ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÖĞÜS KANSERİ VE HİPERLİPİDEMİLİ KADINLARDA P53 GEN POLİMORFİZMİNİN MOLEKÜLER VE BİYOKİMYASAL ÇALIŞMASI

Hadeel Ali Shamkhi AL-HUSSEINAWI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2021

Her hakkı saklıdır

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliğine göre hazırlamış olduğum "**Göğüs Kanseri Ve Hiperlipidemili Kadınlarda P53 Gen Polimorfizminin Moleküler Ve Biyokimyasal Çalışması**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programıyla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliğine ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim. (30/10/2021).

Hadeel Ali Shamkhi AL-HUSSEINAWI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GÖĞÜS KANSERİ VE HİPERLİPİDEMİLİ KADINLARDA P53 GEN POLİMORFİZMİNİN MOLEKÜLER VE BİYOKİMYASAL ÇALIŞMASI

Hadeel Ali Shamkhi AL-HUSSEINAWI

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Eş Danışman: Dr. Mushtaq TALİB

Göğüs kanseri, kalıtımsal, biyokimyasal değişiklikler ve fizyolojik bozuklukların yanı sıra çevresel ve yeme alışkanlıklarının etkileri gibi çeşitli nedenlere bağlı olduğu için Asyalı kadınlar, özellikle Iraklı kadınlar arasında yaygın bir hastalıktır. Bu çalışmanın odağı, en önemlileri tiroit bozuklukları ve kan plazmasındaki lipit seviyeleri olan bu değişikliklerden bazılarının araştırılmasına ve ayrıca p53 geninin polimorfizmi başta olmak üzere moleküler düzeydeki değişikliklerin incelenmesi üzerinedir. 100 kişiden oluşan örneklem için göğüs kanseri olan kadınlar içinden 50 örnek ve kontrol grubu olarak sağlıklı kadınlar içinden 50 örnek alınmıştır. Toplam Kolesterol, Trigliseritler ve lipoproteinlerin konsantrasyonunu ölçmek amacıyla biyokimyasal yöntemler benimsenmiş ve tiroit hormonlarının (T3, T4 ve TSH) konsantrasyonunun ölçülmesi amacıyla ELISA tekniği benimsenmiştir. Etkilenen kadınlarda hem bazı önemli biyokimyasal değişiklikler hem de moleküler düzeyde değişiklikler olmuştur.

2021, 72 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Göğüs Kanseri, Lipidler, Tiroid bozuklukları, p53 geni

ABSTRACT

Master of Science Thesis

MOLECULAR AND BIOCHEMICAL STUDY OF P53 GENE POLYMORPHISM İN WOMEN WITH BREAST CANCER AND HYPERLIPIDEMIA

Hadeel Ali Shamkhi AL-HUSSEINAWI

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Co-advisor: Dr. Mushtaq TALİB

Breast cancer is a common disease among Asian women, especially Iraqi women, as it is due to a variety of causes, including heredity, biochemical changes, and physiological disturbances, as well as the effects of environmental and eating habits. The focus of this study is on investigating some of these changes, the most important of which are thyroid disorders and lipid levels in blood plasma, as well as examining changes at the molecular level, particularly the polymorphism of the p53 gene. For the sample consisting of 100 people, 50 samples were taken from women with breast cancer and 50 samples from healthy women as the control group. Biochemical methods were adopted to measure the concentration of Total Cholesterol, Triglycerides, and lipoproteins, and ELISA technique was adopted to measure the concentration of thyroid hormones (T3, T4, and TSH). Affected women had some significant biochemical changes as well as changes at the molecular level.

2021, 72 pages

Keywords: Breast Cancer, Lipids, Thyroid disorders, p53 gene **ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR**

Çalışmalarım boyunca desteği, teşviki ve sürekli rehberliği için danışmanım Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK'e en derin şükranlarımı ve en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Çankırı Karatekin Üniversitesinde görev yapan tüm hocalarıma ve tüm çalışanlara özel olarak teşekkür ederim. Beni bugün olduğum kişi olarak yetiştiren sevgili babama ve harika anneme de tüm kalbimle özel olarak teşekkür ederim. İyi ve zor zamanlarımda her adımda benimle oldular. Hayatım boyunca bana yardım eden herkese çok teşekkür ederim. Çalışmamı tamamlamama yardımcı olan tüm hastalara özel olarak teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Hadeel Ali Shamkhi AL-HUSSEINAWI Çankırı, Temmuz 2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... i ABSTRACT ..... ii ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... iii İÇİNDEKİLER ..... iv SİMGELER DİZİNİ ..... vi ŞEKİLLER DİZİNİ ..... vii ÇİZELGELER DİZİNİ ..... viii 1. GİRİŞ ..... 1 2. KURAMSAL BİLGİLER 5

