

T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MEME KANSERİ VE MEME NORMAL HÜCRE
HATLARINDA, KADMİYUM VE ÇİNKO'NUN
ETKİSİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE
İNCELENMESİ**

Özlem ÖZLÜER

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI**

**KIRŞEHİR
TEMMUZ 2018**



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

**MEME KANSERİ VE MEME NORMAL HÜCRE
HATLARINDA, KADMIYUM VE ÇİNKONUN
ETKİSİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE
İNCELENMESİ**

Özlem ÖZLÜER

DANIŞMAN:

Doç. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI**

**KIRŞEHİR
TEMMUZ 2018**

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından İleri Teknolojiler Anabilim Dalında YÜKSEK
LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof.Dr. Aydın S. Tunçbilek



Üye

Doç.Dr. Serap Yalçın Azarkan



Üye

Doç.Dr. Fahriye Ercan



Onay Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu
onaylarım.

03/08/2018

Prof. Dr. Yılmaz ALTUN

Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

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

Bu çalışma Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri MMF.A2.16.001 kapsamında desteklenmiştir.

Özlem ÖZLÜER

ÖZET

MEME KANSERİ VE MEME NORMAL HÜCRE HATLARINDA, KADMIYUM VE ÇINKONUN ETKİSİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Özlem ÖZLÜER

Ahi Evran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
İleri Teknolojiler Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN

Kanser vücudun herhangi bir bölgesinde hücrelerin kontrolsüz büyümesi anlamına gelmektedir. Günümüzde kanser risk faktörleri hızla artmaktadır ve kansere yakalanma riski de gün geçtikçe artmaktadır. Kadınlarda en sık görülen kanser tipi meme kanseridir. Ağır metallere biri olan çinko doğal kaynaklarda ve temel besin kaynaklarında yüksek miktarda bulunur. Çinko antionkogenik ve apoptotik bir gen olan P53'ün okside olarak inaktive olmasını engellemektedir. Ayrıca gen ekspresyonuna ve genetik aktivitenin düzenlenmesine katkıda bulunan çeşitli proteinlerin fonksiyonel bir bileşenini oluşturmaktadır. Kadmiyum toksisitesi yüksek bir elementtir. Çevrede konsantrasyonu 0,1 ila 1ppm arasında değişen kadmiyum , birincil olarak çinko ile birlikte bulunmaktadır. Kadmiyum genotoksikite mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen yapılan araştırmalarda %50-60 kromozom hasarına neden olduğu belirtilmiştir.

Bu tez çalışmasında ağır metallerin maruziyetinin kanserli ve normal meme dokusunda apoptoz, ilaç dirençliliği, sitokrom p450 genleri ve ağır metal stres genleri üzerindeki etkisinin araştırılarak temel mekanizmanın aydınlatılması amaçlanmıştır. Tez çalışması kapsamında meme kanseri ve normal hücre hatları üzerine karşılaştırmalı olarak ağır metallerin yarattığı etki ile gen ekspresyon düzeyinde çalışılmıştır. Elde edilen veriler, Kadmiyum ve Çinko'nun meme kanseri karsinogenezin de hücresel ve moleküler etkilerini ortaya koymakta ve meme kanserine etkisini araştırmanın önemini vurgulamaktadır.

Ağustos 2018, xii + 53 sayfa

Anahtar Kelime:Kadmiyum, Çinko, Meme Kanseri

ABSTRACT

BREAST CANCER AND BREAST NORMAL CELL LINES, CADMIUM AND ZINC EFFECT OF HEAVY METAL AND TRAINING ELEMENTS

**Master Thesis
Özlem ÖZLÜER**

**Ahi Evran University
Institute of Sciences
Advanced Technology**

Supervisor: Assoc. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN

Cancer means uncontrolled growth of cells in any region of the body. Today, cancer risk factors are increasing rapidly. The risk of getting cancer is increasing day by day. The most common type of cancer in women is breast cancer. Zinc, one of the heavy metals, is found in natural sources and in high amounts in basic food sources. Zinc prevents the antioxidant and apoptotic gene P53 from being inactivated as an oxime. It also constitutes a functional component of various proteins that contribute to gene expression and regulation of genetic activity. Cadmium toxicity is a high element. In the environment, cadmium with a concentration ranging from 0.1 to 1 ppm is primarily present with zinc. Although the mechanism of cadmium genotoxicity is not fully known, it has been reported that 50-60% chromosomal damage is caused by the investigations.

In this thesis study, it was aimed to investigate the basic mechanism of exposure of heavy metals to apoptosis, drug resistance, cytochrome p450 genes, heavy metal stress genes in

cancer and normal breast tissue. Within the scope of the thesis study, the effect of heavy metals on breast cancer and normal cell lines was studied at gene expression level. The obtained data demonstrate the cellular and molecular effects of Cadmium and Zinc on breast cancer carcinogenesis and emphasize the importance of investigating its effect on breast cancer.

Agust 2018, xii + 53 page.

Key Words: Cadmium, Zinc, Breast Cancer



TEŞEKKÜR

Doktora tez çalıőmamızın planlanması, yürütülmesi ve sonuçların değerlendirilmesinin her aőamasında bilgi, birikim ve deneyimlerini paylaőan ve her türlü yardımı ve desteği esirgemeyen sayın danışman hocam Doç. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN' a teőekkürlerimi sunarım.

Benim bu günlere gelmemde büyük emekleri olan maddi ve manevi her zaman yanımda olan aileme ve sevgili eőim Can ÖZLÜER' e sonsuz sevgilerimi sunarım.

Saygılarımla.

Ağustos,2018.

Özlem ÖZLÜER

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | | |
|---------------|---|--|
| MCF-7 | : | <i>Michigan Cancer Foundation-7,</i> |
| MCF10A | : | İnsan Normal Meme Epitel Hücreleri |
| HER | : | Pozitif Meme Kanseri |
| ER | : | Östrojen Reseptörü |
| BCRP | : | Meme Kanseri Direnç Proteini |
| UICC | : | Uluslararası Kanser Savaş Örgütü |
| AJCC | : | Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı |
| SLNB | : | Sentinel Lenf Nodu Biyopsisi |
| HRT | : | Hormon Terapisi |
| ERD | : | Östrojen Reseptör Restriktörleri |
| SERM | : | Selektif Östrojen Reseptör Modülatörleri |
| MDR | : | Çoklu İlaç Direnci |
| P-gp | : | Permeabilite- <i>glikoprotein</i> |
| MT | : | Metallotioneinler |
| Zn | : | Çinko |
| Cu | : | Bakır |
| Cd | : | Kadmiyum |
| Hg | : | Civa |
| Ag | : | Altın |
| Sn | : | Kalay |
| Pb | : | Kurşun |
| FAO | : | Gıda ve Tarım Örgütü |
| WHO | : | Dünya Sağlık Örgütü |

ŞEKİLLER

| | |
|---|----|
| Şekil 1: Metastazda kanser hücreleri buldukları yerden koparak kan veya lenf sistemine geçişi..... | 1 |
| Şekil 2: Sarkoma..... | 3 |
| Şekil 3: Erkeklerde görülen 10 kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızları..... | 4 |
| Şekil 4: Kadınlarda görülen 10 kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızları..... | 5 |
| Şekil 5: Meme anatomisi..... | 6 |
| Şekil 6: Meme damar ve lenf ağı..... | 7 |
| Şekil 7: Kromozomlarda BRCA1 ve 2'nin lokasyonu..... | 9 |
| Şekil 8: Östrojen'in kimyasal yapısı..... | 11 |
| Şekil 9: Kemoterapi..... | 13 |
| Şekil 10: İlaç dirençliliği..... | 14 |
| Şekil 11: Apoptoz..... | 16 |
| Şekil 12: Zinc finger proteini 3D yapısı..... | 18 |
| Şekil 13: Karaciğer ve böbreklerde kadmiyumun metallothioneinlerle geçişi..... | 22 |
| Şekil 14: Yaşa bağlı olarak kadmiyum birikmesi..... | 23 |
| Şekil 15: PCR array çalışma metodu..... | 31 |
| Şekil 16: MCF-7 hücreleri üzerinde Zn'nin sitotoksik etkisi..... | 32 |
| Şekil 17: MCF-7 hücreleri üzerinde Cd'un sitotoksik etkisi..... | 32 |
| Şekil 18: Kadmiyum uygulanmış ve uygulanmamış MCF-7 hücreleri..... | 33 |
| Şekil 19: Kadmiyum' un MCF-7 hücreleri üzerinde IC50 değerini belirlemek yapılan XTT analizi..... | 33 |
| Şekil 20: Hücrelerden elde edilen total RNA..... | 35 |
| Şekil 21: MCF10A ve Cd uygulanmış MCF-7 hücre hatları arasında, söz konusu genlerin ifade düzeylerindeki kat değişimi oranları..... | 36 |
| Şekil 22: MCF10A ve Zn uygulanmış MCF-7 hücre hatları arasında, söz konusu genlerin ifade düzeylerindeki kat değişimi oranları..... | 37 |
| Şekil 23: MCF10A ve Zn uygulanmış MCF-7 hücre hatları arasında, TOP 1 geninin ifade düzeylerindeki kat değişimi oranları..... | 37 |

| | |
|---|----|
| Şekil 24: MCF7 ve Cd uygulanmış MCF-7 hücre hatları arasında, söz konusu genlerin ifade düzeyindeki kat değişimi oranları..... | 38 |
| Şekil 25: MCF7 ve Zn uygulanmış MCF-7 hücre hatları arasında, söz konusu genlerin ifade düzeyindeki kat değişimi oranları..... | 38 |



TABLÖLAR

| | |
|---|----|
| Tablo 1: PCR array’de yer alan genler ve grupları..... | 31 |
| Tablo 2: Nanodrop ölçümleri sonucu hücrelerden elde edilen RNA konsantrasyonları..... | 35 |
| Tablo 3: Cd ve Zn uygulanmış ve uygulanmamış hücre hatlarında genler arası anlamlılık düzeyi | 39 |



İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-------------|
| ÖZET | i |
| ABSTARCT | iii |
| TEŞEKKÜR | v |
| SİMGELER KISALTMALAR | vi |
| ŞEKİLLER | vii |
| TABLolar | viii |
| İÇİNDEKİLER | x |
| 1.GİRİŞ | 1 |
| 1.1.Kanser..... | 1 |
| 1.2. Meme Anatomisi ve Fizyolojisi..... | 5 |
| 1.3.Meme Kanseri ve Kanser risk faktörleri: | 7 |
| 1.4.Meme kanserinde evreleme: | 9 |
| 1.5.Meme kanseri tedavi yöntemleri..... | 10 |
| 1.5.1.Cerrahi yöntemler: | 10 |
| 1.5.2.Radyoterapi | 10 |
| 1.5.3.Hormon terapisi (HRT)..... | 11 |
| 1.5.3.1.Aromataz inhibitörleri: | 11 |
| 1.5.3.2.Selektif östrojen reseptör modülatörleri (SERM): | 11 |
| 1.5.3.3.Östrojen reseptör restriktörleri (ERD):..... | 11 |
| 1.5.3.4.Ovaryum fonksiyonunun durdurulması:..... | 12 |
| 1.5.4.Kemoterapi..... | 12 |
| 1.6.İlaç Dirençliliği | 13 |
| 1.7.Meme kanseri direnç proteini (BCRP)..... | 15 |
| 1.8.Apoptoz (programlanmış hücre ölümü) | 15 |
| 1.9.Bcl-2 (B-cell lymphoma gene-2): | 16 |

| | |
|---|-----------|
| 1.10. Ağır metaller | 17 |
| 1.10.1.Çinko | 17 |
| 1.10.1.1.Zinc finger protein: | 17 |
| 1.10.2.KADMİYUM (Cd) | 19 |
| 1.10.2.1.Zehirlenme nedenleri: | 20 |
| 1.10.2.2. Absorbsiyon: | 21 |
| 1.10.2.3. Dağılım ve metabolizma: | 21 |
| 1.10.2.4.Toksisite ve etki şekli: | 24 |
| 1.11.Metallotioneinler | 26 |
| 1.11.1 Metallotiyoneinlerin Sınıflandırılması | 26 |
| 2.AMAÇ | 27 |
| 3.MATERYAL | 28 |
| 3.1.Deneylerde Kullanılan Malzemeler | 28 |
| 3.1.1.Hücre Hatları: | 28 |
| 3.1.2.Hücrelerin büyütülmesi için gerekli malzemeler: | 28 |
| 3.1.3.Ağır metal ve İz elementler: | 28 |
| 3.1.4.Kitler: | 28 |
| 4.YÖNTEM | 29 |
| 4.1.Hücre Hatlarının Seçimi Ve Hücre Kültürü Uygulamaları | 29 |
| 4.2.Metallerin <i>in vitro</i> Ortamda Toksisite Analizleri | 29 |
| 4.3.Toplam RNA İzolasyonu | 29 |
| 4.4.cDNA Sentezi | 30 |
| 4.5.Genlerin Ekspresyon Analizleri | 30 |
| 5.BULGULAR | 32 |

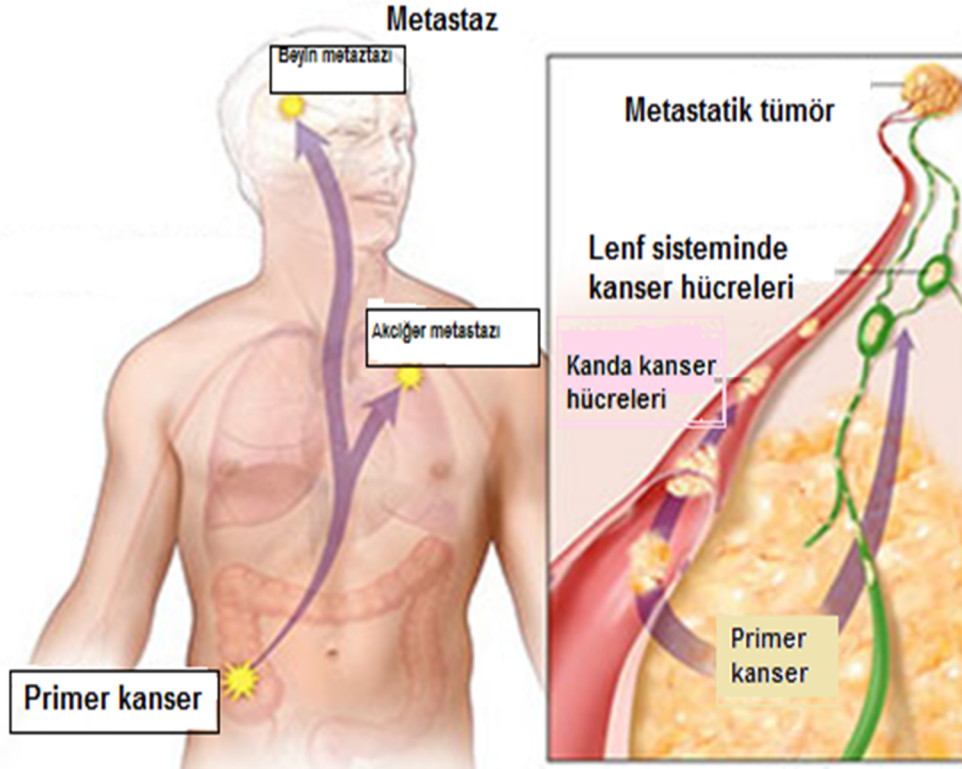
| | |
|--|-----------|
| 5.1. Ağır metal uygulanmış ve uygulanmamış hücrelerden RNA izolasyonu, cDNA sentezi, PCR array'lerde analizi ve istatistiksel değerlendirme..... | 34 |
| 5.2.Hesaplamalar ve İstatistiksel Analiz..... | 36 |
| 6.TARTIŞMA..... | 41 |
| 7. SONUÇ..... | 43 |
| KAYNAKLAR..... | 46 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 50 |



1. GİRİŞ

1.1. Kanser

Kanser terimi Yunan fizikçi Hipokrat (MÖ 460-370) tarafından ortaya konulmuş olup vücudun herhangi bir yerinde normal hücrelerin kontrolsüz olarak büyümesinin ifade eden bir terimdir. Kontrolsüz hücre büyümesi sonucu çeşitli durumlar ortaya çıkabilir. Kanseri hücreleri komşu hücreleri istila edebilir, bulunduğu bölgedeki diğer hücreleri baskılayabilir ya da kan dolaşımı veya lenf dolaşımına geçebilirler/katılabilirler. Bu sayede vücudun uzak bölgelerine erişebilir ki bu duruma metastaz denilmektedir (Şekil 1) [1].

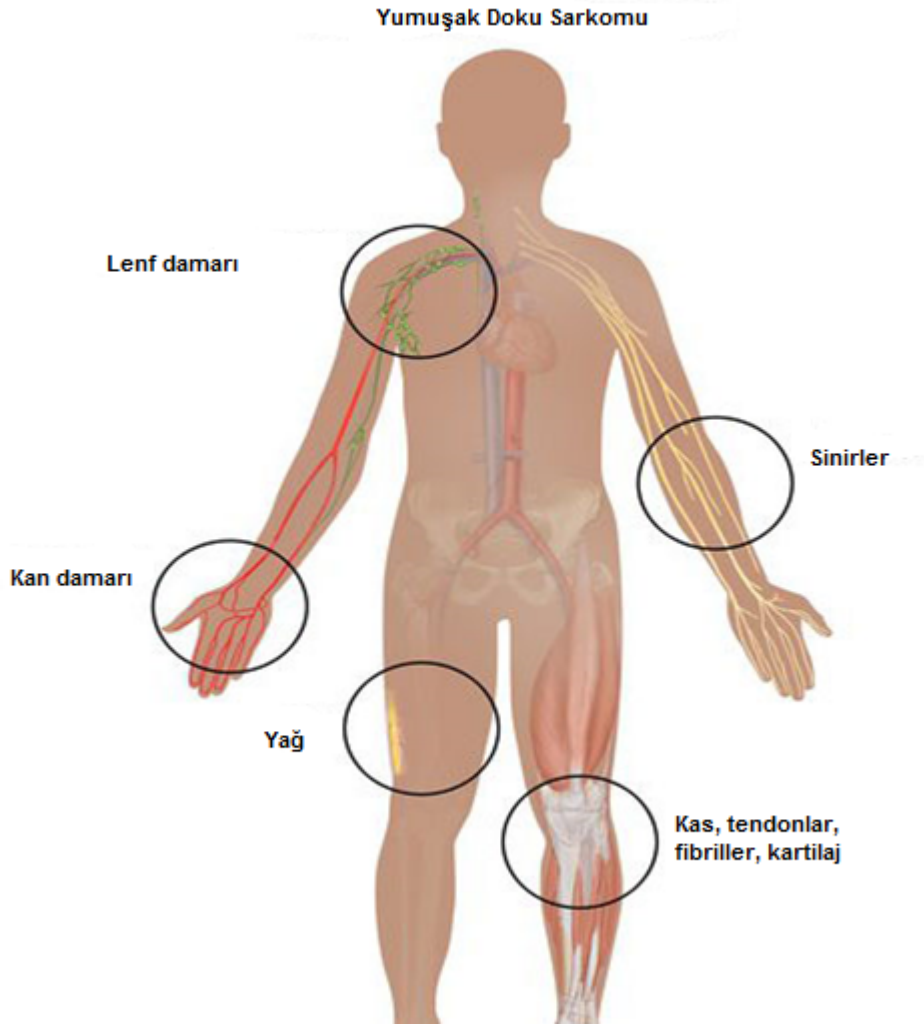


Şekil 1: Metastazda kanser hücreleri buldukları yerden koparak kan veya lenf sistemine geçişi [1].

