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	2019

Yüksek Lisans	
Üniversite	KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
Enstitü Adı	FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Anabilim Dalı	İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI
Programı	Irak meme kanseri kadınlarında oksidatif biyobelirteçlerin APE1 gen ekspresyonu üzerindeki etkisi
Mezuniyet Tarihi	2022

Doktora	
Üniversite	
Enstitü Adı	
Anabilim Dalı	
Programı	Program Adı
Mezuniyet Tarihi	

Makale ve Bildiriler	