2.1 Göğüs Kanseri ..... 5 2.2 Göğüs Kanserinin Genel Türleri 5

2.2.1 In situ ductal karsinom (DCIS) ..... 5 2.2.2 In situ lobüler karsinom (LCIS, lobüler neoplazi olarak da bilinir) 6

2.3 Göğüs Kanseri İçin TNM Sınıflandırması ..... 6 2.4 Göğüs Kanserinin Moleküler Alt Türleri 7

2.4.1 Luminal A ..... 7 2.4.2 Luminal B ..... 7 2.4.3 Bazal benzeri ..... 8 2.4.4 Zenginleştirilmiş HER2 8

2.5 Risk Faktörleri 8

2.5.1 Kişisel ve aile öyküsü 9

2.6 Lipit Profili ..... 14 2.7 Lipit ve Göğüs Kanseri ..... 16 2.8 Tiroid Hormonları ..... 17 2.9 Tiroid ve Lipit ..... 18 2.10 Göğüs Kanseri ve Tiroid Hastalıkları ..... 19 2.11 p53 ve Tiroid Bozukluğu 21

3. MATERYAL VE YÖNTEM 22

3.1 Çalışma Grupları ..... 22 3.2 Ekipman 22

3.2.1 Kullanılan malzemeler ..... 22 3.2.2 Reaktifler ve kimyasallar ..... 23 3.2.3 Çalışmada kullanılan kitler 24

3.3 Yöntemler 24

3.3.1 Kan Örneklerinin Toplanması.....24
3.3.2 Lipitprofilinin Belirlenmesi.....24
3.3.3 HDL-Kolesterolün Belirlenmesi.....28
3.3.4 Tiroid Hormonlarının Belirlenmesi.....30
3.3.5 (ELISA) Testi İle Triiodothyronine (t3) Hormonunun Belirlenmesi.....33
3.3.6 (ELISA) TESTİ ile L-Tiroksin (T4) Hormonunun Belirlenmesi 36

3.4 Moleküler Saptamalar ..... 39 3.5 Agaroz Jeli Hazırlanması ..... 40 3.6 KAPA Evrensel DNA Merdiveni ..... 42 3.7 PCR ASPCR ile p53 Geninin Belirlenmesilokus 72'de p53 Genotiplemesi ..... 42 3.8 İstatistiksel Analiz 46

4. TARTIŞMA ..... 47 5. SONUÇ 52
KAYNAKLAR 60

ÖZGEÇMİŞ 72

SİMGELER DİZİNİ

ADH	Atipik Duktal Hiperplazi
ALH	Atipik Lobüler Hiperplazi
AITD	Tiroit bezinin otoimmün hastalıkları
CTLA-4	Sitotoksik T lenfosit ilişkili protein-4

DCIS	In Situ Duktal Karsinom
DIT	Diiyodotirozin
DOGÜ	Düşük ve Orta Gelirli Ülkeler
Erα	Östrojen Reseptörü α
ERE	Östrojen Yanıt Öğesi
ER	Östrojen Reseptörleri
FFA	Serbest Yağ Asitleri
GK	Göğüs Kanseri
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HER2	İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2
HPT	Hipotalamik Hipofiz Tiroit
LCIS	In Situ Lobüler Karsinom
LDL-C	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
MIT	Mono İyodo Tirozin
MAPK	Mitojen Aktive Edilmiş Kinaza Bağımlı Protein
NE	Norepinefrin
THs	Tiroit Hormonları
T4	Tiroksin
TG	Triasilgliserol
TSH	Tiroit Uyarıcı Hormon
TPO	Tiroit Peroksidaz
Tg	Tiroglobulin
T3	Triiodotironin Hormonu
TBG	Tiroksin Bağlayıcı Globulin
VLDL-C	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Tsh İçin Standart Eğri 33
Şekil 3.2 T3 İçin Standart Eğri 36
Şekil 3.3 T4 İçin Standart Eğri 39
Şekil 3.4 Elektroforez Sisteminin Çalışması 41
Şekil 3.5 Kapa Evrensel Merdiven Kiti 42
Şekil 3.6 P53 Arg Genotipinin Pcr Ürünleri, Bant Boyutu 144 Bp 45
Şekil 3.7 P53 Pro Genotipinin Pcr Ürünleri, Bant Boyutu 176 Bp 45