Metastazda kanser hücreleri buldukları yerden koparak kan veya lenf sistemine geçerek diğer bölgelerde kanser oluşumuna neden olmaktadır [1].

Kanser çeşitleri orijinine göre gruplandırılmaktadır.

- Karsinomlar epitel hücrelerinden köken almaktadırlar ve kanser çeşitlerinin büyük çoğunluğunu oluştururlar. Karsinomlar buldukları epitel hücrelere göre adenokarsinomlar, bazal hücre karsinomları, skuamöz hücre karsinomları, transitional hücre karsinoması gibi özel isimler alabilirler [1].
- Adenokarsinomlar: Organ ve bezlerin iç yüzeyini zararlı etkilerden korumak amacıyla mukus adı verilen özel bir madde salgılanmaktadır. Mukus üretimi sırasında oluşan genetik, çevresel v.s. sonucunda oluşan bozukluklar mukusun salgı bezinin dışına çıkmasını engeller. Dışarı çıkamayan salgı, bezlerde tümör oluşmasına neden olur. Akciğer kanseri, prostat kanseri, yemek borusu, kalın bağırsak kanseri, pankreas kanseri bunlara örnektir.
- Bazal hücre karsinomları: Epidermisin en derin tabakası olan bazal hücrelerde oluşan anormal kontrolsüz büyüme veya lezyonlardır.
- Transitional hücre karsinoması: Genellikle mesanenin içindeki hücrelerde görülür. Geçiş hücreleri, mesane dolu olduğunda genişler ve mesane boşaldığında azalır. Transitional hücre karsinoması Amerika birleşik devletlerinde en yaygın görülen kanser türüdür.
- Sarkoma: Kemik, kıkırdak, bağ dokusu gibi kemik ve yumuşak doku kaynaklı kanserlerin genel adıdır (Şekil 2). Osteosarkom en yaygın görülen kemik kanseridir.

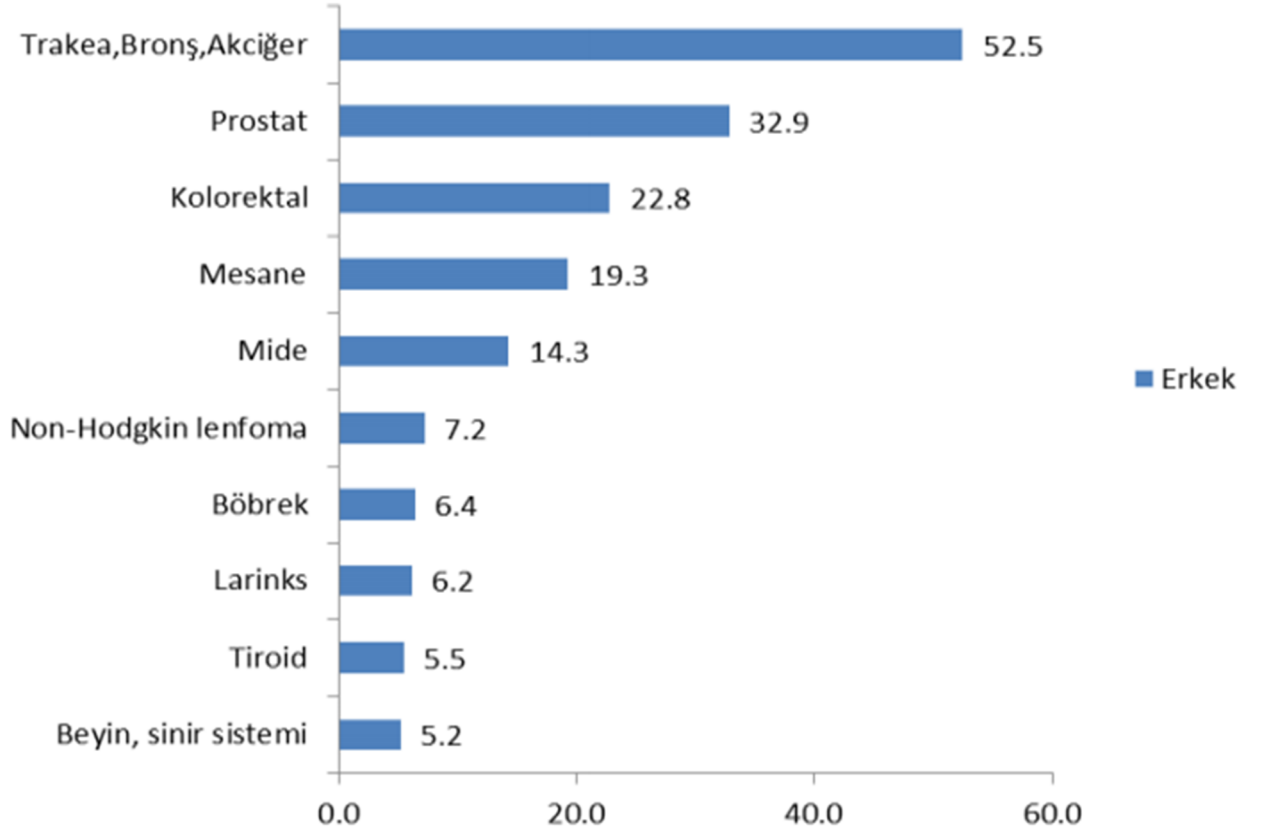


Şekil 2 : Sarkoma [1] .

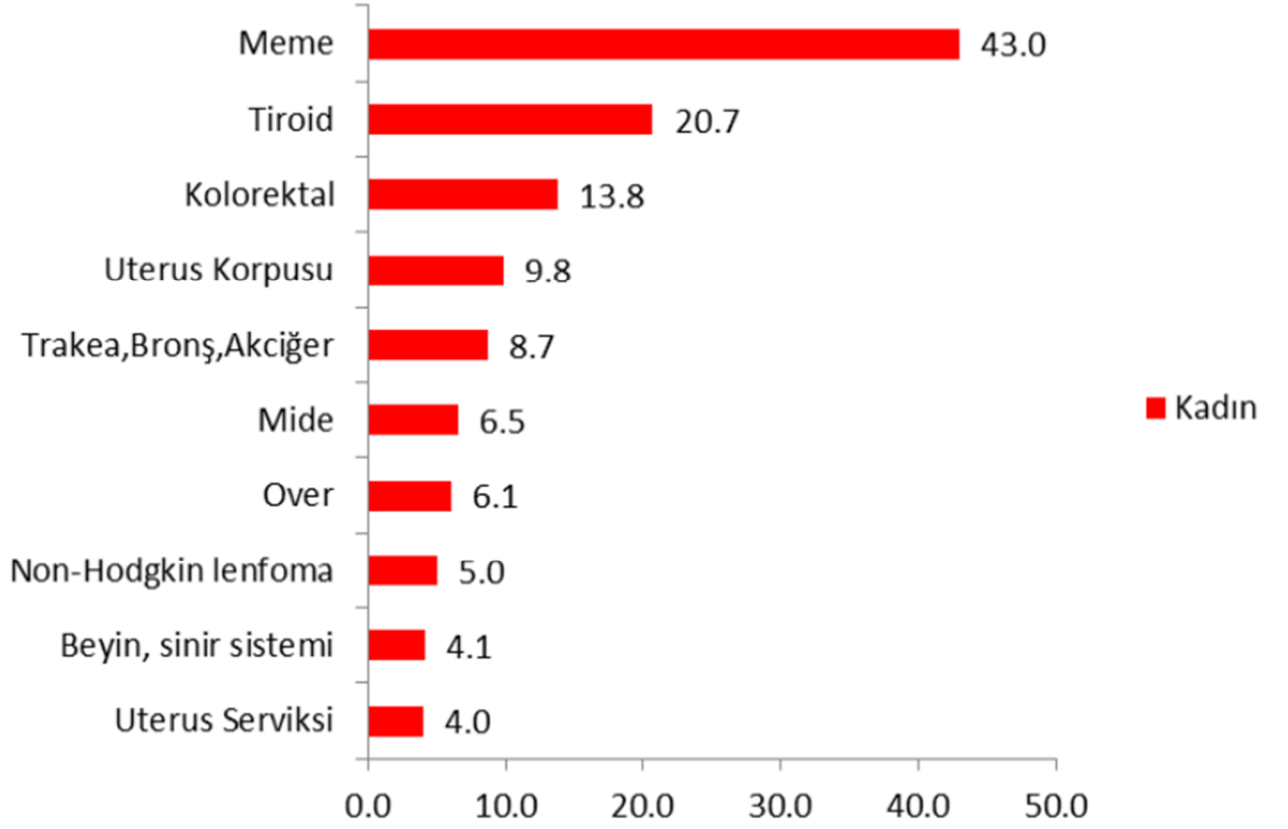
Lenfoma ve lösemi: Kan ve lenf sistemi kaynaklı kanserlerdir [2]. Bu kanserler diğer kanser türleri gibi katı tümörler oluşturmazlar. Kan dolaşımında çok sayıda akyuvar hücresinin birikmesi sonucunda alyuvar hücreleri sayısı azalır ve lösemiye neden olurlar. Lenfoma ise lenfositlerde meydana gelen kanserlerdir [1].

Uluslararası kanser araştırmaları ajansı, farklı kanser türlerinin insidans, prevalans ve mortalite tahminleri için 184 ülkenin katılımıyla yürütülen çalışmalarda dünya genelinde ölüm nedenlerinin ilk sırasında 8.2 milyon vakayla kanserin yer aldığı göstermişlerdir. Kansere bağlı ölümlerin başlıca nedenleri cinsiyetten bağımsız olmasına rağmen kadınlarda en sık görülen kanser tipi meme kanseridir [2].

Ülkemizde sebebi bilinen ölümlerde kanser ikinci sırada yer almaktadır. Kanser Daire Başkanlığının 2014 verilerine göre, Türkiye’de kadın ve erkeklerde görülen kanser türleri ve yüzdeleri aşağıdaki grafikte verilmiştir (Şekil 3, Şekil 4) [65].



Şekil 3 : Erkeklerde görülen 10 kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızları (Türkiye birleşik veri tabanı,2014) (Dünya standart nüfusu, 100.000 kişide)



Şekil 4: Kadınlarda görülen 10 kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızları (Türkiye birleşik veri tabanı ,2014) (Dünya standart nüfusu, 100.000 kişide)

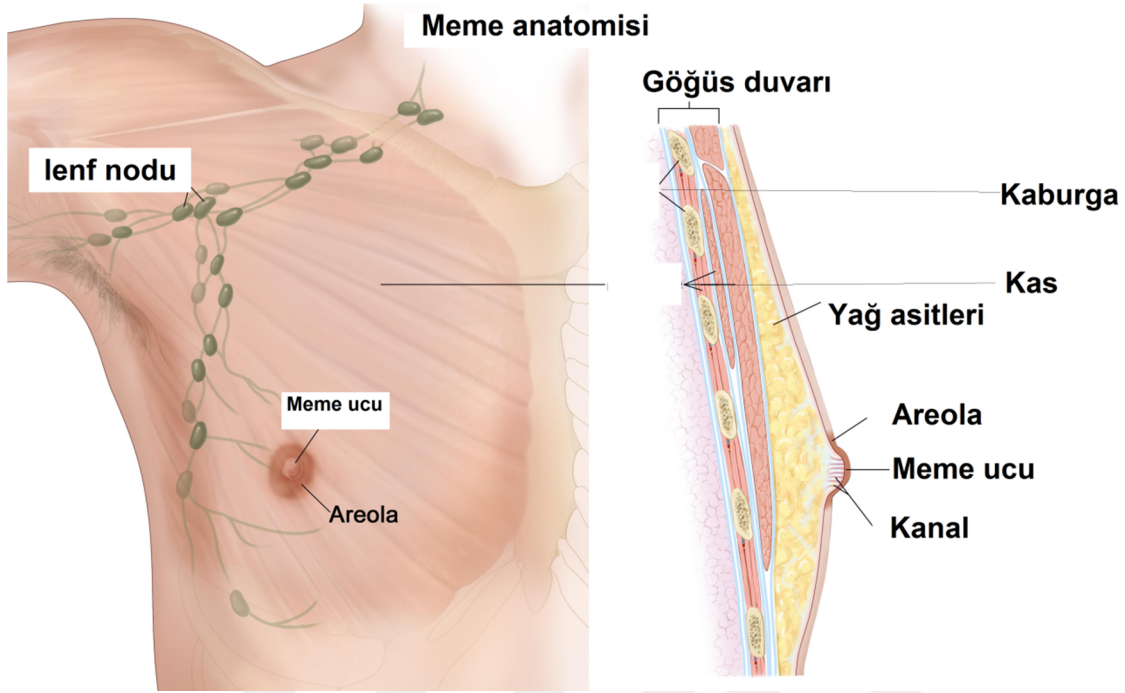
1.2. Meme Anatomisi ve Fizyolojisi

Meme dokusu erkeklerde ve kadınlarda olmasına rağmen meme bezleri sadece postpartum dönemde fonksiyonel olmaktadır. İnsanlarda meme dokusu meme bezlerinin yanısıra yağ ve bağ dokusundan oluşmaktadır. Meme bezleri subkutan olarak anterior ve lateral torasik duvarda yer almaktadır. Her meme, lobüller ve duktuslar olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Lobüller, lob adı verilen grupları oluştururlar. Herbir lobda 15-20 adet kadar lob bulunmaktadır. (Şekil 5). Memenin apeksindeki meme başını çevreleyen pigmentli alana “areola” denmektedir [3].

Memenin yapısında kas bulunmamasına rağmen göğüs duvarının ve üst abdomenin kasları bulunmaktadır (pektoral adı verilen kasların üzerine yerleşmiş). Pektoral major kas klavikulanın medyal yarısının üst kısmından başlayarak lateralde sternuma ve 6.,7. kaburgalara uzanmakta ve humerusun büyük tüberkülünde sonlanmaktadır. İki kısımdan oluşmaktadır [3].

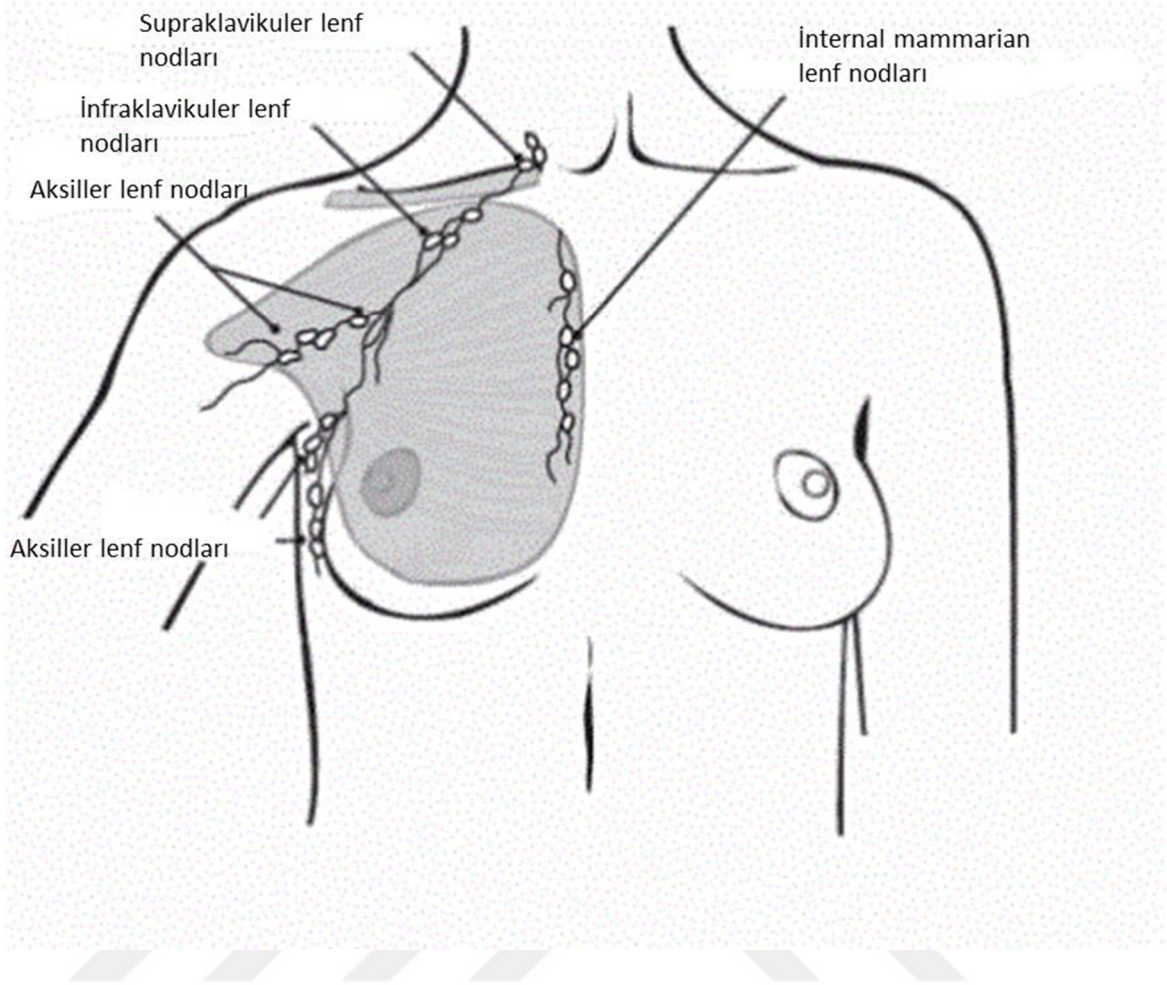
a) Klavikuler kısım,

b) Kostasternal kısım.



Şekil 5: Meme Anatomisi [1].

Meme yapısında çok geniş bir kan ve lenf damar ağı bulunmaktadır. Memenin kanlanması lateral torasik arter, arteria mamma interna ve arteria interkostalislerden kaynaklanmaktadır (Şekil 6). Memenin lenf damarlanması oldukça önemlidir. Meme tümörü olgularında, tümör hücreleri kanserli dokulardaki damar bozulmalarından yararlanarak kolayca lenf damarlarına girerek lenf nodlarına ulaşır ve burada çoğalmaya başlarlar [3].



Şekil 6 : Meme damar ve lenf ağı [4]

1.3. Meme Kanseri ve Kanser risk faktörleri:

Meme kanseri kadınlarda en sık gözlenen kanser çeşididir.

Meme kanserleri nin %95'inden fazlası, in situ (yerinde) karsinomlar ve invaziv (yayılmacı) karsinomlar şeklinde epitel hücrelerde ortaya çıkan adenokarsinomlardır (Salgı yapan bezsel dokularda meydana gelen karsinomdur) [1].

Meme kanallarında ve lobüllerde ortaya çıkan in situ karsinom, kaynak alanlarının içerisinde aşırı çoğalmayı ifade eder. İnvaziv karsinomlar ise bazal membrandan geçerek neoplastik büyüme gösterirler. Bu hücreler kan dolaşımına veya lenfatik sisteme girebilir ve vücudun uzak noktalarına taşınabilirler.