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Çalışmada Kullanılan Malzemeler 23
Çizelge 3.2 Çalışmada Kullanılan Genel Reaktifler Ve Kimyasallar ..... ……23
Çizelge 3.3 Çalışmada Kullanılan Kitler…….....24
Çizelge 3.4 Elektroforez Sisteminin Çalışması…….....25
Çizelge 3.5 Kolesteroliçin Çalışma Aşamaları 26
Çizelge 3.6 Trigiliserit İçin Reaktif Hazırlanışı……..27
Çizelge 3.7 Hdl İçin Çalışma Reaktifleri 28
Çizelge 3.8 Hdl İçin Çalışma Prosedürü 29
Çizelge 3.9 Hdl İçin Çalışma Yöntemi 29
Çizelge 3.10 Tsh' In Belirlenmesi İçin Kullanılan Malzemeler 31
Çizelge 3.11 T3 Hormonunun Belirlenmesi İçin Kullanılan Malzemeler 34
Çizelge 3.12 T4 Hormonun Belirlenmesi İçin Kullanılan Malzemeler 37
Çizelge 3.13 Genomik Dna Mini Kitinin Kit İçeriği 39
Çizelge 3.14 P53 Pro'nun Saptanmasında Kullanılan Primer Dizisi 433
Çizelge 3.15 P53 Arg Saptanmasında Kullanılan Primer Dizisi..... 44
Çizelge 3.16 Termo Döngü Cihazlarında Uygulanan Pcr Programı 44
ÇİZELGE 5.1 ÇALIŞMA POPÜLASYONUNUN GENEL ÖZELLİKLERİ 52
ÇİZELGE 5.2 İNCELENEN GRUPLARDA KOLESTEROL KONSANTRASYONU ..... 54 **ÇİZELGE 5.3** TRİASİLGLİSEROLÜN ÇALIŞILAN GRUPLARDA KONSANTRASYONU ..... 54 **ÇİZELGE 5.4** İNCELENEN GRUPLARDA YÜKSEK YOĞUNLUKLU LİPOPROTEİN-
KOLESTEROL KONSANTRASYONU 55
ÇİZELGE 5.5 ÇALIŞILAN GRUPLARDA DÜŞÜK YOĞUNLUKLU LİPOPROTEİN KONSANTRASYONU..... 55
ÇİZELGE 5.6 ÇALIŞILAN GRUPLARDA ÇOK DÜŞÜK YOĞUNLUKLU LİPOPROTEİN KONSANTRASYONU..... 56
ÇİZELGE 5.7 ÇALIŞILAN GRUPLARDA TİROİD FONKSİYON TESTLERİ 56
ÇİZELGE 5.8 ÇALIŞILAN GRUPLARDA TİROİD BOZUKLUKLARI 57
ÇİZELGE 5.9 ARAŞTIRILAN GRUPLARDA P53 CODON 72 GENOTİPİNDE GENOTİP DAĞILIMI VE ALEL FREKANSI 57
ÇİZELGE 5.10 P53 GENOTİPLERİNE GÖRE GÖĞÜS KANSERİ VE SAĞLIKLI GRUBU İÇİN

OLASILIK ORANI 59
ÇİZELGE 5.11 P53 GENOTİPLERİNE GÖRE GÖRECELİ GÖĞÜS KANSERİ VE SAĞLIKLI GRUBU RİSKİ..... 59

1. GİRİŞ

Göğüs kanseri, kadınlar arasında dünyadaki en yaygın kanser türü olmakla beraber her iki cinsiyette de görülen akciğer kanserinden sonra en yaygın ikinci kanser türüdür. 2012 yılında, dünya çapında tüm kanserlerin yüzde 25'ini oluşturan göğüs kanseri hastalarına bağlı tahmini 1.67 milyon hasta kaydedilmiştir. Göğüs kanserinin gelişmekte olan bir ülke hastalığı olduğu inancı, düşük ve orta gelirli ülkelerde (DOGÜ'ler) göğüs kanserlerinin yaklaşık yüzde 50'si ve ölümlerin yüzde 60'ı göz önüne alındığında değişmektedir. Dünya çapında göğüs kanseri vaka sayıları, Güney Afrika'daki 100.000 kadında 27'lik düşük oranlardan, Kuzey Amerika'daki 100.000 kadından yaklaşık 92'sinden önemli ölçüde değişmektedir (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı GLOBOCAN 2012). Bununla birlikte, görülme sıklığı DOGÜ'lerde giderek artmaktadır ve bunun yanı sıra rahim ağzı kanseri de en sık teşhis edilen kanser türü olarak kabul edilmektedir (Ferlay *et al.* 2010, Agba *et al.* 2012).

Moleküler düzeyde, birçok çalışma, malign hücrelerin stromal ortamının kritik bir unsuru olan yağ dokularının, göğüs kanseri hücreleri üzerinde tümör teşvik edici etkilere sahip olduğunu da göstermiştir. Yağ dokusu ve adipositlerin tümör oluşumunu nasıl teşvik ettiğine dair birkaç teori olmakla beraber, bu etkileşimin altında yatan moleküler mekanizmalar henüz net bir şekilde belirlenmemiştir (Park *et al.* 2014).
Hücre bütünlüğünü korumada lipitlerin kanserdeki rolü iyi bilinmektedir (Nieman *et al.* 2013).

Olgun yağ dokuları, beyaz yağ hücrelerinin ana hücre tipidir ve temel olarak vücudun metabolik homeostazından sorumludur. Lipitler burada triasilgliserol (TAG) formunda işlenir ve talep edildiğinde serbest yağ asitleri (FFA) olarak salınır. Yağ hücreleri, enerji işlemeye ek olarak, hormonları, adipokinleri, sitokinleri ve hücre proliferasyonunu salgılayarak diğer vücut dokularına endokrin sinyal göndermede de aktif rol alırlar (Louie *et al.* 2013). Göğüs kanseri vakalarında serum kan lipidlerinde herhangi bir değişiklik olması, temel risklerini artırabilir ve hastalığın değerlendirilmesi ve teşhisinde yardımcı olabilir (Kim *et al.* 2009).

Çelişkili bulgularla birlikte kolesterol ve kanser riski arasındaki ilişkiyi inceleyen birkaç epidemiyolojik araştırmacıya göre kolesterol ve plazma lipitlerindeki (genellikle yetersiz beslenme veya obezitenin neden olduğu) değişiklikler, göğüs kanseri de dahil olmak üzere kötü huylu tümörler için risk faktörleri olarak kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır (Danilo and Frank 2012).

Yüksek plazma kolesterolünün göğüs kanserindeki rolü ile ilgili bilgiler, farelerde hiperkolesteroleminin indüksiyonu gibi göğüs kanseri büyümesinin artmasıyla sonuçlanan, hiperkolesteroleminin tümör teşvik edici etkilerini düşündüren son deneysel çalışmalardan da elde edilmiştir (Pelton *et al.* 2014). Bazı çalışmalarda göğüs kanseri riskiyle ilişkilendirilen daha düşük yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL-C) kolesterol düzeyleri genellikle beraberdir (Kim *et al.* 2009).

Bununla birlikte, plazma HDL-C ile göğüs kanseri insidansı arasındaki bağlantıya dair kanıtlar belirsizliğini korumakta ve düşük HDL-C'nin tümörijenezi nedensel olarak tetikleyip tetiklemediği veya sağlıksız yaşam tarzı ve diyet modellerinin biyolojik bir öngörücüsü olup olmadığı net değildir (Danilo and Frank 2012). Tiroit disfonksiyonu ile göğüs kanseri (GK) arasındaki ilişki üzerine tartışmalar vardır. Birkaç epidemiyolojik çalışma GK ve tiroit hastalıkları arasında bir bağlantı olduğunu belgelemiştir (Goldman 1990). Ayrıca tiroit hormonlarının göğüs epitel hücre büyümesini kontrol etmedeki rolünü gösteren çalışmalar, tiroit hastalığı ile göğüs kanseri riski arasındaki ilişkiyi desteklemektedir (Simon *et al.* 2002).

Birkaç çalışmada ayrıca tiroit hormonlarının kanser gelişimini destekleyebileceğini göstermiş ve ayrıca hipotiroidizmin göğüs kanserinin seyrini faydalı bir şekilde etkilediğine dair klinik kanıtlar vardır (Cristofanilli *et al*., 2005, Sogaard *et al*. 2016).
Tiroit hormonları, memelilerin büyümesini, hücre farklılaşmasını ve metabolizmasını kontrol etmede rol oynar, özellikle göğüs kanseri olanlar (GK) dâhil olmak üzere insan tümörlerinden izole edilmiş çekirdekler, (T3) için yüksek afiniteli bağlanma bölgeleri tanımlanmıştır, bu da tiroid hormonlarının hücresel düzeyde GK üretiminde bir rol oynayabileceğini göstermektedir (Ditsch *et al.* 2010). T3'ün, epitelyal büyüme faktörü

reseptörü (EGF-r) gen ekspresyonunu artırarak insan hücrelerinin belirli hatlarında mitojenik bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Göğüs hücrelerinde, gen transkripsiyonu ve hücre proliferasyonu için gerekli olan östrojen yanıt öğesi (ERE) de T3 tarafından tetiklenebilir (Hall *et al.* 2008). Benzer şekilde tiroksin (T4), östradiol gibi MAPK yolunu uyarabilir ve böylece hücre çoğalmasını teşvik edebilir (Oh *et al*. 2005). Ek olarak, göğüs hücreleri üzerinde benzer bir etkinin tiroid uyarıcı hormon (TSH) olduğu bulunmuştur. TSH reseptörleri yakın zamanda BC dokusunda RT-PCR kullanımıyla tanınmıştır (Tang *et al.* 2004).

Protein p53 tümör baskılayıcı, genom bütünlüğünün korunmasında önemli bir oyuncudur ve kanserin gelişmesine karşı korunmada köklü bir role sahiptir. P53 yolunun anormal işlevi, göğüs kanseri gibi birçok insan kanserinin ayırt edici bir özelliğidir (Vousden and Lane 2007). P53'ün aktivitesinde dramatik bozukluklara neden olan P53 gen mutasyonları genellikle göğüs kanserinde görülmekte ve klinik fenotiplerle ilişkilendirilmektedir (Whibley *et al.* 2009).