Yapılan kanser epidemiyolojisi çalışmaları sonucunda meme kanserine neden olan birçok risk faktörü belirlenmiştir.

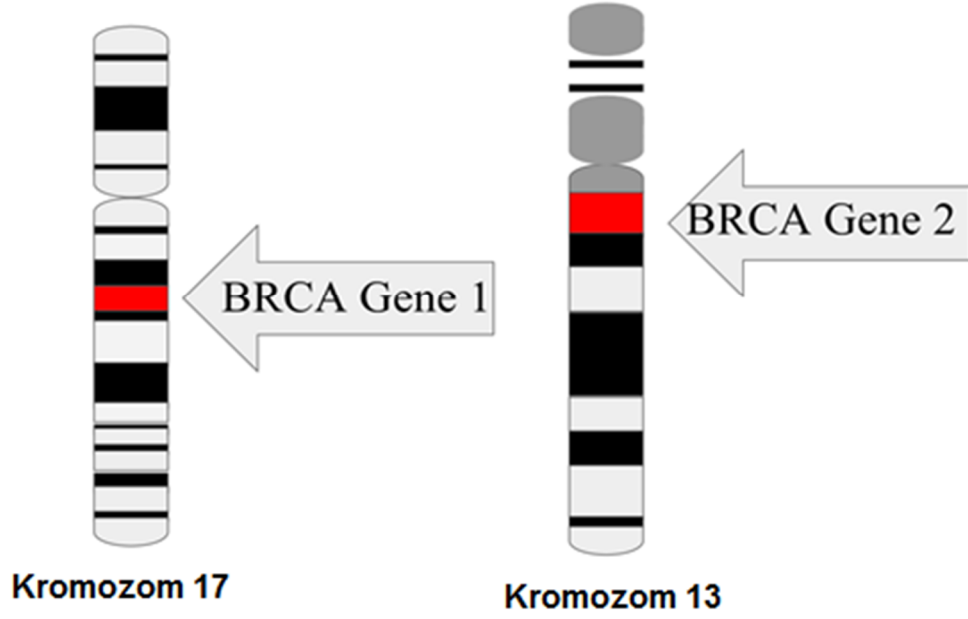
- Irklar,
- Erken menarş,
- Geç dönemde gerçekleşen ilk gebelik,
- Doğurmamış olmak,
- Geç menapoz,
- *Diabetes mellitus*,
- İlerleyen yaş,
- Obezite,
- Genetik faktörler,
- Oral kontraseptiflerin kullanımını bunlardan bazılarıdır [5].

Kanserin ortaya çıkmasında bazı hormonların görev aldığı belirlenmiştir. Kadınlarda östrojen hormonuna bağlı olarak meme kanseri görölme sıklığı artmıştır [6]. Meme kanserinde en çok ilişkilendirilen genler HER-2 ve ER genleri olmak üzere c-myc, ras ve Siklin D1 genleridir. Bu genlerde meydana gelen varyasyonlar meme kanseri oluşumuna neden olmaktadır [7].

HER-2 geni HER ailesinin diğer üyeleriyle benzerlik göstermekte olup 185 kD' luk tirozin kinaz membran reseptörü kodlamaktadır. HER reseptör ailesi üyeleri hücre çoğalmasının yanı sıra hücreler arası iletişim, anjiogenez, apoptoz, dirençlilik ve metastaz gibi mekanizmalarda görev almaktadır. Reseptörler ligand tarafından uyarıldıkları zaman dimer oluşturarak hedef sinyal moleküllerini ve ilgili sinyal yollarının etkilenmesini sağlar. Meme kanseri tedavilerinde, HER-2 aktivitesini inhibe etmek için reseptörün hücre dışı bölümündeki bölgeleri hedef alan anti-kanser ajanlar kullanılır. Bu bölgelerde dimer oluşumunu (trastuzumab, pertuzumab) yada hücre içi kinaz aktivitesini engelleyen (lapatinib) anti-kanser ilaçları kullanılmaktadır [7].

C-myc geni insan genomundaki genlerin %15'inin ekspresyonuu etkileyen etkileyen fosfoprotein niteliğinde transkripsiyon faktörüdür. Myc proteini, hücre çoğalması yanında farklılaşma, apoptoz ve metabolizma gibi daha birçok işlevden de sorumludur [7].

BRCA1 ve BRCA2 genleri meme kanserinde genetik yatkınlıktan sorumlu genlerdir. Sağlıklı hücrelerde bu genler kontrolsüz hücre büyümesini engellemeye yardımcı tümör baskılayıcı genlerdir. Bu genlerdeki genetik mutasyonlar, genlerin bu fonksiyonunu baskılayarak kalıtsal meme ve yumurtalık kanseri gelişimi yatkınlığını artırmaktadır [7].



Şekil 7: Kromozomlarda BRCA1 ve 2'nin lokasyonu [66].

İrklar arası farklılıklar meme kanseri mortalitesi için önemli bir etkidir. Amerika birleşik devletlerinde Afro-Amerikan kadınlar, Caucasians (Beyaz ırk) kadınlara göre daha saldırgan meme kanseri görülme sıklığının daha fazla olduğu belirlenmiştir [8].

Ayrıca artan alkol kullanımı, kırmızı et, aşırı yağ tüketimi, azalan kalsiyum, vitamin C, D ve E ; karotenoidler meme kanseri için risk faktörleri olarak görülmektedir [9].

Bunların yanı sıra uzun süre emzirmek, fiziksel aktiviteler ve muhtemelen vücut kitle kompozisyonunun hormon seviyeleri üzerindeki etkileri meme kanseri riskini azaltmaktadır [9] .

1.4. Meme kanserinde evreleme:

Evreleme, kanserin ne kadar büyük ve yayılmış olduğunun derecelendirilmesidir. Meme kanserinin evrelerini belirlemek için kullanılan en yaygın sistemi Uluslararası kanser kontrol birliği-Amerika birleşik kanser komitesi (UICC-AJCC)' ne ait TNM evreleme sistemidir.

TNM sisteminde:

T: Ana tümörün büyüklüğünü ve boyutunu belirtmektedir. 0' dan 4' e kadar derecelendirir. Ana tümöre primer tümörde denir.

N: Kanserli bölgeye yakın lenf nodlarının sayısını belirtmektedir. 0' dan 3' e kadar derecelendirilir.

M: Kanser metastazı olup olmadığını göstermektedir. 0 ve 1 olarak derecelendirilir [1].

1.5. Meme kanseri tedavi yöntemleri

1.5.1. Cerrahi yöntemler:

Mastektomi: Meme kanserinin erken evrelerinde en sık kullanılan tedavi yöntemidir. Meme kanserinin önüne geçilebilmek için bütün meme dokusunun çıkarılmasıdır. Bazı durumlarda ise çevre dokular da bu yöntemle çıkarılır [10].

Meme koruyucu cerrahi (lumpektomi): Memenin tamamının değil sadece kanserli kitlenin alındığı cerrahi yöntemdir. Çapı 5 cm den küçük olan tümörlere uygulanan bir yöntemdir [10].

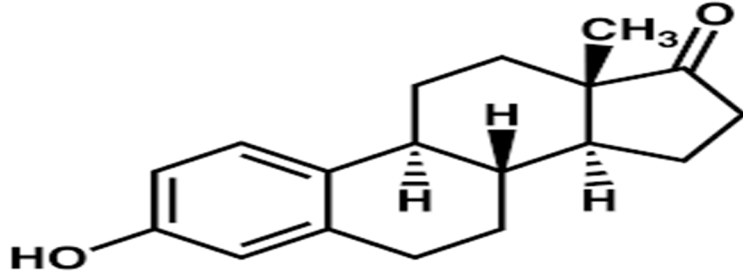
Sentinel Lenf Nodu Biyopsisi (SLNB): Özellikle erken evre invaziv meme kanserinde SLNB önemlidir. Çünkü bölgesel lenf nodüllerine metastaz olup olmadığını değerlendirmek için sıklıkla bu yöntem kullanılmaktadır [11]. Solid organdaki tümörün lenf akımının ulaştığı ilk lenf nodunun çıkarılmasıdır [12].

1.5.2. Radyoterapi

İyonize radyasyonun kullanılarak kanserin tedavi edilmesidir. Yüksek dozlardaki radyasyon kanser hücrelerin büyümesini engelleyebilir. Radyoterapi erken evre meme kanseri tedavilerinde adjuvan tedavide önemli bir yere sahiptir. Radyoterapinin, lokal kontroü arttırdığı bilinmektedir. Aynı zamanda hastanın sağ kalım oranını da arttırmaktadır [13]. Günümüzde meme koruyucu cerrahi yapılmış tüm hastalara rutin bir şekilde uygulanmaktadır. Bunların yanısıra cerrahi yöntemler kullanılmayan erken evrelerde de alternatif yöntem olarak kullanılabilir [3].

1.5.3. Hormon terapisi (HRT)

Her meme kanseri hastası hormon tedavisinden yarar görmeyebilir. Hastaların biyopsisinde alınan parçalara göre yapılan immünohistokimyasal boyamalar sonrasında belirteçlerin pozitif olması durumunda hormon tedavisi uygulanır.



Şekil 8: Östrojen'in kimyasal yapısı [67].

Bu belirteçlerin belirlenmesinde dört farklı yöntem kullanılmaktadır [1].

1.5.3.1. Aromataz inhibitörleri:

Aromataz grubu ilaçlar, östrojen üretilmesini engellemektir. Günümüzde en sık kullanılan yöntemdir. Menopozda girmiş olan kadınlarda daha iyi sonuçlar verdiği kanıtlanmıştır. Aromataz enzimleri 18 karbonlu östrojenin 19 karbonlu androjene dönüştürülmesinde hidroksilasyonu katalizler. Letrozol (Femera), asastrozol (arimidex), exemestan (aromasin) gibi ilaçlar aromataz inhibitörleridir [14].

1.5.3.2. Selektif östrojen reseptör modülatörleri (SERM):

Farklı dokularda östrojen reseptörlerinin agonistik/antagonistik profilini düzenleyebilen bir grup bileşiğe selektif östrojen reseptör modülatörleri denilmektedir. Hormon tedavisinin istenmeyen etkilerini önlemek ya da en aza indirmek amacıyla kullanılmaktadır. SERM profiline sahip birçok ilaç (Tamoxifen, toramifen) klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır [15].

1.5.3.3. Östrojen reseptör restriktörleri (ERD):

Meme gelişiminin yanı sıra karsinogenezinde de rol oynamaktadır. Östrojen reseptörü (ER) onkolojide yaygın olarak kullanılan biyolojik faktörlerden birisidir. Bu reseptörün

farklı genler tarafından kodlanan ama yapısal ve işlevsel açıdan benzerlik taşıyan tipleri bulunmaktadır [63]. Bunlardan ER- α geni 6q25.1 üzerinde, ER- β geni ise 14q22-24 te yer almaktadır. Bu iki molekül de hedef genlere bağlanma, genlerin aktivasyonu, dimerizasyon ve ligand bağlama gibi değişikliklerden sorumlu olan altı farklı bölge içerir. Meme dokusunda mitojenik etki gösteren baskın tür ER α ' dır. Kanserin erken aşamalarında bu molekülün ekspresyonunda artış gözlenir. Östrojen bağlandıktan sonra, reseptör dimeri Siklin D1 ve E1 ile c-myc gibi hedef genlerle etkilenerek bunları aktifleştirir. EGF, TGF α ve IGF-1 gibi büyüme faktörleri de östrojen reseptörüne bağlanır ve meme kanseri hücrelerinin çoğalmasını uyarırlar. Hücredeki reseptörlerin olumsuz olarak etkilenmesi hedeflenmektedir. Reseptörü zarar gören hücreye östrojen hormonu girememektedir [16].

1.5.3.4. Ovaryum fonksiyonunun durdurulması:

Menapoza girmemiş olan kadınlarda östrojen üretimini durdurmayı hedef alır. Düşük dozlarda radyasyon ya da ooferektomi yani overlerin alınmasının östrojen üretimini durdurduğu bilinmektedir [17]. Ooferektomi goserelin (zoledax) yada leuprolide (lupron) gibi ilaçlarla kullanılmaktadır [18].

1.5.4. Kemoterapi

Kanser hücrelerinin ilaçlar ile yok etme tedavisine kemoterapi denir. Kemoterapinin etkinliği ilaçlara, hastanın durumuna, dozaj formu ve dozaj rejimi gibi birçok faktörden etkilenir [12].

Kemoterapi tümörün yayılmasını engellemek, tümörü yok etmek ve hastayı daha iyi sağlık koşullarına kavuşturmak için uygulanır. Kemoterapi tek başına ya da diğer tedavilere ek olarak uygulanabilir. Meme kanseri tedavisinde siklofosfamid, epirubisin, 5-fluorourasil, mitomisin, mitozantrone, doksorubisin, gemitabin, dosetaksel, etoposid, gemitabin gibi ilaçlar kullanılmaktadır. DNA polimerizasyonu, nükleik asit metabolizmasına etki ederek hücrenin çoğalmasını engellemektedir.

Tedavinin uygulanmasında dört farklı yol bulunmaktadır.

Oral (ağız) yoluyla hap, kapsül veya solüsyon şeklinde alınabilir. İntravenöz (damar) yoluyla ile seruma katılarak veya doğrudan damar içine enjekte edilebilir. Damar içine doğrudan enjeksiyon sırasında port, katater, pompa gibi farklı aletlerde kullanılabilir [12].

Enjeksiyon yoluyla kas içine (intramuskuler) veya cilt altına (subkutan) olarak verilebilir. Cilt üstüne(topikal) doğrudan deri üzerine uygulanmasıdır [12].



Şekil 9 : Kemoterapi [68].

Kemoterapi adjuvan tedavi, neoadjuvan ya da metastatik olarak uygulanabilmektedir [10].

1. Adjuvan tedavi: Cerrahi operasyon veya radyoterapiden sonra kanserli hücrelerin proliferasyonunu engellemek için kullanılır. Bu tedavinin amacı klinik ya da radyolojik açıdan saptanamayan mikroskobik hastalığı yok etmektir. Son yıllarda meme kanseri mortalitesinin artması bu tedavinin gelişimine bağlıdır [10].

2. Neoadjuvan tedavi: Cerrahi operasyon öncesinde kanserli dokunun büyüklüğünü azaltmak amacıyla kullanılan bir yöntemdir [10].

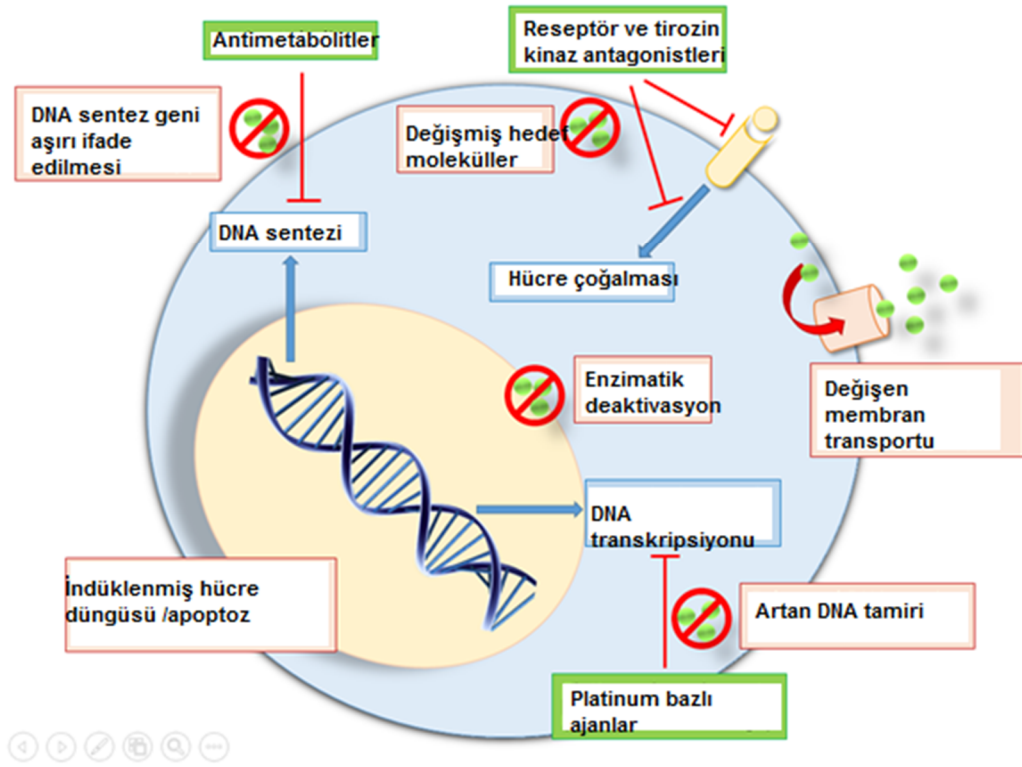
3. Metastatik tedavi: Yayılan kanser hücrelerini yok etmek için kullanılmaktadır. Günümüzde tümördeki hormon reseptör durumuna göre kullanılmasına karar verilmektedir [1].

1.6. İlaç Dirençliliği

Birçok kanser türünde gözlenen çoklu ilaç direnci (MDR); hücre içi ilaç birikiminde azalma (ilacın hücre içine girişinde azalma veya hücre dışına atma işlevinde artış), ilaç-

hedef ilişkisinde azalma, detoksifikasyon işlevinde artış veya ilaç dağılımında değişiklik şeklinde gözlemlenmektedir [19].

Bu duruma bağlı olarak yapılan kanser çalışmalarında kanserde ilaç direncinden sorumlu birçok mekanizma tanımlanmıştır. Bu mekanizmalardan biri olan taşıyıcı proteinler, ilaç dirençliliğinden sorumlu geniş bir ailedir. Bu mekanizmalar insanda dört ana başlık halinde sınıflandırılmaktadır. Bunlar; ATP bağımlı taşıyıcılar, iyon kanalları, sekonder taşıyıcılar ve sınıflanmamış taşıyıcılarıdır. Kanser hastalarına uygulanan kemoterapinin başarısız olmasının temel nedenlerinden biri P-gp aracılığı ile gelişen çoklu ilaç direncidir [21].



Şekil 10: İlaç dirençliliği [20].

Çoklu ilaç dirençliliği, özellikle tümör hücrelerinde, antikanser ilaçlara karşı gelişen ve ilacın hücre içerisine alınmasını engelleyen hücresel yanıtı tanımlayan bir kavramdır [19].

P-gp kanser hücrelerinde normalden fazla eksprese edilerek, yapısal olarak farklı pek çok ilacın hücre içerisine alınmasını engellemek ve bunları tümör hücrelerinden dışarı atmak

suretiyle intraselüler ilaç konsantrasyonlarının azalmasına neden olmaktadır. Bu durum kemoterapinin başarısını olumsuz yönde etkilemektedir [21].

1.7. Meme kanseri direnç proteini (BCRP)

BCRP geni, P-gp ve MRP'ler gibi ATP bağımlı taşıyıcı protein ailesindedir. Bu proteinin aşırı ekspresyonu hücre içi ilaç konsantrasyonunu azalır ve dolaylı olarak ilaç dirençliliğine sebep olur. BCRP geni, 4. (4q22) kromozom tarafından kodlanır ve ABC protein ailesinden olduğu için ABCG2 olarak da isimlendirilir. Oral olarak kullanılan ilaçların bağırsaklardan alımını da azaltır. BCRP, birçok çeşitli ilacı taşıyabilme kapasitesine sahiptir. Kanser tedavisinde etkin olarak kullanılan birçok kemoterapötik, BCRP tarafından etkili bir şekilde hücre dışına atılmaktadır. BCRP ekspresyonunda artış sonucu kanser tedavisinde kullanılan metotreksat, mitoksantron, topoizomeraz I inhibitörlerine karşı direnç oluşturmaktadır [22].

1.8. Apoptoz (programlanmış hücre ölümü)

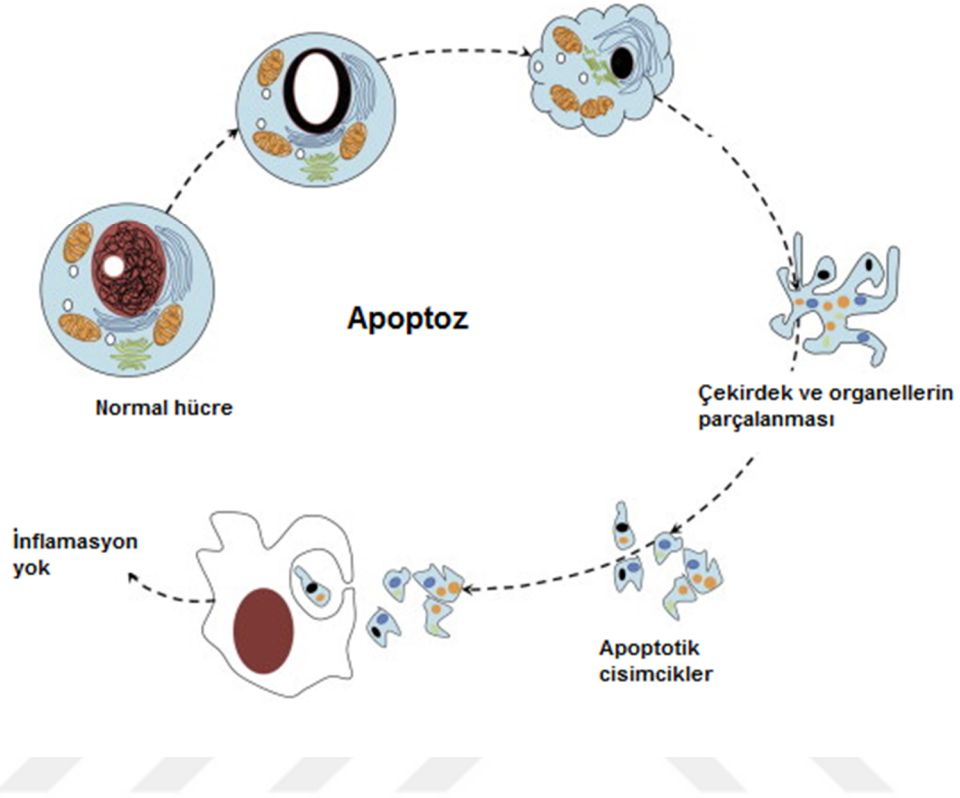
Kerr ve ark. 1972 yılında, apoptozis olayında hücrelerin küçüldüğünü, hücre membranlarının büzülüğünü, kromatinin yoğunlaştığı ve çekirdek parçalanması şeklinde morfolojik olarak belirlemişlerdir. Genler tarafından kontrol edilen bu olay doku homeostazisinde önemli bir yere sahiptir [23].

Tüm canlılarda embriyonik dönemden başlayarak yaşamları boyunca apoptoz mekanizması var olmuştur. Hücrelerin buldukları bölgelere göre yaşam süreleri değişiklik gösterebilir [24].

Apoptoza uğrayacak olan hücreler komşu hücreler ve makrofajlar tarafından tanınarak fagosite edilerek parçalanırlar. Apoptik hücreler plazma membranındaki değişiklikler sayesinde olur. Normal şartlar altında hücre membranının iç tabakasında bulunan fosfatidil serin, aminofosfolipid transferaz enzimi aracılığıyla membranın dış kısmına taşınır. Bu sırada fagositik hücrelerin vitronektin, lektin özelliklere sahip reseptörleri fosfatidil serine bağlanarak fagositozu uyarır [25].

Meme kanserinin önemli nedenlerinden birisi olan kontrolsüz çoğalmaya paralel olarak hücre ölümünü düzenleyen sistemlerde bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Bu mekanizmanın

en önemli proteini p53'ün apoptozu engellemektedir. Meme kanserinde p53 mutasyonları sıkça görülmektedir [26].



Şekil 11: Apoptoz [26].

1.9. Bcl-2 (B-cell lymphoma gene-2):

Bcl-2 geni hücre ölümünden sorumludurlar. Bu aile hem apoptotik hem de anti-apoptotik üyelerden meydana gelmektedir. Bcl-2 ailesi apoptosizi inhibe eden genler Bcl-2, Bcl-xL ve apoptosizi stimüle eden genler Bax, Bad, Bcl-xS, bcl-2 olmak üzere sınıflandırılırlar [27]. Anti-apoptotik proteinler mitokondrinin dış membranı, çekirdek membranı ve ER membranında yer alırlar. Bcl-2 geni, B hücreli foliküler lenfomaya klonlanmış bir onkogendir. Aşırı sentezlenmesi sonucunda apoptozu engeller ve lenfomaya neden olur.

1.10. Ağır metaller

1.10.1. Çinko (Zn)

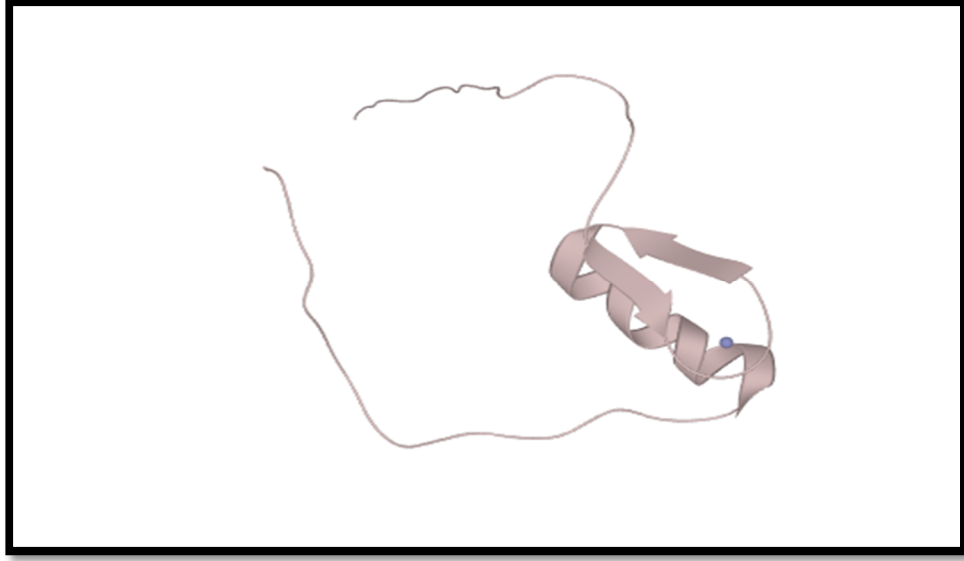
Ağır metallerden biri olan çinko doğada sülfid halinde bulunmaktadır. Endüstriyel alanda yapılan çalışmalar sonucunda doğal kaynaklarda ve temel besin kaynaklarında yüksek oranda çinko tespit edilmiştir. Çinko, emilim ve depolama gibi birçok Zn metabolizmasını düzenleyen bir faktör olan metallothioneinlerin sentezlenmesini katalizler [28,29].

Çinko antionkogenik ve apoptotik bir gen olan P53'ün okside olarak inaktive olmasını engellemektedir. MT I ve MT II tek başına yada diğer faktörlerle birlikte büyüme inhibitörü olarak görev yapmaktadır [30]. Eksprese olamamaları durumunda kanser oluşumu hızlanacaktır. İnsan mesane kanserinde yüksek gradelerinde MT ekspresyonunun arttığı belirlenmiştir [31].

MT' lere bağlı halde bulunan çinko, Cd, Cu ve Hg gibi ağır metallerden kaynaklanan toksisiteyi azaltır. Intraselül metal homeostazi sağlayarak oksidatif strese hücreyi koruyarak apoptozu önler. Zn konsantrasyonu MT'lerin indüksiyonu ile artmaktadır. Çinko, gen ekspresyonuna ve genetik aktivitenin düzenlenmesine katkıda bulunan çeşitli proteinlerin fonksiyonel bir bileşenini oluşturmaktadır. Belirli DNA bölgelerine bağlanan ve çinko parmaklar adı verilen transkripsiyon sırasında ilmekli yapı oluşturan tetrahedral konfigürasyonda sistein içerikli yapılar bulunmaktadır [32]. Çinko, sinir sisteminin gelişimi ve normal işlevi için gereklidir [33].

1.10.1.1. Zinc finger protein:

Transkripsiyonda görevli olan TF III ' da çinkonun yerleştiği bölgeye zinc finger proteini denir. DNA çift heliksinin büyük oluşuna yerleşerek DNA bazları ile temas geçer. Zinc finger proteinlerden Gfl-1B eritroid seriyeye özgü gen ekspresyonunu modüle ederek eritroid hücre büyümesinde önemli bir düzenleyicidir. Hematopoetik kök hücre ve megakaryositler seri gelişiminde rol alarak eritropoiezi sağlar.



Şekil 12:Zinc finger proteini 3D yapısı [69].

Çinko taşıyıcı proteinler aracılığıyla hücrelerin içerisine ve dışarısına doğru taşınır. Bu taşıyıcı proteinler hücreleri çinko toksisitesinden korurlar. Aynı zamanda metabolik faaliyetler için gerekli olan zn'nun temin edilmesini sağlar. Bilinen iki tip çinko taşıyıcı protein vardır.

ZIP ailesi: Çinkonun hücre içerisine alınmasını sağlar.İnsanlarda 12 adet ZIP kodlayan gen bölgesi belirtilmiştir.

ZNT4 ailesi : Çinkoyu hücre dışına serbest bırakmada veya internal olarak sekestrasyonda görevlidirler.

Çinkonun fazlalığı apoptozisi inhibe ettiği, eksikliğinin ise uyardığı gözlenmiştir. Zn apoptozisten koruma mekanizmaları:

- Programlanmış hücre ölümünde önemli bir mekanizma olan stresten korur.
- Demir veya diğer toksik metallerin sisteine bağlanmasını ve protein veya DNA bağlayan elementleri okside etmelerini önler.Böylece nükleer faktörleri oksidasyondan korur.
- Okside olarak inaktive olan p53 tümör süpresör geninin oksidasyonunu engeller.Apoptozisin geç fazında görevli olup DNA'nın nükleozomlara bölünmesinden sorumlu olan Ca-Mg bağımlı endonükleazı inhibe eder [34].

1.10.2. Kadmiyum (Cd)

Toksisitesi yüksek diğerk bir ağır metal olan kadmiyum, çevrede konsantrasyonu 0,1 ila 1ppm arasında değışen, birincil olarak çinko ile birlikte bulunan, geniş bir alana yayılmış fakat seyrek bulunan bir elementtir [35,36]. Saf kadmiyum yumuşak, gümüş beyazı bir metaldir. Kadmiyum, çevrede genellikle saf metal olarak bulunmak yerine, oksijen veya sülfür gibi elementlerle bileşik halinde bulunur [37].

Kadmiyumun genotoksisite mekanizması tam olarak anlaşılmasıyla beraber, yapılan araştırmalarda bazı hücresele etkilerin olduğu görülmüştür. Kadmiyum maruziyetine uğramış olan toplumların % 50-60'lık bir kesimde kromozomal hasarların oluştuğu gözlenmiştir [41]. Vücutta bulunan düşük konsantrasyonlardaki kadmiyumun hücredeki mitokondriye bağlanarak hücresele solunumu %75 oranında inhibe ederken, oksidatif fosforilasyonu ise büyük ölçüde inhibe ettiği gösterilmiştir [38]. Sonuçta biyomoleküllerin yapılarında bozukluklar ve metal homeostasisinde düzensizlikler gibi etkiler meydana gelmektedir [39]. Toksik metal maruziyeti biyosistemlerde direkt veya indirekt olarak serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır [40]. Reaktif oksijen türleri ve nitrojen türleri gibi serbest radikallerin birikimi karsinogenez ile ilişkili olan hücresele redoks dengesini indüklemektedir [42].

1817 yılında bulunan kadmiyum, cıva ve kurşun kadar toksikolojik önemi olan bir metaldir. Geçtiğimiz yüzyılda bu maddenin zehirlenmelere neden olabileceği bildirilmiştir. Kadmiyum doğada Zn ile birlikte bulunur (Çinko blendi gibi) aynı zamanda diğerk minerallerde değışen miktarlarda kadmiyum içerirler. 320.9°C de eriyen kadmiyum endüstride gittikçe artan miktarlarda kullanılmaktadır.

- Demir, çelik, bakır, çinko gibi metallerin korrozyonuna karşı kaplamalarda,
- Kurşunla alaşım şeklinde kablo kaplamalarda;
- Boya ve cam üretiminde;
- Nükleer reaktörlerde nötron absorblayıcısı olarak;
- Nikel-kadmiyum pili yapımında;
- İnsektisit üretiminde;
- Plastiklerde stabilizatör olarak önemli kullanma yerleri vardır.

I. Dünya Savaşı döneminde kalay metalinin yokluğu nedeni ile kadmiyum kalayın yerini almıştır. Besin kaplarının kaplanmasında kullanılmıştır ancak asit özellikte olan besinlere kadmiyum geçmiştir. İnsan ve hayvanlara geçen kadmiyumun zehirlenmelere yol açması nedeniyle kullanımı bırakılmıştır.

II. Dünya Savaşında tekrar kalay yokluğu, kadmiyumun bu seferde konserve kaplarda kullanılmasına yol açmıştır. Tekrardan meydana gelen zehirlenme vakalarından dolayı kullanımı bir kez daha yasaklanmıştır. Bu olaylar bilinmesine rağmen kadmiyum halen buzdolaplarına konulmakta olan buzlukların kaplanmasında kullanılmaktadır [43].

1.10.2.1. Zehirlenme nedenleri:

Endüstride pil üretiminde, elektrolizle kaplamalarda, alaşım, lehim, seramik ve buharlı lamba yapımında, kaynakçılıkta çalışanlar kadmiyumun buhar, toz ve aerosollerine hallerine maruz kalmaktadırlar.

Besin maddelerinde de, kadmiyum en çok kabuklu su hayvanlarında, karaciğer ve böbreklerde birikir. Bu besinlerdeki kadmiyum miktarı 10 µLg /g üzerine çıkabilmektedir. İnsanların besinler, sigara ve hava ile günde yaklaşık olarak 18-200 µg Cd⁺² aldığı hesaplanmıştır. Bu miktar çeşitli coğrafi özelliklere ve çevre koşullarına bağımlı olarak değişkenlik göstermektedir.

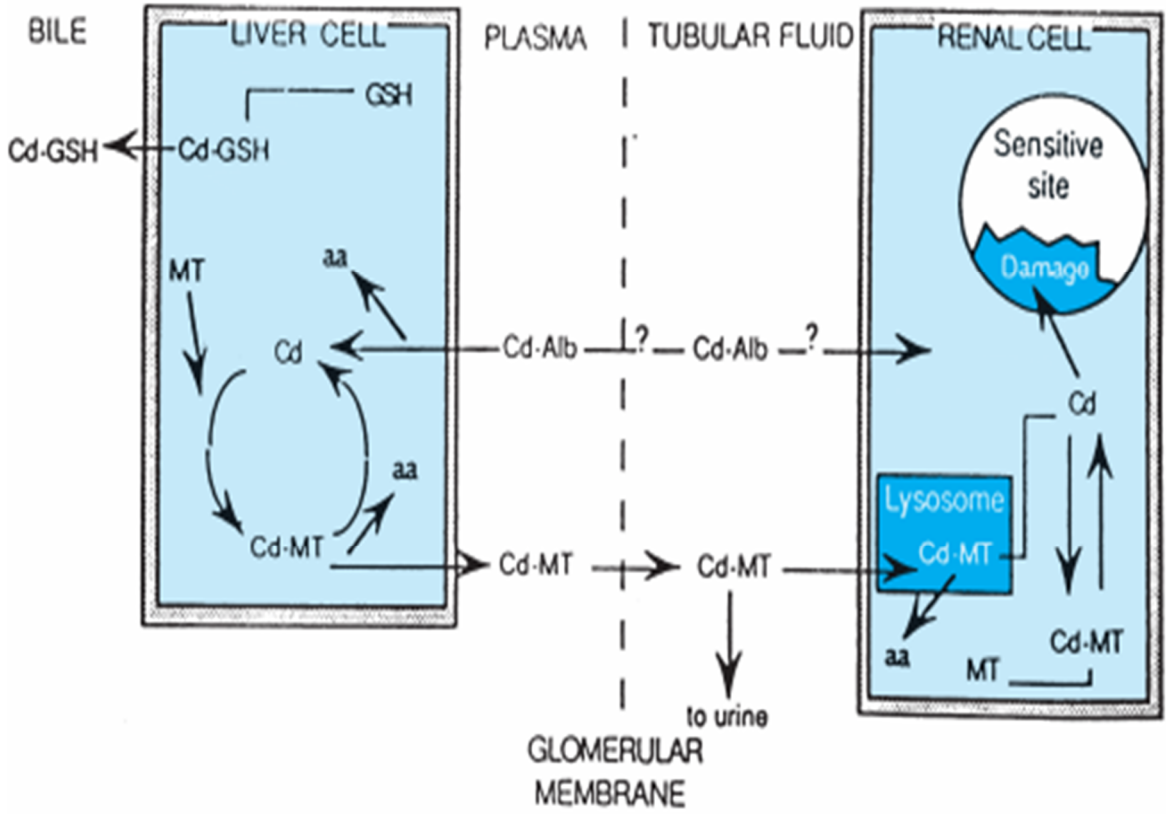
1946' da Japonya'da "itai-itai" hastalığı adı verilen epidemik olayının kaynağının kadmiyum zehirlenmesi kökenli olduğu gösterilmiştir. Çinko, kurşun ve kadmiyum filizlerinin çıkarıldığı maden ocaklarının atıkları maddeleri Jintzu nehrine atılmaktadır. Bu atıklar nehirde kirlenmelere neden olmuştur. Nehrin aşağı bölgesinde yaşayan halk ise sulama ve içme suyu olarak nehrin suyunu kullanmaktaydı. Böylece suyu kirleten kadmiyum ve kurşun besin zinciri aracılığıyla (pirinç, bakla gibi) yaşayan halka ulaşarak dokularında birikmeye başlamıştır. Bu durum yıllar sonra "itai-itai: ouch ouch" veya "çok ağrılı" anlamına gelen şiddetli romatizmal ağrılarla kendini göstermeye başlamıştır. Kadmiyum zehirlenmesi kökenli bu olay epidemiyolojik çalışmaların yapılmasına yol açmıştır. 1968'de Japonya Sağlık Bakanlığı ise itai-itai hastalığının, Cd' a kronik maruz kalmaktan kaynaklandığı, beslenme eksikliğinde, gebelikte, lohusalıkta ve yaşlılıkta arttığını bildirmiştir. Bu zehirlenme olayı 40-70 yaşları arasında 31'i kadın ve 13'ü erkek olmak üzere 44 kişide saptanmıştır [44].