Kodon 72'nin polimorfizmi, genel popülasyonda arginin R72'yi bir praline P72 dönüştüren normal bir değişikliktir ve protein yapısında büyük bir değişikliğe neden olur (Mantovani *et al.* 2019). Hücresel ve moleküler düzeyde, Arg alelinin Pro allelinden farklı özelliklere sahip olduğunu gösteren artan bir kanıt kütlesi vardır (Khan *et al.* 2015). P53 kodon 72 polimorfizmi ve göğüs kanseri vakası arasındaki bağlantıyı keşfetmek için birçok insan örneğinde çeşitli deneyler yapılmıştır.

Pek çok çalışma, R72 p53 allelinin artmış göğüs kanseri riski ile ilişkili olduğunu bulmuştur (Petitjean *et al*. 2007). İkinci pozisyonda ekson 4'te kodon 72'de G nükleotidinin C nükleotidine bir transversiyon polimorfizmi, arginin yerine prolin oluşumuna katkıda bulunan en yaygın olarak çalışılan SNP'dir (Pro72 protein varyantları), (Zhang *et al.* 2009).

Çalışma hipotezi, göğüs kanseri hastası olan kadınların serum kolesterolü ve serum lipoproteinindeki değişikliklerden muzdarip olabileceğini içermiştir. Ek olarak, bu

değişiklikler bu genlerin polimorfizm türü ile ilgili olabilir. Bu çalışma, p53 gen polimorfizmi ve Göğüs Kanseri arasındaki olası ilişkiyi araştırmayı, göğüs kanseri ile lipid profili ve p53 gen polimorfizm düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı ve göğüs kanserli kadınlarda tiroid düzeylerini değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

2. KURAMSAL BİLGİLER

2.1 Göğüs Kanseri

Göğüs kanseri, lobül adı verilen süt üreten bezler ve lobülleri göğüs ucuna bağlayan kanallar içeren göğüs dokusunda başlar. Göğüsün geri kalanı yağlı, bağ ve lenfatik dokulardan oluşur. Göğüs kanseri tipik olarak bir tarama muayenesi sırasında, semptomlar gelişmeden önce veya semptomlar geliştikten sonra, bir kadın bir yumru hissettiğinde tespit edilir. Mamografide görülen kitlelerin çoğu ve göğüs kitlelerinin çoğu, kontrolsüz bir şekilde büyümeyen, yayılmayan ve hayatı tehdit etmeyen kanserli olmayan topaklardır. Klinik göğüs muayenesi veya göğüs görüntülemeden sonra kanserden şüpheleniliyorsa, göğüs dokusunun mikroskobik analizi ve biyokimyasal testler gereklidir. Bu, kesin bir tanı sağlar, yayılmayı (insitu veya invazif) belirlemeye yardımcı olur ve hastalığın modelini karakterize eder.

2.2 Göğüs Kanserinin Genel Türleri

2.2.1 In Situ Ductal Karsinom (DCIS)

DCIS, göğüs kanallarını kaplayan hücrelerde başlayan anormal göğüs değişiklikleri spektrumudur. DCIS, anormal hücreler ortaya çıktıkları hücre katmanının ötesine büyümediği için, göğüs kanserinin invazif olmayan bir formu olarak kabul edilir. 20062010 yılları arasında teşhis edilen in situ vakaların yaklaşık %83'ünü oluşturan en yaygın in situ göğüs kanseri türüdür. DCIS, invaziv kansere ilerleyebilir veya ilerlemeyebilir; aslında, bu tümörlerin bazıları yavaş büyüdüğü için tedavi olmasa bile bir kadının sağlığını etkilemeyecek durumdadır. Çalışmalar, DCIS vakalarının yaklaşık üçte birinin ve muhtemelen daha fazlasının, tedavi edilmezse, invaziv kansere ilerleyeceğini göstermektedir (Allred *et al*. 2010) DCIS'nin, invaziv kansere nüks etme veya ilerleme

olasılığı en yüksek olan alt tiplerinin belirlenmesi aktif bir araştırma alanıdır (Solin *et al.* 2013).

2.2.2 In Situ Lobüler Karsinom (LCIS, lobüler neoplazi olarak da bilinir)

LCIS gerçek bir kanser veya prekanser değildir, ancak invaziv kanser geliştirme riskinin arttığının bir göstergesidir. LCIS, DCIS'den çok daha az yaygındır ve 2006-2010 döneminde teşhis edilen kadın in situ göğüs kanserlerinin yaklaşık %12'sini oluşturur. Diğer in situ göğüs kanserleri hem duktal hem de lobüler karsinom özelliklerine sahiptir veya bilinmeyen kökenlere sahiptir (Edge *et al*. 2010).