1.10.2.2. Absorbsiyon:

Kadmiyum, cıva ve kurşundan farklı olarak bileşiklerinde yalnızca Cd^{+2} değerliğindedir. Toksikolojik önemi olan başka bir alkil veya diğer organik bileşikleri bulunmamaktadır. Kadmiyum metali yüksek buhar basıncına sahiptir. Endüstri alanında çalışanlar kadmiyum buharlarına ve bileşiklerine ait aerosollerine, tozlarına maruz kalmaktadır. Bu maddeler solunum yolu aracılığıyla organizmaya girerek birikmektedir. Suda çözünen tuzları ($CdCl_2$ gibi) kolayca akciğerlerden kana absorbe edilebilmektedir. Suda çözünmeyen formları ise alveoler makrofajlarla veya silyalarla uzaklaştırılmakta ya da gastrointestinal yolla yutulmaktadır. Kadmiyum gastrointestinal yolla, az miktarda (% 5-7 kadar) absorbe olmaktadır. İnce barsaklardan absorpsiyonu ise kalsiyum, demir ve protein eksikliğinde artmaktadır. Kalsiyum absorpsiyonunda rol oynayan proteinin sentezi, Ca eksikliğinde artar ve kadmiyumun absorpsiyonunu hızlandırmaktadır. "Metalloprotein" in ise bu absorpsiyonu dengelediği tahmin edilmektedir. Kadmiyum metabolizmasında çinko metabolizmasına benzediği bilinmektedir. Esansiyel eser element olan Zn' nin dokudaki düzeyinin Cd' a maruz kalma ile arttığı gösterilmiştir [44].

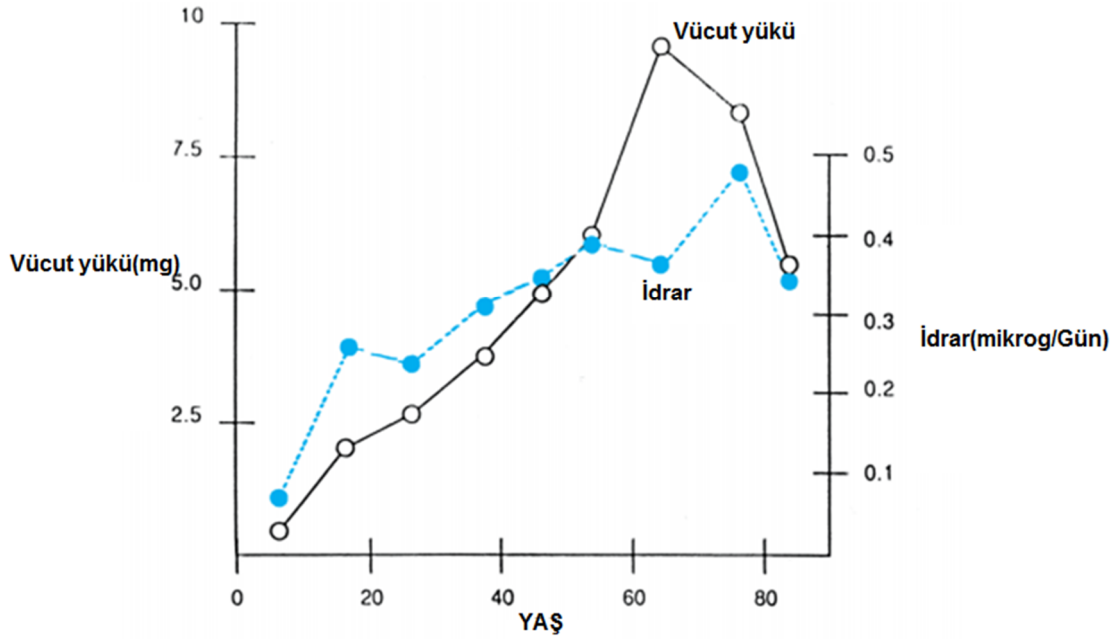
1.10.2.3. Dağılım ve metabolizma:

Kadmiyum başlıca karaciğer ve böbrekte birikmeye başlayan bir zahirdir. Yapılan hesaplamalar günde 1 mg gibi düşük miktarda alınan kadmiyumun 40 yıl içinde vücudun kadmiyum yükünü 14.6 mg' a çıkardığı belirtilmiştir. Total kadmiyumun vücut yükünün yarısı karaciğer ve böbrekte birikirken, kanda eritrositlerde ve kemik dokusunda da biriktiği saptanmıştır. Cd' un böbreklerdeki konsantrasyonu yaş ilerledikçe (50 yaşa kadar) arttığı gözlenmiştir. Kadmiyumun biyolojik yarı ömrünün 19-38 yıl arasında değişebileceği düşünülmektedir.



Şekil 13: Karaciğer ve böbreklerde kadmiyumun metallothioneinlerle geçişi [64].

Metallotiyonein gibi düşük molekül ağırlıklı proteinler kadmiyumun vücutta çeşitli organ ve dokularda birikmesine neden olduğu düşünülmektedir. Bu proteinin içeriğinde bulunan sistein Cd, Zn, Hg, Ag ve Sn gibi metalleri bağlayabilmektedir. Metallotiyonein proteini, böbrek, karaciğer, dalak, barsak, kalp, beyin, akciğer gibi organlarda ve dokularda bulunmaktadır.



Şekil 14:Yaşa bağlı olarak kadmiyum birikmesi [64].

Kronik zehirlenmelerde kan dolaşımındaki kadmiyumun % 90'ının kan hücrelerinde bulunurken, bir kısmının metallothioneine bağlandığı ve diğer bir kısmının ise hemoglobine bağlandığı gösterilmiştir. Serumda bulunan kadmiyum ise metallothionein yerine daha yüksek molekül ağırlığına sahip proteinlere bağlanırlar. Vücuttan kadmiyum uzaklaştırılmasının başlıca yolu idrarla atılmasıdır. Kadmiyumun normal bir kişinin idrarında litrede 0-50 mg arasında olabilmektedir. Yaşın ilerlemesiyle beraber vücutta biriken kadmiyum miktarı artarken idrarla atılan kadmiyumun miktarında değişme gözlenmez. Endüstride kuruluşlarında çalışanlarda ise yüksek miktarda kadmiyuma maruz kalma sonucu idrarla atılım alınan kadmiyum miktarına ve yaşa bağlı olarak artmaktadır. Kadmiyumun solunum sonucu absorpsiyonu ve kandaki konsantrasyonu uzun zamanda artarak dengeye ulaşırken, İdrarla atılmakta olan Cd konsantrasyonu ise bu durumdan hemen etkilenmektedir. Biyolojik tarama araştırmaları ise idrarda bulunan Cd miktarına dayanır. Cd kalıntılarına az miktarda dışkıda, terde, sütte ve saçlarla da rastlanıldığı için bu yollardanda atıldığı gözlenmiştir [44].

1.10.2.4. Toksikite ve etki şekli:

Cd tuzlarının insanlardaki öldürücü dozları tam belirlenmemiştir. Tuzların çözünürlüğüne bağlı olarak 350 - 500 mg arasında değiştiği ve minimal akut dozunun ise 10 mg civarında olduğu düşünülmektedir.

- Metal buharlarının havadaki letal konsantrasyonu (LCt50) 1 dakika için 2 600 mg /m³tür. Havada metal buharı için TLV 0.1 mg/m³ ; metal dozu için 0.5 mg/m³tür. Bugün FAO /WHO (Gıda-Tarım Dünya Sağlık Örgütü) tarafından Cd için tolere edebilen değer 400-500 xg olarak bildirilmektedir [45].
- Türkiye'de işyeri havasında izin verilen en yüksek değerler kadmiyum ve çözünebilen bileşiklerinin tozları için 0.2 mg /m³, CdO için 0.1 mg /m³ , kadmiyum arsenat için 1 mg /m³tür [46].

Kadmiyuma en duyarlı organ böbreklerdir. Böbreklerin uzun süre Cd'a maruz kalınması böbreklerde hasara neden olmaktadır. Kadmiyum buharının solunumundan ise en çok akciğerleri etkilenir. Japonya' da 1944' de, kadmiyumla temas etmiş pirinci yiyen halkta Cd kökenli zehirlenmeye bağlı olarak görülen itai-itai hastalığının incelenmesi bu durumu açıklığa kavuşturmuştur. Japonya' da Fuchu, Ikuno ve Kakelashi' de oral yolla günlük kadmiyum alımının 300 j.g' a ulaştığı belirlenmiştir. Belirtileri ise;

- Böbreklerin etkilenmesi
- İleri derecede kemik bozuklukları
- Yalancı kemik kırık ve çatlakları
- Lumbago ağrıları
- Kemiklerde şiddetli ağrı
- Ayak miyaljisi
- Ördek yürüyüşü
- Yüksek tansiyon şeklinde gözlenmiştir.

60 Yaş üzeri kadınlarda ise oral yolla alınan Cd "osteomalasi" tipinde semptomlara neden olmuştur. Endüstriyel sanayide çalışanlarda ise maruz kalmaya bağlı olarak zehirlenme her iki cinste de görülmüştür. Her iki cinsiyette de başlıca etkiler akciğer ve böbrekler üzerin gözlenmiştir [44].

Kadmiyumun diğer bir önemli etkisi "hipertansiyona neden olması" ise 1965'de Schroeder tarafından gösterilmiştir.

Kadmiyumla akut zehirlenme belirtileri:

- İnhalasyon yolu ile lokal iritan etkiler, pnömoni,
- Gastrointestinal yolla ise bulantı, kusma, salivasyon, diyare, abdominal kramplar şeklindedir.

Ölüm 24 saat içinde şok ve dehidratasyon sonucu ortaya çıkmaktadır. Ölümün hemen değil birkaç hafta sonra oluşması gecikmiş akut etki olarak isimlendirilir. Böbrek ve kardiyopulmoner yetmezliği belirtileri de görülür. Akut zehirlenmelerde karaciğer harabiyeti de görülebilmektedir [44].

Kronik zehirlenme belirtileri:

İnhalasyon yolu ile maruz kalma sonucu Cd, öncelikli olarak akciğer ve böbrekleri etkilemektedir. Akciğerdeki etkileri;

- Solunum fonksiyonlarını yavaşlatır,
- İleri durumlarda anfizem (sigara içme artırır),
- Perivasküler ve peribronşiyal fibrozis görülür.

Zehirlenmenin tedavisi:

Akut zehirlenmelerde, CaNa_2EDTA 'nın oral yolla 0.5 gram dozda, 2 saat aralarla ve 1-2 hafta boyunca sürekli olarak verilmesi şeklindedir. Bu şekilde kadmiyum atılımı artmaktadır. Fakat böbreklerde hasara neden olma ihtimali vardır. Dimerkaprol (BAL) Cd atılımını arttırmasına rağmen Cd-BAL kompleksi nefrotoksiktir. Bu nedenle kullanılmamalıdır. Beslenmeye dikkat edilmelidir. Cd' a maruz kalan kişi zehirlenme ortamından uzaklaştırılmalıdır. İtai-itai hastalığında ise D vitamini tedavisi etkin olmuştur [44].

1.11. Metallothioneinler

1.11.1. Metallothioneinlerin Sınıflandırılması

Metallothioneinler (MT' ler) düşük moleküler ağırlığına sahip (4-14 kDa) ve %33'ü sisteinden oluşmakta olan çinko içerikli proteinlerdir. Ayrıca mRNA' nın translasyon ürünleridir [47]. MT' lerin yapısında bulunan sistein ve sisteinin protein içerisindeki düzenlenişi MT' lerin metal bağlayıcı özelliği olduğunu göstermektedir [48]. MT proteinleri sistein kalıntılarının düzenlenmesine göre sınıflandırılır [49]:

a) Sınıf I MT' ler: Oldukça korunmuş 20 adet sistein kalıntısı içermektedir. Aynı zamanda omurgalılarda yaygın olarak bulunmaktadır.

b) Sınıf II MT' ler: Genel karakteristik özelliklere sahip olmalarına yanı sıra peptit boyunca sistein dağılımlarının farklı olması ile diğer MT' lerden ayrılmaktadır. Omurgasız hayvanlarda, bitkilerde ve mantarlarda bulunmaktadır.

MT I ve MT II ler her dokuda eksprese olabilmektedirler. Potansiyel homeostatik mekanizmaların da;

- Kataliz,
- Depolama,
- Detoksifikasyon,
- İmmun sistem regulasyonunda rol oynamaktadır[50].

c) Sınıf III MT'ler: Glutatyondan enzimatik olarak sentezlenen Fitoşelatinleri (PC) kapsamaktadır. Nöron poliriferasyonunu inhibe eder. Sadece beyinde eksprese olan bir izoformdur. Nonspesifik olarak tüm hücrelerin proliferasyonunu inhibe ettiği düşünülmektedir [50].

d) Sınıf IV MT'ler : Çok katlı yassı epitelin diferansiyasyonunu indükleyen protein olarak spesifik olarak dil ve deri gibi epitel hücrelerde ekspere olurlar[50].

Ağır metallerin temel mekanizması plazma membranı aracılığıyla sitozolden atılması veya sitozolik metal bağlanmasına bağlı olarak kofullarda bu komplekslerin birikmesi esasına dayanmaktadır. Hayvanlarda MT' ler gerekli olamayan Cd, Pb ve Hg gibi metallerin

detoksifikasyonunu sağlarken, Cu ve Zn gibi esansiyel metallerin homeostazisini sağlar. Ayrıca serbest radikallerin temizlenmesini içeren birkaç işlevde de rol oynar [51]. MT' ler karaciğerde indüklenir ve depolanırlar. Kadmiyum ile birlikte kompleks oluşturur. Bu şekilde hepatik sitozolden ayrılarak hepatositlere zarar vermesini önlerler. Yapılan hayvan deneylerinde, metallothioneinin glutatyon depolarının tüketimini önlediği görülmüştür. Bu sayede kadmiyumun hepatotoksitesini azalttığı gösterilmiştir. Metallothioneinler, glutatyon gibi, serbest radikal süpürücüleridir [52]. Metallothionein, SOD (Süper Oksit Dismutaz) gibi, hidroksil ve süperoksit radikallerini süpürür [53].

Metallothionein, kadmiyum detoksifikasyonunda görev almasının yanı sıra Cd ile birlikte indüklenmiş renal hasarlara sebebiyet vermektedir. Cd, MT' e bağlanarak plazma içine girer. Bu sayede karaciğer depolarını terk eder ve böbrekler tarafından alınır. Böbreklerde kadmiyum-metallothionein kompleksi ayrışır. Serbest kalan Cd böbrek içine salınarak proksimal tübüllerden geri emilir. Buradaki metallothionein miktarı ve detoksifikasyon sistemi (glutatyon gibi) yeterli değil ise serbest kadmiyum renal tübüller içindeki hücresel membranlara zarar verir. Yapılan çalışmalarda MT' lerin üretimi genetik olarak engellenmiş farelerde, uzun süreli kadmiyum maruziyetinde, normal farelere kıyasla renal hasar ve hepatotoksite daha fazla olmuştur [54].

2.AMAÇ

Tez çalışmasında Kadmiyum ve Çinko'nun maruziyetinin kanserli ve normal meme dokusunda apoptoz, ilaç dirençliliği, sitokrom p450 genleri, ağır metal stres genleri üzerindeki etkisinin araştırılarak temel mekanizmanın aydınlatılması amaçlanmıştır. Tez çalışması kapsamında meme kanseri ve normal hücre hatları ile karşılaştırmalı olarak Kadmiyum ve Çinko'nun yarattığı etki gen ekspresyon düzeyinde çalışılmıştır. Elde edilen veriler, Kadmiyum ve Çinko'nun meme kanseri karsinogenezinde hücresel ve moleküler etkilerini ortaya koymakta ve meme kanserine etkisini araştırmanın önemini vurgulamaktadır.

3. MATERYAL

3.1. Deneylerde Kullanılan Malzemeler

3.1.1. Hücre Hatları:

- Meme kanseri hücre hatları (MCF-7)
- Normal meme dokusu hücre hattı(MCF-10A)

3.1.2. Hücrelerin büyütülmesi için gerekli malzemeler:

- RPMI-1640 (L-glutamin) medium
- DMEM/F12 medium
- Horse serum
- EGF
- Hidrokortizon
- İnsülin
- Serum (FBS)
- Antibiyotik (Pen/Strep)
- Tripsin

3.1.3. Ağır metal ve İz elementler:

- Kadmiyum, çinko standart çözeltileri

3.1.4. Kitler:

- RNA izolasyon kiti
- cDNA sentez kiti
- PCR array kiti

4. YÖNTEM

4.1. Hücre Hatlarının Seçimi Ve Hücre Kültürü Uygulamaları

Bu çalışmamızda ilk aşamada MCF-7 hücre hattı seçilmiştir. Seçilen bu hücreler 75cm² ve 25 cm²' lik kültür kaplarında, %10' luk fetal bovin serum eklenmiş RPMI 1640 besi yerinde, 37°C sabit sıcaklık ve %5' lik karbon dioksit sağlayan inkübatörde büyütülmüş; flask yüzeyinin %80'i hücreler tarafından kaplandıkça, hücreler tripsin kullanılarak pasajlanmıştır.

4.2. Metallerin in vitro Ortamda Toksikite Analizleri

MCF-7 hücre hatlarına, metallerin hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerini ve hücrelere uygulanacak metal çözeltilerinin dozunu belirlemek için sitotoksikite analizi yapılmıştır. Sitotoksikite analizleri için XTT yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde 96 kuyulu plaklara her kuyuda 5000 hücre olacak şekilde hücreler ekilmiştir. 72 saat inkübasyonu sonrasında XTT solüsyonu eklenerek ve 2-3 saat bekletildikten sonra, ELISA okuyucusu kullanılmış optik yoğunluklar belirlenerek, hücrelerin LD50 (IC50) değerleri hesaplanmıştır.

4.3. Toplam RNA İzolasyonu

Genlerin ifade düzeyinin belirlenmesi için Cd ve Zn uygulamasını takiben hücre hatlarından RNA izole edilmiştir. Çalışmamızda silika zar yardımıyla RNA' yı yakalayan bir izolasyon kiti (High Pure RNA Isolation Kit/Roche) kullanılmış; kit protokolü izlenerek ve RNA ile birlikte izole edilmiş olabilecek kontamine edici DNA' yı uzaklaştırmak için sadece DNA' yı parçalayan DNase I enzimi kullanılarak RNA elde edilmiştir. Yeterli miktarda saf su ile silika zardan izole edilen RNA' nın kalitesi, agaroz jel elektroforezi ve Nanodrop ölçümleriyle belirlenmiştir. Burada, Nanodrop ölçümleriyle RNA konsantrasyonu, protein ya da organik kontaminant varlığı belirlenmiştir. Jel elektroforezinde de genomik DNA varlığı ve RNA bantlarının sağlamlığı test edilmiş; genomik DNA kontaminasyonu taşımayan, sağlam RNA bantlı örnekler cDNA sentezi için kullanılmıştır.