2.3 Göğüs Kanseri için TNM Sınıflandırması

Kanser için iki ana evreleme sistemi vardır. Tümörlerin TNM sınıflandırması, tümör boyutu ve göğüs içinde ne kadar yayıldığı (T), yakındaki lenf düğümlerine (N) yayılma derecesi ve uzak metastazların varlığı veya yokluğu (uzak organlara yayılma), (M) hakkındaki bilgileri kullanır (Edge *et al*. 2010). T, N ve M belirlendikten sonra, 0, I, II, III veya IV evresi atanır; evre 0 in situ, evre I erken evre invaziv kanserdir ve evre IV en ilerlemiş hastalıktır. TNM evreleme sistemi genellikle klinik ortamlarda kullanılır. Gözetim, Epidemiyoloji ve Son Sonuçlar (SEER) Özet Evre sistemi daha basitleştirilmiştir ve kanser kayıt verilerinin raporlanmasında ve halk sağlığı araştırma ve planlamasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Reis-Filho and Pusztai 2011). Bu sisteme göre:

1- Lokal evre, göğüs ile sınırlı kanserleri ifade eder (TNM evreleme sistemindeki evre I ve bazı evre II kanserlere karşılık gelir).

2- Bölgesel evre, çevreleyen dokuya veya yakındaki lenf düğümlerine yayılmış tümörleri ifade eder (genellikle boyuta ve lenf düğümü tutulumuna bağlı olarak evre II veya III kansere karşılık gelir).

3- Uzak evre, köprücük kemiğinin üzerindeki uzak organlara veya lenf

düğümlerine metastaz yapmış (yayılmış) kanserleri ifade eder (IIIc ve IV evrelerine karşılık gelir), (Reis-Filho and Pusztai 2011).

2.4 Göğüs Kanserinin Moleküler Alt Türleri

Göğüs kanseri giderek artan bir şekilde tek bir hastalık değil, farklı moleküler alt tipler, risk faktörleri, klinik davranışlar ve tedaviye verilen yanıtlarla ayırt edilen bir hastalık grubu olarak kabul edilmektedir. Göğüs kanserinin farklı moleküler alt tipleri, hem karmaşık hem de maliyetli bir süreç olan gen ekspresyon profilleri kullanılarak tanımlanmıştır (Reis-Filho and Pusztai 2011). Moleküler alt tiplerin daha uygun yaklaşımları, biyolojik belirteçler kullanılarak tespit edilmiştir. Östrojen Reseptörlerinin (ER+/ER-), Progesteron Reseptörlerinin (PR+/PR-) ve İnsan Epidermal büyüme faktörü Reseptör 2'nin (HER2+/HER2-) varlığı veya yokluğu dahil olmak üzere, biyolojik belirteçler kullanılarak moleküler alt tiplerin daha uygun yaklaşımları belirlenmiştir. 6 Moleküler alt tipler, araştırma amacıyla giderek daha fazla kullanılmaktadır. Bununla birlikte, göğüs kanseri türüne göre tedavileri ve göğüs kanseri prognozunu tahmin etmek için yararlılıkları hakkındaki sorular devam etmektedir (Goldhirsch *et al*. 2011).

2.4.1 Luminal A

Göğüs kanserlerinin yaklaşık %40'ı luminal A'dır, bu da onu en yaygın göğüs kanseri alt tipi yapar (Perou and Børresen 2011). Bu tümörler ER + ve/veya PR + ve HER2- olma eğilimindedir, yavaş büyür ve diğer alt tiplere göre daha az agresiftir. Luminal A tümörleri, kısmen hormon reseptörlerinin ekspresyonunun hormonal karşı olumlu bir tepkinin öngörüsü olması nedeniyle en uygun kısa vadeli prognoz ile ilişkilidir; ancak, uzun vadeli sağkalım, diğer bazı alt tiplere benzer veya hatta daha düşüktür (Blows *et al.* 2010).

2.4.2 Luminal B

Göğüs kanserlerinin yaklaşık %10 ila %20'si luminal B'dir (Voduc *et al*. 2010). Luminal A tümörleri gibi, çoğu luminal B tümörü ER+ ve/veya PR+ 'dır, ancak HER2 ekspresyonu veya yüksek proliferasyon oranları (aktif olarak bölünen yüksek sayıda kanser hücresi) ile ayırt edilirler (Cheang *et al*., 2009).

2.4.3 Bazal Benzeri

Göğüs kanserlerinin yaklaşık %10 ila %20'si bazal benzeri gibidir ve bazal benzeri göğüs kanserlerinin çoğu ER-, PR- ve HER2 oldukları için "üçlü negatif" olarak adlandırılır (Voduc *et al.* 2010). Bazal benzeri tümörler, Afro-Amerikalı kadınlarda, menopoz öncesi kadınlarda ve BRCA1 gen mutasyonu olanlarda daha yaygındır (Perou and Børresen 2011). Bazal benzeri göğüs kanseri teşhisi konan kadınlar, diğer göğüs kanseri türleriyle teşhis edilenlere göre daha zayıf bir kısa vadeli prognoza sahiptir, çünkü bu tümörler için hedefe yönelik tedaviler yoktur.

2.4.4 Zenginleştirilmiş HER2

Göğüs kanserlerinin yaklaşık %10'u fazla HER2 (büyümeyi destekleyen bir protein) üretir ve hormon reseptörlerini (ER- ve PR-) ifade etmez. Bazal benzeri alt türe benzer şekilde, bu kanserler diğer göğüs kanserlerinden daha agresif bir şekilde büyüme ve yayılma eğilimindedir ve ER+ göğüs kanserlerine kıyasla daha kötü kısa vadeli prognozla ilişkilidir (Blows *et al.* 2010). HER2 + kanserleri için terapiler, HER2 aşırı ekspresyonunun ters prognostik etkisinin çoğunu tersine çevirmiştir.

2.5 Risk Faktörleri

Cinsiyet, yaş, aile öyküsü, erken menarş ve geç menopoz gibi bilinen göğüs kanseri risk faktörlerinin çoğu değişikliğe uğramaz, yani değiştirilemezler. Bununla birlikte, menopoz sonrası obezite, kombine östrojen ve progestin menopozal hormonların kullanımı, sigara içimi ve alkol tüketimi dâhil, artmış göğüs kanseri riskiyle ilişkili diğer faktörler değiştirilebilir. Birçok risk faktörü, göğüs dokusunun hormonlara yaşam boyu

maruziyetini etkiler (erken menarş, geç menopoz, obezite ve hormon kullanımı). Üreme hormonlarının, hücre çoğalmasını artırarak göğüs kanseri riskini etkilediği, böylece DNA hasarı olasılığını ve kanser büyümesini artırdığı düşünülmektedir. Göğüs kanseri için bilinen risk faktörlerinin çoğu, özellikle ER+/luminalA alt tipi ile ilişkilidir; ER- ve üçlü negatif (bazal benzeri) göğüs kanserleri için risk faktörleri hakkında daha az şey bilinmektedir. Göğüs kanseri riskini azaltmaya yardımcı olabilecek stratejiler arasında kilo alımı ve obeziteden kaçınmak, düzenli fiziksel aktivite yapmak ve alkol alımını en aza indirmek yer alır (Kushi *et al.* 2012). Uzun süre emzirmeyi seçen kadınlar (araştırmalar, bir yıl veya daha fazla) göğüs kanseri riskini de azaltabilir. Kadınlar, menopoz semptomları için tedavi seçeneklerini değerlendirirken östrojen ve progestin kullanımıyla ilişkili artmış göğüs kanseri riskini göz önünde bulundurmalıdır. Tamoksifen veya raloksifen ile tedavi, yüksek risk altındaki kadınlar arasında göğüs kanseri riskini de azaltabilir. Göğüs kanseri risk faktörleri, göğüs kanseri riskini azaltabilecek faktörlerle birlikte aşağıda tartışılmaktadır.

2.5.1 Kişisel ve Aile Öyküsü

2.5.1.1 Göğüs Kanserinin Aile Öyküsü

Özellikle birinci dereceden bir akrabada (anne, kız kardeş, kız, baba veya erkek kardeş) göğüs kanseri aile öyküsü olan kadınlar göğüs kanserine yakalanma riski altındadır; birden fazla birinci derece akrabada göğüs kanseri gelişmişse bu risk daha yüksektir. Aile öyküsü olmayan kadınlarla karşılaştırıldığında, göğüs kanseri riski birinci derece kadın akrabası olan kadınlarda 1,8 kat, iki akrabasında olan kadınlarda yaklaşık 3 kat ve üç veya daha fazla akrabası olan kadınlarda yaklaşık 4 kat daha yüksektir (Bray *et al.*
2018). Etkilenen akrabaya genç yaşta teşhis konulduğunda risk daha da artar. Bir veya daha fazla birinci derece akrabası olan kadınların çoğunun asla göğüs kanseri geliştirmeyeceğini ve göğüs kanserine yakalanan kadınların çoğunun ailesinde hastalık öyküsü olmadığını belirtmek önemlidir. Ailede yumurtalık kanseri öyküsü, hem erkeklerde hem de kadınlarda artan göğüs kanseri riski ile ilişkilidir. Yakın ailelerinde veya ebeveynlerinden birinin geniş ailesinde göğüs veya yumurtalık kanseri öyküsü olan

kadınlar, bunu doktorlarıyla görüşmeli zira kansere genetik yatkınlığın varlığına işaret edebilir (*Lamy et al.* 2018).

2.5.1.2 Genetik Eğilim

Göğüs kanseri vakalarının %5 ila %10'unun, göğüs kanserine duyarlılık genleri BRCA1 ve BRCA2'de bulunanlar da dahil olmak üzere kalıtsal mutasyonlardan kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Bu mutasyonlar, genel popülasyonun %1'inden daha azında mevcuttur, ancak Aşkenazi (Doğu Avrupa) Yahudi kökenli olanlar gibi belirli etnik gruplarda daha sık görülür (Evans *et al.* 2020). Bu mutasyonlara sahip kadınlarda göğüs kanseri riskine ilişkin tahminler değişkenlik göstermektedir; 70 yaşına gelindiğinde, BRCA1 mutasyonları olan kadınların %44 ila %78'i ve BRCA2 mutasyonları olan kadınların %31 ila %56'sı göğüs kanseri geliştirecektir (Newman *et al.* 2012).