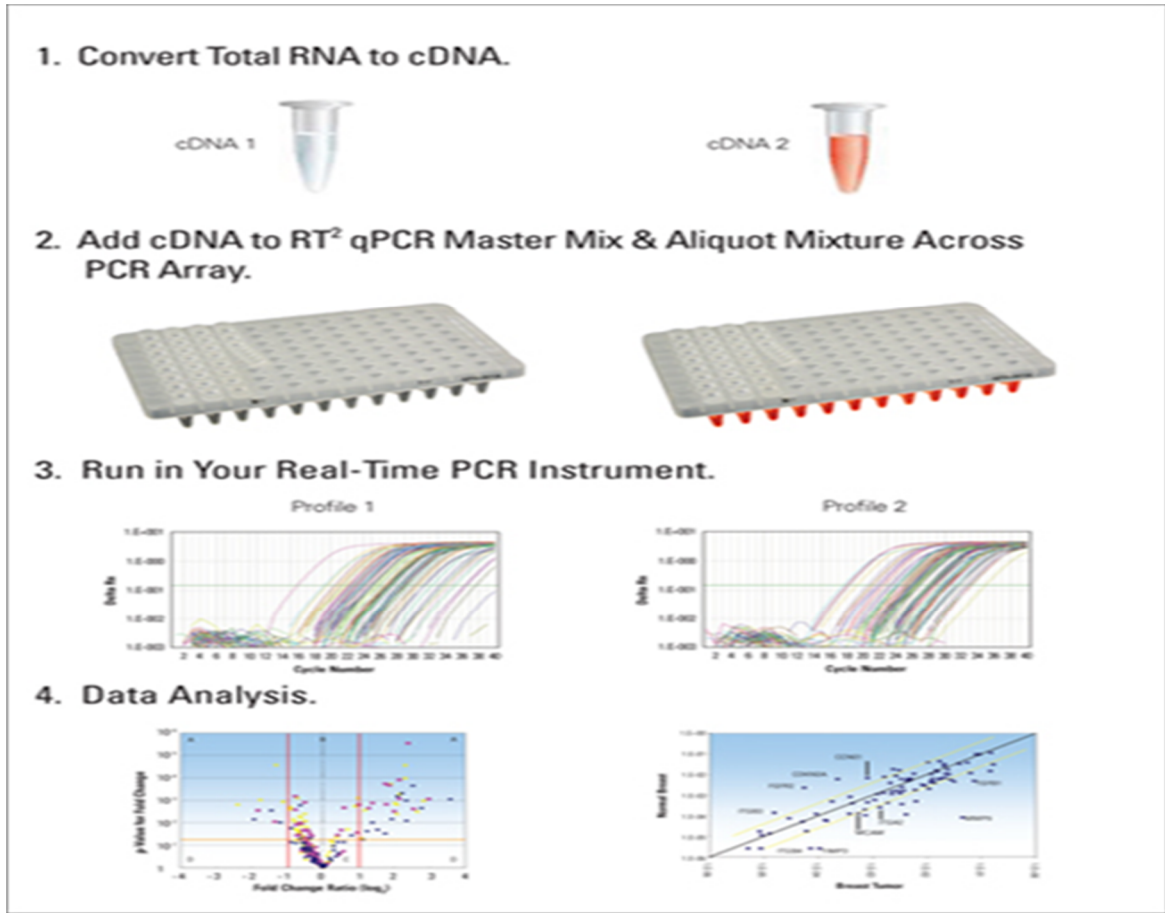
4.4. cDNA Sentezi

Gen ifadesinin gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlenebilmesi için, öncelikle genin transkriptinin yani mesajcı RNA' sının tamamlayıcı DNA' ya (complementary DNA, cDNA) çevrilmesi gerekmektedir. cDNA sentezi (Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit/ Roche) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Genel protokol şu şekildedir.

- Konsantrasyonu belirlenen toplam RNA'dan 1µg ve random hexamer primerinden 60µM eklenmiştir; toplam hacim DEPC ile muamele edilmiş saf su ile 11,4µl ye tamamlanmıştır.
- 65°C de 10 dakika denatürasyon yapılmıştır.
- 4µl ters transkriptaz tamponu (5X), 2µl 10mM dNTP karışımı, 0.5µl RNaz inhibitörü, 1µl DDT ve 1.1µl ters transkriptaz eklenmiştir.
- 29°C'de 10 dakika ve 48oC'de 60 dakika inkübe edilerek enzimin, RNA' ya ait tamamlayıcı DNA (cDNA) sentezlemesi sağlanmıştır.
- 85°C de 5 dakikalık inkübasyon ile ters transkriptaz inaktive edilmiştir.
- Elde edilen cDNA'lar standart polimeraz zincir reaksiyonuna tabii tutulana kadar -20°C'de saklanmıştır.

4.5. Genlerin Ekspresyon Analizleri

Elde edilen cDNA'lardan kantitatif RT-PCR metodu (Roche Light Cycler 480 cihazı kullanılarak) ile 96-well plate PCR array' ler (Real Time ready Catalog Assay) üzerinde; ağır metal maruziyetinde önemli olan genlerin ifade düzeyleri belirlenmiştir.



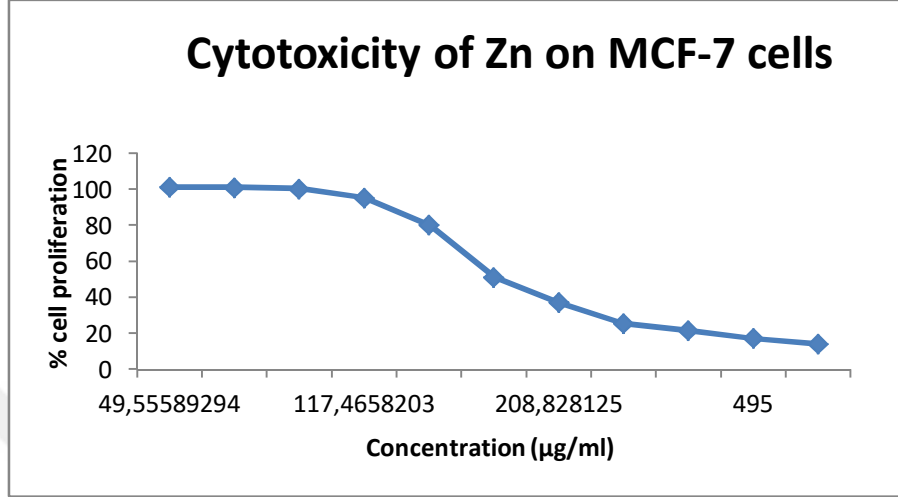
Şekil 15: PCR array çalışma metodu

Tablo 1: PCR array’ de yer alan genler ve grupları

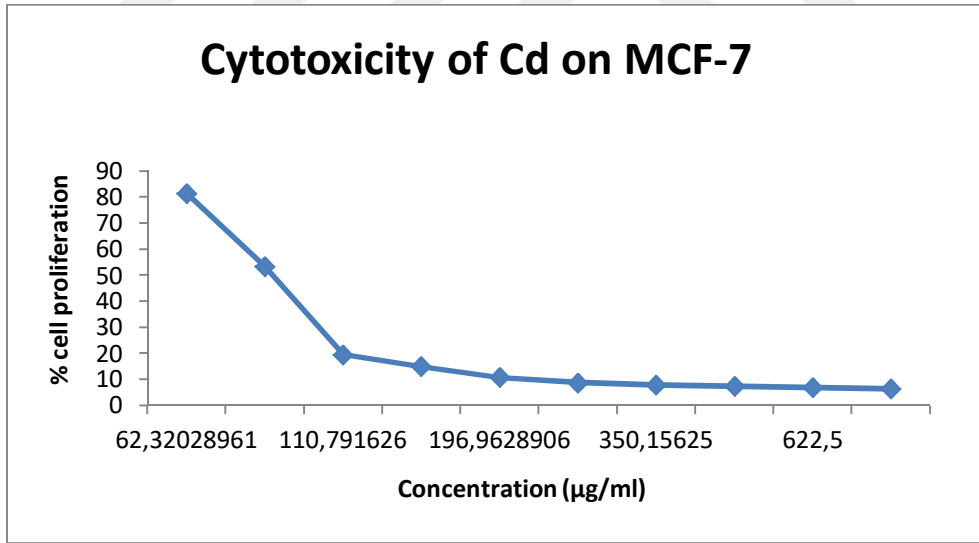
| |
|---|
| Apoptoz: |
| BCL2, BIRC3 (c-IAP1), CASP1 (ICE), CASP3, CASP7, CASP8 (FLICE), CASP9, CD40 (TNFRSF5), TNFSF10 (TRAIL), XIAP. |
| Sitokrom P450 ve Faz I ilaç Metabolizması: |
| CYP1A1, CYP1A2, CYP2B6, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4. |
| Ağır Metal Stres genleri: |
| Metallothioneinler(MTs), DMT-1, MTF-1, CTR-1, AP-1. |
| İlaç Dirençliliği: |
| ABCB1 (MDR1), ABCC1 (MRP1), ABCG2 (BCRP), BAX, BCL2, TOP1, TOP2A, TOP2B, TP53. |

5. BULGULAR

Ağır metallerin ve iz elementlerin meme kanser hücre hatlarında sitotoksik etkilerini gösteren grafikler aşağıdadır (Şekil 16 ve 17).

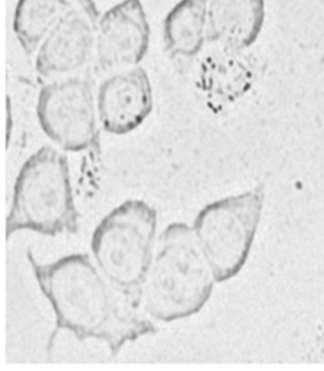


Şekil 16: MCF-7 hücreleri üzerinde Zn' nin sitotoksik etkisi

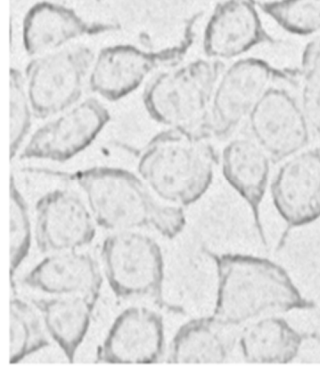


Şekil 17: MCF-7 hücreleri üzerinde Cd' un sitotoksik etkisi

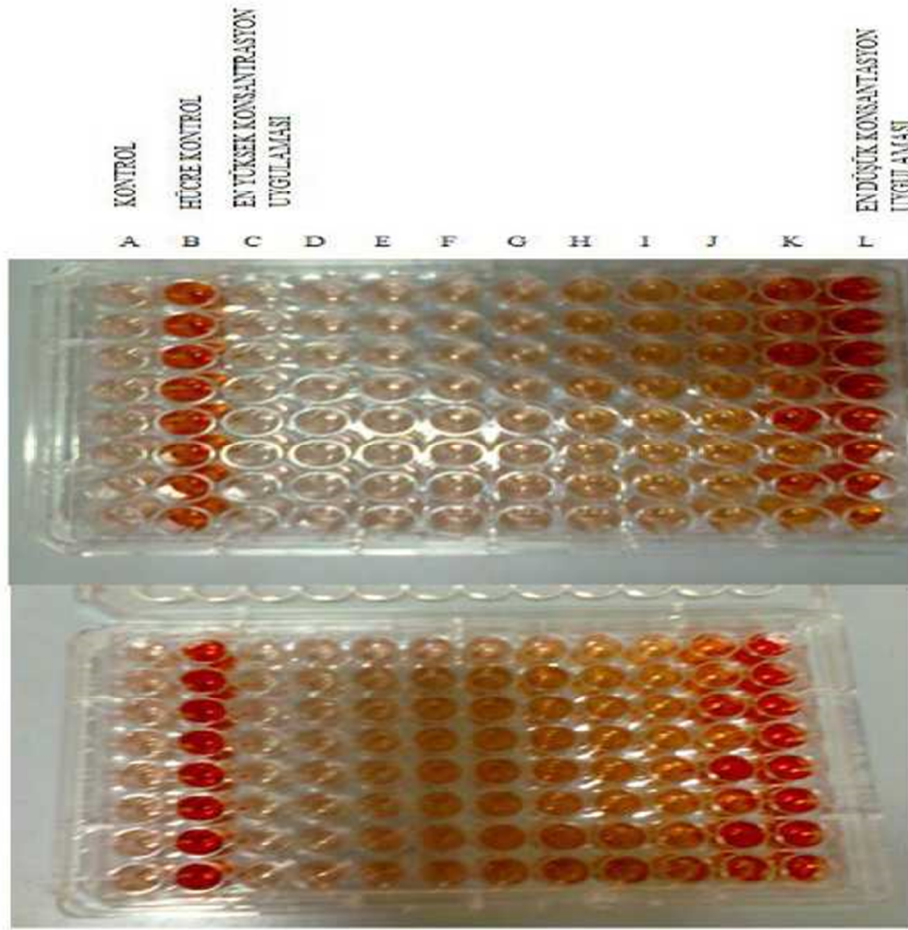
**Kadmiyum uygulanmış
MCF-7(IC50 dozunda)**



Kontrol MCF-7



Şekil 18 : Kadmiyum uygulanmış ve uygulanmamış MCF-7 hücreleri

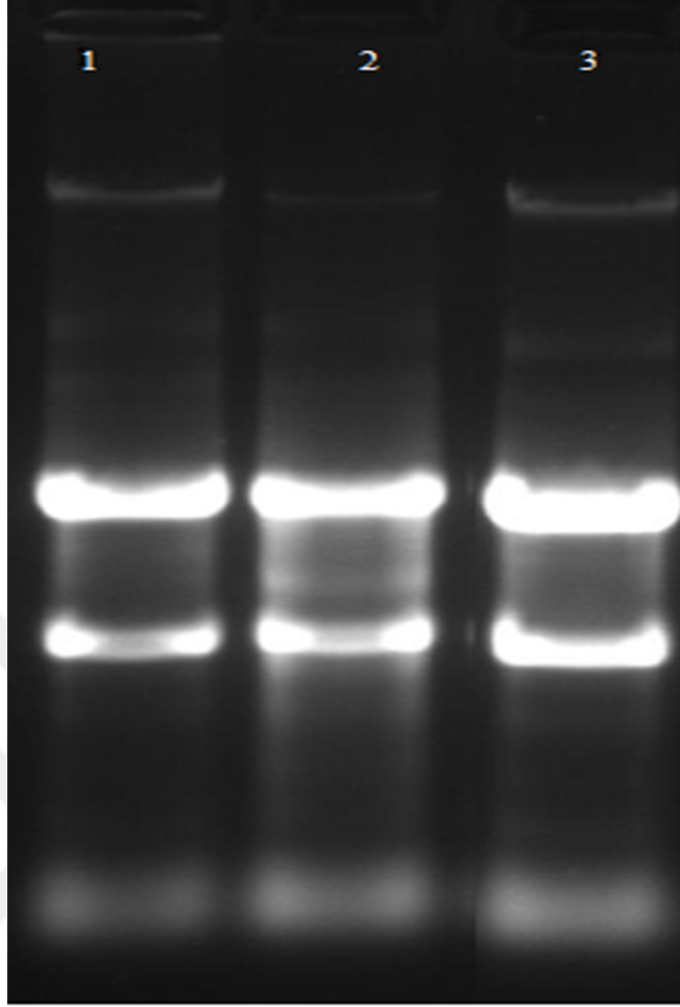


Şekil 19: Kadmiyum' un MCF-7 hücreleri üzerinde IC50 değerini belirlemek yapılan XTT analizi

Yapılan sitotoksik analizler sonucunda kadmiyum ve çinko elementlerinin meme kanseri hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Kadmiyum LD50 değeri 83µl, çinko için 175 µl olarak bulunmuştur.

5.1. Ağır metal uygulanmış ve uygulanmamış hücrelerden RNA izolasyonu, cDNA sentezi, PCR array'lerde analizi ve istatistiksel değerlendirme

MCF-7 hücreleri sitotoksikite sonuçlarına göre ağır metal uygulanmış hücrelerden RNA izolasyonu yapılmıştır. RNA izolasyonu sonucu elde edilen RNA' nın kalitesi ve miktarını belirlemek için RNA' lar agaroz jelde yürütülmüş ve nanodrop cihazında ölçümü yapılmıştır (Şekil 20, Tablo 1). RNA kalitesi ve miktarı belirlendikten sonra örnekler cDNA' ya çevrilmiştir.



Şekil 20: Hücrelerden elde edilen total RNA (%1 agaroz jelde yürütülmüştür) (1: MCF-7; 2: Cd uygulanmış MCF-7; 3: Zn uygulanmış MCF-7).

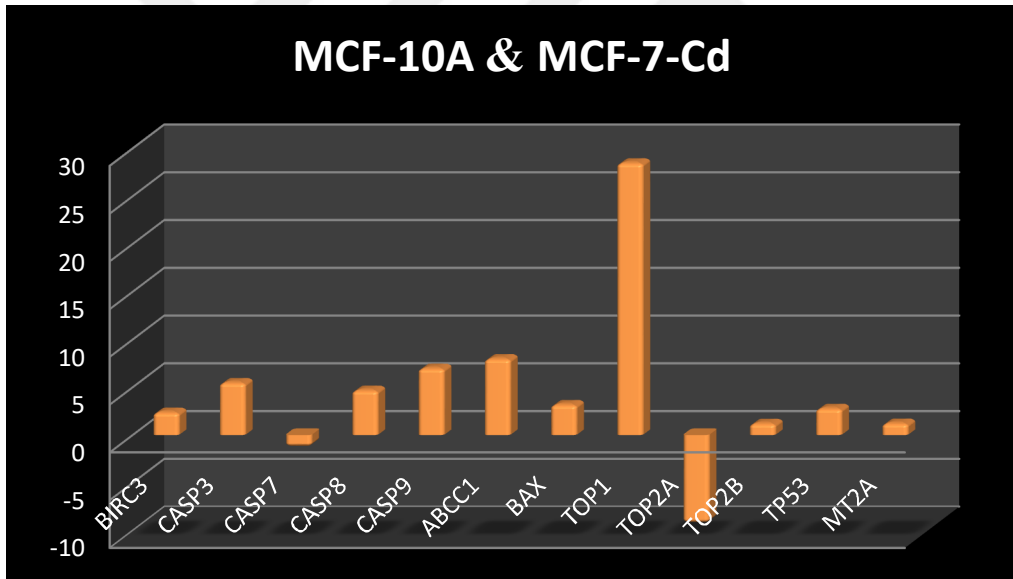
Tablo 2: Nanodrop ölçümleri sonucu hücrelerden elde edilen RNA konsantrasyonları

| Hücre hattı | RNA konsantrasyonu (ng/µl) | 260/280 | 260/230 |
|-------------|----------------------------|---------|---------|
| MCF-7 | 888,2 | 1,98 | 1,91 |
| MCF-7/Zn | 974,0 | 2,00 | 1,96 |
| MCF-7/Cd | 790,6 | 2,02 | 1,99 |

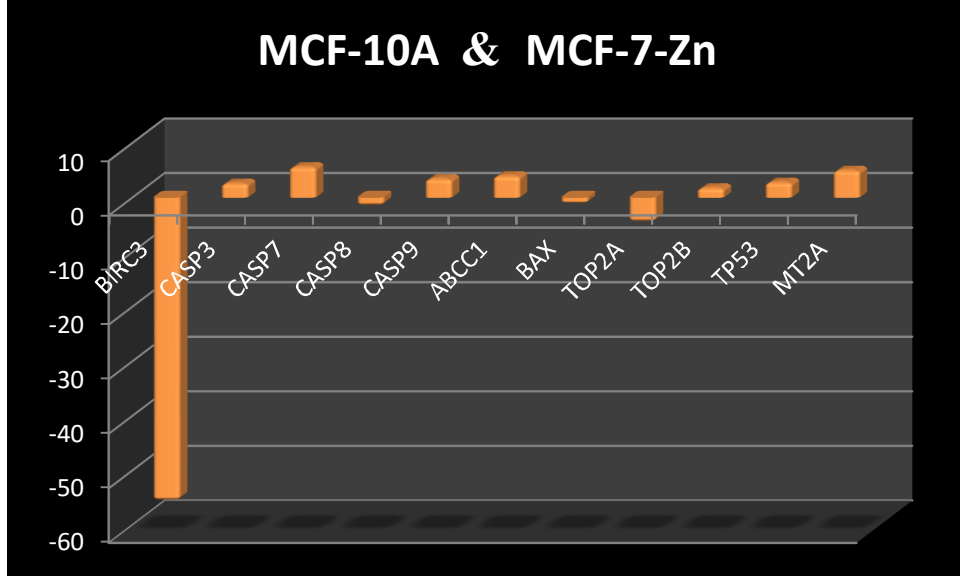
cDNA eldesinden sonra örnekler custom olarak dizayn edilmiş olan PCR array plakalara yüklenerek, Roche Light Cycler 480 cihazında okutulmuştur. Tüm hücre hatlarından çift tekrar yapılacak şekilde qPCR analizleri gerçekleştirilmiştir.

5.2.Hesaplamalar ve İstatistiksel Analiz

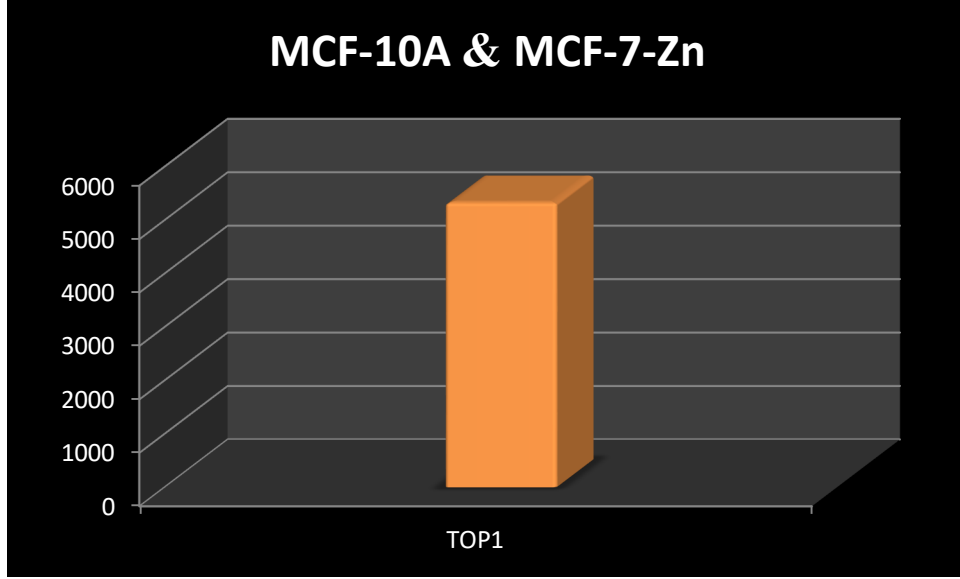
Tüm hücre hatlarından çift tekrar yapılacak şekilde qPCR analizleri gerçekleştirilmiştir. PCR sonucunda herbir gen için elde edilen Ct değerleri ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) hesaplanmış, göreceli miktar değişimleri saptanmıştır. Bu yöntemle göre; bir genin, kontrol gene (Beta-Aktin, GAPDH, B2M) göre Ct değerinden; aynı genin hücre hattındaki kontrol gene göre Ct değerinin çıkarılmasıyla $\Delta\Delta Ct$ değeri elde edilmiştir. Genin miktarındaki kat değişimi, $\Delta\Delta Ct$ değeri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ifadesinde yerine konmasıyla elde edilmiştir. İki tekrar ile elde edilmiş sonuçlar Graphpad Prism 7.0 programı ile değerlendirilmiş ve p değeri 0.05 düzeyinde olan farklılıklar “istatistiksel olarak anlamlı” olarak kabul edilmiştir.



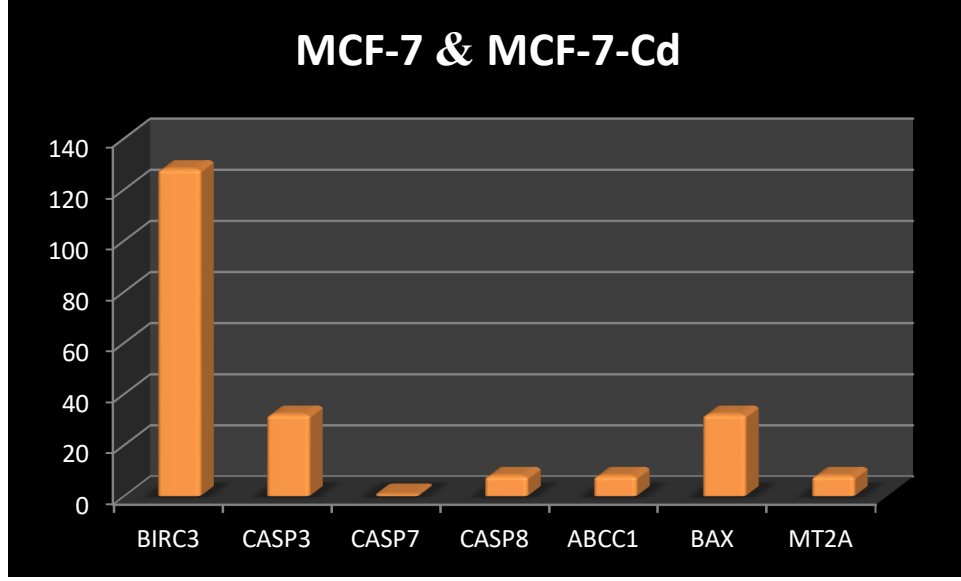
Şekil 21: MCF-10A ve Cd uygulanmış MCF-7 hücre hatları arasında, söz konusu genlerin ifade düzeylerindeki kat değişimi oranları



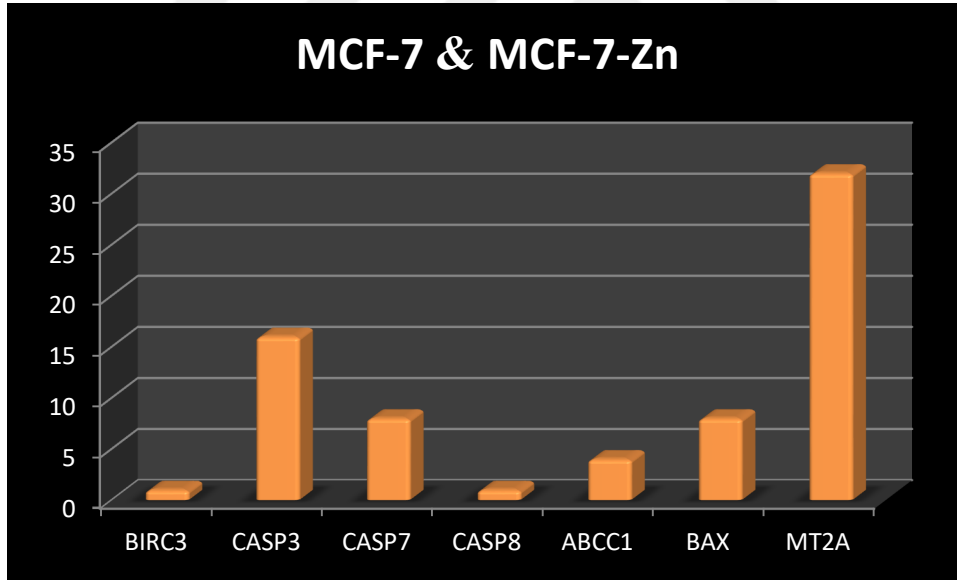
Şekil 22: MCF10-A ve Zn uygulanmış MCF- 7 hücre hatları arasında, söz konusu genlerin ifade düzeylerindeki kat değişimi oranları



Şekil 23: MCF10A ve Zn uygulanmış MCF-7 hücre hatları arasında, TOP 1 geninin ifade düzeylerindeki kat değişimi oranları



Şekil 24: MCF7 ve Cd uygulanmış MCF-7 hücre hatları arasında, söz konusu genlerin ifade düzeylerindeki kat değişimi oranları



Şekil 25: MCF7 ve Zn uygulanmış MCF-7 hücre hatları arasında, söz konusu genlerin ifade düzeylerindeki kat değişimi oranları

Tablo 3: Cd ve Zn uygulanmış ve uygulanmamış hücre hatlarında genler arası anlamlılık düzeyi

| MCF-7 & MCF-7-Cd | P değeri |
|-----------------------------|-----------------|
| MT1H | 0,000004 |
| ABCC1 | 0,000011 |
| TOP2B | 0,000026 |
| CASP3 | 0,000034 |
| CYP3A4 | 0,000061 |
| TP53 | 0,000063 |
| BAX | 0,000067 |
| TOP2A | 0,000141 |
| TOP1 | 0,000141 |
| BIRC3 | 0,000143 |
| MT2A | 0,000184 |
| CASP8 | 0,000197 |
| CASP9 | 0,000741 |
| MCF-7 & MCF-10A | P değeri |
| TOP2A | <0,000001 |
| CYP1A1 | <0,000001 |
| MT2A | 0,000001 |
| ABCG2 | 0,000003 |
| TOP2B | 0,000045 |
| CYP3A4 | 0,000061 |
| BAX | 0,000065 |
| TOP1 | 0,000075 |
| CASP9 | 0,000081 |
| TP53 | 0,000123 |
| CASP3 | 0,000206 |
| BIRC3 | 0,000266 |
| MT1E | 0,000707 |
| CASP8 | 0,001516 |
| CASP7 | 0,010916 |

| MCF-10A & MCF-7-Zn | P değeri |
|-------------------------------|-----------------|
| ABCG2 | 0,000001 |
| CASP9 | 0,000025 |
| TOP2B | 0,000032 |
| CYP1A1 | 0,00009 |
| CASP7 | 0,000108 |
| BIRC3 | 0,000266 |
| TOP2A | 0,000278 |
| CASP3 | 0,000315 |
| CASP8 | 0,000492 |
| TP53 | 0,000631 |
| MT1E | 0,000707 |
| CYP3A4 | 0,004687 |
| TOP1 | 0,005196 |
| ABCC1 | 0,005523 |
| ABC1 | 0,007339 |
| BAX | 0,020625 |
| MT2A | 0,024053 |
| MCF-7 & MCF-7-Zn | P değeri |
| CASP9 | 0,000006 |
| CASP7 | 0,00007 |
| CYP1A1 | 0,000076 |
| CASP3 | 0,000134 |
| TP53 | 0,000248 |
| TOP2B | 0,000988 |
| BAX | 0,00131 |
| TOP2A | 0,003189 |
| ABCC1 | 0,00498 |
| TOP1 | 0,005195 |
| ABC1 | 0,007339 |
| CYP3A4 | 0,007971 |
| MT2A | 0,017512 |

| MCF-10A & MCF-7-Cd | P değeri |
|--------------------|-----------|
| CYP1A1 | <0,000001 |
| TOP2A | 0,000002 |
| ABCG2 | 0,000004 |
| MT1H | 0,000004 |
| CASP3 | 0,000051 |
| ABCC1 | 0,000074 |
| BAX | 0,000145 |
| TOP1 | 0,000152 |
| TP53 | 0,00019 |
| CASP8 | 0,000231 |
| BIRC3 | 0,000585 |
| MT1E | 0,000707 |
| CASP9 | 0,001008 |
| TOP2B | 0,001109 |
| MT2A | 0,003233 |
| CASP7 | 0,009846 |

6.TARTIŞMA

Kadmiyum, krom, kurşun, civa, nikel gibi ağır metaller sanayinin gelişimi ile beraber çevre kirleticileri olarak doğada geniş yayılım göstermektedirler. Ağır metaller oksidatif ve nitrozatif strese ve hücrelerdeki makromoleküllerde hasara neden olarak apoptozis ve nekrozis ile hücre ölümlerine sebep olurlar. Bunun bir sonucu olarak ağır metaller insanlarda çeşitli sağlık problemlerinin oluşumuna neden olmaktadır. Bu sağlık problemlerinden biriside bütün dünyada tedavi yolları aranan kanserdir. Kanser kontrolsüz hücre çoğalması ve bu esnada hücrelerin özdeşlerinden farklılaşması ve giderek vücudun çeşitli bölgelerine yayılması şeklinde tarif edilir [54]. Kansere neden olan birçok iç ve dış etken mevcuttur. Bu etkenlerden birisi olan ağır metallerin, kansere neden olduğu bilinmekle beraber moleküler mekanizması açık değildir.

Toksisitesi yüksek diğer bir ağır metal olan kadmiyum, çevrede konsantrasyonu 0,1 ila 1ppm arasında değişen, birincil olarak çinko ile birlikte bulunan, geniş bir alana yayılmış fakat seyrek bulunan bir elementtir [35,36]. Saf kadmiyum yumuşak, gümüş beyazı bir metaldir. Kadmiyum, çevrede genellikle saf metal olarak bulunmak yerine, oksijen veya sülfür gibi elementlerle bileşik halinde bulunur. Kadmiyum, 10–30 yıl arasında değişen uzun yarılanma ömrü ve vücuttaki tüm organlara dağılımı nedeni ile toksisitesi yüksek olan bir elementtir [37]. Kadmiyumun genotoksisite mekanizması tam olarak anlaşılmamakla birlikte, bazı hücrenel etkileri yapılan çalışmalarda görülmektedir. Kadmiyum maruziyetine uğramış toplumların % 50-60'lık kesimde kromozomal hasar oluştuğu gösterilmiştir [40]. Vücutta bulunan düşük düzeylerdeki kadmiyumun hücredeki mitokondriye bağlanarak hücrenel solunumu %75 oranında; oksidatif fosforilasyonu ise neredeyse tamamen inhibe ettiği gösterilmiştir [55].

Toksik metal maruziyeti biyosistemlerde direkt veya indirekt olarak serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır [40]. Reaktif oksijen türleri ve nitrojen türleri gibi serbest radikallerin birikimi karsinogenez ile ilişkili olan hücrenel redoks dengesini indüklemektedir [42]. Çeşitli çalışmalarda proteinler, epigenetik faktörler, metabolitlerde meydana gelen değişikliklerin ağır metal maruziyetinin yan etkileri ile bağlantılı olduğunu göstermektedir [56].

Etoposid ve Doksorubisin gibi kemoterapide yaygın olarak kullanılan birçok anti-kanser ajanın, Topoizomerez II' yi (TOP2A) hedefleme yetenekleri ile sitotoksik olduğu düşünölmektedir. Aynı zamanda kemoterapötikler, topoizomerez II' yi hedefleme yetenekleri yanında hastada ikincil maligniteleri indükleyebilir ve sağlıklı hücrelerde hasara neden olabilir. TOP2A geni tarafından kodlanan TOP2A proteini, DNA replikasyonu, hücre döngüsü ilerlemesinin yanı sıra kromozom segregasyonunun anahtar enzimidir. TOP2A, hücre bölünmesi için kritiktir ve tümör hücreleri gibi bölünme geçiren hücrelerde ifade düzeyi yüksektir. Tezde, Cd ile muamele edilmiş ve edilmemiş MCF-7 ve MCF-10A hücre hatlarında TOP2A geninin ekspresyon düzeyinin TOP2A geninin ifadesinin kontrol hücre hattına kıyasla 10 kat azaldığı belirlenmiştir [62].

Topoizomerez I (Top I), DNA çift sarmalının hücre döngüsü sırasında birinden ayrılmasını ve yeniden birleşmesini yani DNA topolojik yapısının ayarlanmasına sağlayan bir nükleer enzimdir. Bu enzimin inhibisyonu DNA iplikçik kırılmaları ile sonuçlanır, sonuçta apoptoza ve hücre ölümüne yol açar. Sağlıklı dokularla kıyasla tümörlerde yüksek

seviyelerde ifade edilmektedirler. Bizim bulgularımızdada yüksek ifade düzeyine sahip olduğu görülmektedir. Çinko uygulanmış hücrelerde aşırı ifade edildiği görülmektedir. Burda farklı mekanizmaların devreye girdiği görülmektedir [62].

Yine elde edilen sonuçlarda, kadmiyum ve çinko maruziyetlerinde kaspaz ifade düzeylerinde çinko' ya maruz kalan hücrelerde Kaspaz 3, Kaspaz 7 ve Kaspaz 8' de istatistiksel olarak anlamlı artış görülmektedir ($p<0,005$, $p<0,001$, $p<0,0001$). Kaspaz genleri özellikle hücrelerde programlanmış hücre ölümünden sorumludur. Bu gen ifade düzeylerindeki artış yine kanser hücrelerin apoptoza gittiğini göstermektedir [62].

Garcia- Molares ve ark. [57], MCF-7' deki östrojen reseptörü ve östrojen tarafından düzenlenmiş olan diğer genler üzerinde kadmiyumun etkilerine araştırmışlardır. MCF-7 hücrelerinin $1\mu\text{M}$ kadmiyumla uygulanması sonucunda östrojen reseptörü seviyesini %58 azalttığını görmüşlerdir. Kadmiyumun MCF-7 hücrelerinde östrojen düzenleyici genlerin ifade düzeyini 5-6 kat indüklediğini göstermişlerdir.

Kagara ve ark. [58], çinko ve onun taşıyıcısı olan ZIP10' nun meme kanseri hücrelerinin invaziv davranışında yer aldığını rapo etmişlerdir. Buna bağlı olarak ZIP10 geni ile lenf noduna metastaz yapma arasındaki ilişki üzerine çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışma sonuçlarına göre çinko ve ZIP10 hücrelerin göç aktivitesini arttırarak metastaza neden olduğunu bulmuşlardır.

Brama ve ark. [59], hormonla ilişkili kanserler üzerinde östrojenik kirleticileri ilişkilendirmişlerdir. Sonuç olarak cd'yum, östrojen bağımlı mekanizmaya etki ederek meme kanseri hücrelerinin proliferasyonunu arttırmıştır.

Lubovac-Pilav ve ark. [60], meme kanseri hücrelerini kronik kadmiyuma maruz bırakmışlardır. Kronik kadmiyum maruziyetinin hücre büyümesi, apoptoz, transkripsiyon faktör aktivitesi gibi gen ifade düzeyleri sonuçlarından elde ettikleri verilerin kanser hücrelerinin çoğalmasını teşvik ettiğini göstermişlerdir.

Metallotioninler (MT), küçük molekül ağırlıklı (6000-7000 Da), 18-23 sistein ve 61-68 aminoasit içeren stres yanıtına katılan, ağır metal bağlayan proteinlerdir [58]. İçerdikleri sülfür grupları sayesinde hücreleri osidatif stresten korurlar. Metallothioneinler kadmiyum, kurşun, civa gibi ağır metalleri bağlamaları ve çinko ve bakır gibi metallerin iyonize formlarını düzenlemeleridir [59]. Metallothionein genlerinin (MTA2, MT1X, vb.)

birçoğunun çinko (Zn) tarafından indüklendiği bilinmektedir [44,47]. Elde ettiğimiz sonuçlarda MT2A geninin Zn maruziyeti sonucunda aşırı arttığı görülmektedir. Ancak Kadmiyuma maruz kalan hücrelerdeki gen ifade düzeyindeki artış çinko maruziyetindeki kadar yüksek değildir. Bu durum bize kadmiyum maruziyetiyle kanser hücrelerinin çoğalmaya teşvik edildiğini göstermektedir.

Yine elde edilen sonuçlarda BIRC3 geninin kadmiyum maruziyeti sonucu aşırı ifade edildiği görülmektedir. BIRC3'ün, Kaspaz-3 üzerindeki inhibisyon etkisi ile apoptozu bastırdığı bilinmektedir [56]. Sonuçlarımızda kadmiyuma maruz bırakılan kanser hücrelerinde BIRC3 aktivitesinin artış gösterdiği tespit edilmiştir.

2003 yılında Cherian ve ark. [57], ise insan vücudunda metallothioneinlerin büyük çoğunluğu karaciğer ve böbreklerden sentezlenir. Metallothioneinlerin fonksiyonlarında veya ekspresyonlarında meydana gelecek olan bozukluklar malign transformasyonuna ve sonuçta kansere neden olabilmektedirler. Yapılan çalışmalar; bazı meme, kolon, böbrek, karaciğer gibi kanserlerde metallothioneinlerin ekspresyonunda artış olduğunu göstermiştir.

2009 yılında Prasad ve ark. [61], çinkonun sadece hücre aracılı bağışılık fonksiyonlarını geliştirmediğini aynı zamanda bir antioksidan ve anti-enflamatuar ajan olarak görev yaptığını ifade etmiştir. Oksidatif stres ve kronik inflamasyon birçok kanserin gelişmesinde rol oynamaktadır. Baş ve boyun kanseri olan hastaların yaklaşık %65'inin hücresel çinko konsantrasyonunda çinkonun eksik olduğunu belirtmişlerdir. Yaptıkları çalışmalarda çinko takviyesinin kanser hücrelerinde apoptozu arttırdığını göstermişlerdir.

7. SONUÇ

Bu tez çalışmasında sunulan sonuçlar, kadmiyumun meme kanseri üzerindeki hücresel ve moleküler etkilerine dair temel bilgiler sunmakta ve meme kanserinin ilerlemesini teşvik eden olası bir mekanizma olarak kronik kadmiyum maruziyetinin çalışılmasının önemini vurgulamaktadır. Bu veriler, maruziyet sonucunda enzimleri kodlayan genlerin sentezlenmesinin, doğası hala tespit edilemeyen farklı mekanizmaların kontrolü altında olduğunu göstermektedir.

Gelecek alışmalar için amacımız Mikroarray alışması yaparak bütün gen ifade düzeylerini belirlemek ve farklı sinyal yolaklarından kaynaklanan temel mekanizmaları daha ayrıntılı bir şekilde açığa çıkarmaktır.



KAYNAKLAR

- [1]. <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/treatment/hormone-therapy-for-breast-cancer.html>, [Ziyaret tarihi 30.06.2018].
- [2]. Alpsyoy, A., 2014, *The Roles of Protein Kinase D2 in Chemoresistant Breast Cancer Cell Lines*, .
- [3]. <http://www.tmhdf.org.tr/>, [Ziyaret tarihi 01.06.2018].
- [4]. <http://www.bakirkoyrenkliultrason.com/tiroid/37-saglik-rehberi/meme-kanseri>, [Ziyaret tarihi 28.06.2018].
- [5]. Karabekir, G., Demircan, G., Özdaş, Ş., 2017, *Resveratrolün MCF-7 hücre soyunda apoptotik etkinin araştırılması*, FNG & Bilim Tıp Dergisi, 3(1), 27-34.
- [6]. Koyunoğlu, F., Tekin, S., Konar, V., Sandal, S., 2013, *İnsan Meme Kanseri Hücre Serileri (MCF-7) Üzerine Apelin-13'ün Etkilerinin Araştırılması: In Vitro Bir Çalışma*, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 1, 23-28.
- [7]. Öztürk, M., 2006, *Meme Kanserinin Genetiği ve Risk Faktörleri*, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitim Etkinlikleri, 15-26.
- [8]. Dunn, B.K., Agurs-Collins, T., Browne, D., Lubet, R., Johnson, K.A., 2010, *Health disparities in breast cancer: biology meets socioeconomic status*, Breast Cancer Research and Treatment, 121(2), 281–292.
- [9]. Takruri, H.R., Shomaf, M.S., Shnaigat, S.F., 2017, *Multi Floral Honey Has a Protective Effect Against Mamary Cancer Induced by 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene in Sprague Dawley Rats*, Journal of Agricultural Science, 9(2), 196-204.
- [10]. Erdoğan, B., 2015, *Meme Kanseri Hastalarında Vücut Kitle İndeksinin Klinik Özellikler ve Sağlık İlişkisi*, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara.
- [11]. Aydoğan, F., Arıkan A.E., Aytaç, E., Velidedeoğlu, M., Yılmaz, M.H., Sager, M.S., Çelik, V., Uras, C., 2016, *Sentinel Lymph Node Biopsy Under Fluorescent Indocyanin Green Guidanc: Initial Experience*, Ulus Cerrahi Derg., 32(1), 50-53.
- [12]. Abudayyak, M., Yalçın, C.Ö., Korkut, E., 2018, *Kemoterapi ile İndüklenmiş Periferel Nöropatinin Tedavisi ve Önlenmesine Yönelik Farmakolojik Yaklaşımlar*, FABAD J. Pharm. Sci., 43,2,113-127.
- [13]. Cuzick, J., Stewart, H., Rutgvist, L., Edwards, R., Remond, C., Peto, R., Baum, M., Fisher, B., Host, H., 1994, *Cause-specific Mortality in Long-term Survivors of Breast Cancer Who Participated in Trials of Radiothrepy*, J Clin Oncol., 12(3), 447-53.

- [14]. <https://www.labistanbul.com.tr/aromataz-inhibitoru.html>, [Ziyaret tarihi 26.05.2018].
- [15]. Cengiz, B., Demirel, C., Kurtay, G., 2002, *Selektif Östrojen Reseptör Modülatörlerinin Klinik Kullanımı*, Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst., 12(1), 1-7.
- [16]. Bulca, S., 2010, *Östrojen Reseptör Alfa Geni XBA I ve PVU II Polimorfizimlerinin Postmenopozal Osteoporozlu Hastalarda İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- [17]. Bese, T., Simsek, Y., Ilvan, S., Arvas, M., 2003, *Extensive Pelvic Endometriosis with Malignant Change in Tamoxifen-treated Postmenopausal Women*, International Journal of Gynecological Cancer.
- [18]. <https://www.healthcentral.com/article/zoladex-and-lupron-faq-hormone-therapy-for-breast-cancer>, [Ziyaret tarihi 27.04.2018].
- [19]. Avcu, F., 2005, *Hematolojik Malignatilerde İlaç Direnç Mekanizmaları*, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Hematoloji Bilim Dalı, Ankara.
- [20]. https://en.wikipedia.org/wiki/Antineoplastic_resistance, [Ziyaret tarihi 16.04.2018].
- [21]. Tuncer, S., 2014, *Çoklu İlaç Dirençli Kanser Hücre Hattına Nanopartiküllerle İlaç Aktarımı*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- [22]. Pala-Kara, Z., Öztürk, N., Öztürk, D., Okyar, A., 2013, *ABC Taşıyıcı Proteinleri: Sirkadiyen Ritimler ve Cinsiyete Bağlı Farklılıklar*, MÜSBED, 3(1), 1-13.
- [23]. Kerr, J.F., Whillie, A.H., Currie, A.R., 1972, *Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon With Wide- Ranging Implications in Tissue Kinetics*, Br J Cancer, 26(4), 239-57.
- [24]. Cohen, J.J., 1998, *Apoptosis To be or not to be*, Postgraduate Syllabus (AA-AA-I), 1, 1-19.
- [25]. Öktem, S., Özhan, M.H., Özol, D., 2001, *Apoptozisin Önemi*, Toraks Dergisi, 2(1), 91-95.
- [26]. Abou-Ghali, M. and Stiban, J., 2015, *Regulation of ceramide channel formation and disassembly: Insights on the initiation of apoptosis*, Saudi J Biol Sci., 22(6), 760–772.
- [27]. Thomas, A., El Roubay, S., Rees J.C., Krajewski, S., Silber, R., Potmesil, M., Newcomb, E.W., 1996, *Drug-induced Apoptosis in B-cell Chronic Lymphocytic Leukemia: Relationship Between p53 Gene Mutation and bcl-2/bax Proteins in Drug Resistance*, Oncogene, 12(5), 1055-1062.
- [28]. Nordberg, M., 1998, *Metallothioneins: historical review and state of knowledge*, Talanta, 46, 243-254.

- [29]. Miles, A.T., Hawksworth, G.M., Beattie, J.H. and Rodilla, V., 2000, *Induction, Regulation, Degradation, and Biological Significance of Mammalian Metallothioneins*, *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 35(1), 35–70.
- [30]. Jacob, S.T., Majumder, S., Ghoshal, K., 2002, *Suppression of metallothionein-I/II expression and its probable molecular mechanisms*, *Environ Health Perspect*, 110 (5S), 827-30. 24.
- [31]. Saga, Y., Hashimoto, H., Yachiku, S., et. Al., 2002, *Immunohistochemical expression of metallothionein in human bladder cancer: correlation with histopathological parameters and patient survival*, *J Urol*, 168, 2227-31.
- [32]. Berg, J.M., Shi, Y., 1996, *The galvanization of biology: A growing appreciation for the roles of zinc*. *Science*, 271, 1081-1085.
- [33]. Cousins, R.J., 1996, *Present Knowledge in Nutrition*, International Life Science Institute-Nutrition Foundation, Pp.293–306.
- [34]. Belgemen, T., Akar, N., 2004, *Çinkonun yaşamsal fonksiyonları ve çinko metabolizması ile ilişkili genler*, *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 161-166.
- [35]. Elinder, C.G., 1985, *Cadmium: uses, occurrence and intake*. In: *Cadmium and Health: A Toxicological and Epidemiological Appraisal*, Vol I: Exposure, Dose, and Metabolism. Effects and Response (Friberg L, Elinder CG, Kjellstrom T, Nordberg GF, eds), Boca Raton, FL, CRC Press, 23-64.
- [36]. IARC. 1993b, *Cadmium and Cadmium Compounds*, IARC Monogr Eval Carcinog Risks Human, 58, 119-237.
- [37]. Jarup, L., Berglund, M., Elinder, C.G., Nordberg, G., Vahter, M., 1998, *Health effects of cadmium exposure—A review of the literature and a risk estimate*, *Scand. J. Work. Environ. Health.*, (Suppl. 1), 24,1 – 51.
- [38]. Nordberg, M., Jin, T., Nordberg, G.F. 1992, *Cadmium, metallothionein and renal tubular toxicity*, *IARC Sci Publ.*, 293-297.
- [39]. Beyersmann, D. and Hartwig, A., 2008, *Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms*, *Arch Toxicol*, 82(8), 493-512.
- [40]. Jomova, K. and Valko M., 2011, *Advances in metal-induced oxidative stress and human disease*, *Toxicology*, 10;283(2-3),65-87.
- [41]. Fowler, B.A., 1978, *General subcellular effects of lead, mercury, cadmium, and arsenic*, *Environ. Health Perspect.*, 22, 37-41.

- [42]. Poli, G., Leonarduzzi, G., Biasi, F., Chiarpotto, E., 2004, *Oxidative Stress and Cell Signalling Current Medicinal Chemistry*, pp. 1163-1182(20).
- [43]. Schroeder, H.A. and Nason, A.P., 1974, *Interactions of Trace Metals in Rat Tissues. Cadmium and Nickel with Zinc, Chromium, Copper, Manganese, The Journal of Nutrition*, 104(2);167–178.
- [44]. Vual, N., 1984, *Toksikoloji*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Yayınları, Ankara.
- [45]. http://www.who.int/ifcs/documents/forums/forum5/nmr_cadmium.pdf, [Ziyaret tarihi 18.04.2018].
- [46]. <http://app.csgb.gov.tr/isggm/oshaturkey/sunumlar/116.pdf>, [Ziyaret tarihi 16.03.2018].
- [47]. Cobbett, C. and Goldsbrough, P. 2002, *Phytochelatin and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis*, *Annu Rev Plant Biol.*, 53, 159-82.
- [48]. Zhou, J. And Goldsbrough, P.B., 1994, *Functional homologs of fungal metallothionein genes from Arabidopsis*, Published.
- [49]. Cherian, M., 2003, *İnsan tümörlerinde metalogenezinler ve karsinojenezde potansiyel roller*, *Mutasyon Araştırmaları / Mutajenezin Temel ve Moleküler Mekanizmaları*, 533 , 201–209.
- [50]. Yıldız, M., Cenkci, S., Terzi, H., 2012, *Fitoşelatinler ve metallothioneinler: Moleküler Yaklaşımlar*, *AKU J. Sci.*, 1-16.
- [51]. Foley, R.C., Liang, Z.M., Singh K.B., 1997, *Analysis of type 1 metallothionein cDNAs in Vicia faba*, *Plant Mol Biol.*, 33, 583–591.
- [52]. Klaassen, C.D., Liu, J., Choudhuri, S., 1999, *Metallothionein: an intracellular protein to protect against cadmium toxicity*, *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 39, 267-94.
- [53]. Thornalley, P.J., Vasak, M., 1985, *Possible Role for Metallothionein in Protection Against Radiation-Induced Oxidative Stress. Kinetics and Mechanism of Its Reaction With Superoxide and Hydroxyl Radical*, *Biochim Biophys Acta.*, 827, (1), 36-44.
- [54]. Klaassen, Curtis D., 2008, *Casarett and Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons*, Kansas City.
- [55]. Becker, E.B.E., Bonni, A., 2006, *Pin1 Mediates Neural-Specific Activation of the Mitochondrial Apoptotic Machinery*, *Neuron*, 655-662.

- [56]. Lee, J.Y., Tokumoto, M., Hwang, G.W., Lee, M.Y. and Satoh, M., 2017, *Identification of ARNT-regulated BIRC3 as the target factor in cadmium renal toxicity*, Scientific Reports, 7, 17287.
- [57]. Garcia-Molares, P., Saceda, M., Kenney, N., Kim, N., Saloman, D.S., Gottardis, M.M., Solomon, H.B., Sholler, P.F., Jordan, V.C. and Martin, M.B., 1993, *Effect of Cadmium on Estrogen Receptor Levels and Estrogen-induced Responses in Human Breast Cancer Cells*, The journal of Biological Chemistry, 269 (24), 16896-16901.
- [58]. Kagara, N., Tanaka, N., Noguchi, S., Hirano, T., 2007, *Zinc and Its Transporter ZIP10 are Involved in Invasive Behavior of Breast Cancer Cells*. Cancer Sci , 98 (5), 692-697.
- [59]. Brama, M., Gnassi, L., Basciani, S., Cerulli, N., Politi, L., Spera, G., Mariani, S., Cherubini, S., d'Abusco, A.S., Scandurra, R., Migliaccio, S., 2007, *Cadmium Induces Mitogenic Signaling in Breast Cancer Cell by an Era-dependent Mechanis*, Elsevier, vol.264 (1-2),102-108.
- [60]. Lubovac-Pilav, Z., Borràs, D.M., Ponce, E., Louie, M.C., 2010, *Correction: Using Expression Profiling to Understand the Effects of Chronic Cadmium Exposure on MCF-7 Breast Cancer Cells*, PLOS ONE, 9(1), 10.1371.
- [61]. Parasad, A.S., Beck, F.W.J., Snell, D.C., Küçük, Ö., 2009, *Zinc in Cancer Prevention*, Journal, 61, 879-887.
- [62]. Yalçın, S., 2010, *IL-6 Polimorfizminin Doku Metal Düzeylerine Etkisi*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- [63]. Bahadır, F., 2008, *Östrojen Reseptörü Negatif İnvaziv Meme Karsinomlarının Morfolojik-İmmunofenotipik Analizi Ve Yeni Fonksiyonel Meme Karsinomu Sınıflandırmasındaki Yeri*, T.C. Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarı, İstanbul.
- [64]. Jarup, L., Elinger, C-G., Spang, G., 1998, *Cumulative blood-cadmium and tubular proteinuria: A dose-response relationship*, Int Arch Occup Environ Health, 60, 223–229.
- [65]. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/2014-RAPOR._uzuuun.pdf
- [66]. https://en.wikipedia.org/wiki/BRCA_mutation, [Ziyaret Tarihi 15.06.2018].
- [67]. <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5554.html>, [Ziyaret Tarihi 12.05.2018].
- [68]. <http://www.medikalteknik.com.tr/akciger-kanseri-tedavisinde-yeni-bir-yontem-intratatumoral-kemoterapi/>, [Ziyaret Tarihi 28.07.2018]

[69]. <https://www.uniprot.org/uniprot/O60281>, [Ziyaret Tarihi 20.07.2018].



ÖZGEÇMİŞ

| Kişisel Bilgiler | |
|------------------|----------------------------|
| Adı Soyadı | Özlem ÖZLÜER |
| Doğum Yeri | Kayseri |
| Doğum Tarihi | 25.08.1990 |
| Uyruğu | T.C. |
| Telefon | 05539334569 |
| E-Posta Adresi | Ozlemim2527@windowlive.com |

| Eğitim Bilgileri | |
|------------------|----------------------|
| Lisans | |
| Üniversitesi | Erciyes Üniversitesi |
| Fakülte | Fen Fakültesi |
| Bölümü | Biyoloji Bölümü |
| Mezuniyet Yılı | 2012 |

| Yüksek lisans | |
|----------------|------------------------|
| Üniversitesi | Ahi Evran Üniversitesi |
| Enstitü Adı | Fen Fakültesi |
| Ana Bilim Dalı | İleri Teknolojiler |
| Mezuniyet yılı | Devam Etmekte |

| Makale Ve Bildiriler |
|--|
| 6.Ulusal Tarım Öğrenci Kongresi Ankara Üniversitesi 04-06.05.2016 Poster Yalçın, S., Özlüer, Ö., Gündüz, U. 2016,Nanoparticle-based drug delivery in cancer: the role of cell membrane structures, Therapeutic Delivery, 10.4155. |

Özlüer, Ö., Yalçın, Serap, Gündüz,U. 2016, Nanoparticles based drug delivery systems to overcome multidrug resistance in cancer: the role of membrane lipids, proteins and carbohydrates, WITAM Congress, Kırşehir.

Yalçın, S., Özlüer, Ö., 2018, Determination of topoisomerase IIA (TOP2A) gene expression in cadmium(cd) treated cell lines. BILMES Congress, Nevşehir.