Ailesel göğüs kanserlerinin yalnızca yaklaşık %15-20'si BRCA1 veya BRCA2 gen mutasyonlarına atfedilir (Turnbull and Rahman 2008). Daha az artmış göğüs kanseri riskiyle ilişkili diğer kalıtsal durumlar arasında Li-Fraumeni ve Cowden sendromları ve bir dizi daha yaygın genetik mutasyon bulunur. Bu mutasyonlar, hem ebeveynden hem de erkek çocuklardan ve kızlardan miras alınabilir. Ek olarak, genetik koddaki düşük riskli varyasyonlar göğüs kanseri riskini etkileyebilir. Bilim adamları, ailelerde göğüs kanseri oluşumunun çoğunun, yaşam tarzı faktörleri ve bir aile içinde paylaşılabilecek bu düşük riskli varyasyonlar arasındaki etkileşimden kaynaklandığına inanıyor. Bazı BRCA mutasyonlarının yanı sıra göğüs kanserinin kalıtsal formlarından sorumlu birçok aile kanseri sendromunu tanımlamak için moleküler testler ticari olarak mevcuttur; ancak bu testlerin yorumlanması ve tedavi kararları karmaşıktır (Robson *et al*. 2010).

2.5.1.3 Göğüs Kanserinin Kişisel Öyküsü

Göğüs kanseri öyküsü olan kadınlar, yaşamları boyunca birden fazla kez göğüs kanserine yakalanma riski altındadır. Teşhis daha genç yaşta ise risk daha yüksektir. Erken başlangıçlı göğüs kanseri teşhisi konan kadınlarda (<40 yaş) sonraki göğüs kanseri riski

neredeyse 4,5 kat artmıştır (American Cancer Society 2009). BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki mutasyonlar gibi genetik yatkınlık, özellikle genç yaşta teşhis konulan kadınlar arasında, muhtemelen sonraki göğüs kanseri riskinin bir kısmına katkıda bulunur (Schottenfeld *et al*. 2006).

2.5.1.4 In Situlobüler Karsinom

Bu nadir görülen durum, göğüsün lobüllerinde veya süt üreten bezlerinde oluşan anormal hücrelerin sonucudur. LCIS nadiren invaziv kanser haline gelse de, LCIS'li kadınların her iki göğüste de invaziv kanser geliştirme olasılığı, LCIS'siz kadınlara göre 7 ila 12 kat daha fazladır. LCIS genellikle bir mamogramda görünmez ve tipik olarak anormal bir mamogram gibi başka bir nedenle yapılan bir biyopsi sırasında keşfedilir. Saf LCIS, DCIS ve pleomorfik LCIS'den ayırt edilmelidir, çünkü bu koşulların her ikisi de göğüs kanseri için öncü lezyonlar olarak kabul edilir ve kansere yönelik tedavi gerektirir (Kilbride and Newman 2010).

2.5.1.5 İyi Huylu Göğüs Hastalığı

Bazı iyi huylu göğüs rahatsızlıkları göğüs kanseri riskiyle bağlantılıdır. Doktorlar genellikle bu koşulları risk derecesini yansıtan 3 genel gruba ayırırlar: proliferatif olmayan lezyonlar, atipi olmayan proliferatif lezyonlar (anormal hücreler veya hücre modelleri) ve atipli proliferatif lezyonlar. Proliferatif olmayan lezyonlar, göğüs dokusunun aşırı büyümesi ile ilişkili değildir ve göğüs kanseri riski üzerinde çok az etkisi vardır veya hiç yoktur. Hiçbir proliferatif lezyonun örnekleri arasında fibroz (fibrokistik değişiklikler olarak da bilinir), basit kistler ve hafif hiperplazi yoktur. Atipi olmayan proliferatif lezyonlar, göğüs kanseri riskinde küçük bir artışla (bu lezyonlardan birine sahip olmayanların riskinin 1,5 ila 2 katı) ilişkilidir ve atipik olmayan veya olağan duktal hiperplazi ve fibro adenomu içerirler. Atipili proliferatif lezyonlar, ortalama riskten dört ila beş kat daha yüksek göğüs kanseri riski ile ilişkilidir (Kaba*t et al.* 2010). Bunlar

arasında Atipik Duktal Hiperplazi (ADH) ve Atipik Lobüler Hiperplazi (ALH) bulunur. Kadınlar, iyi huylu göğüs biyopsi sonuçlarının ayrıntılı kayıtlarını tutmalıdır, çünkü bu bilgiler risk değerlendirmesi, tarama ve kemoprevansiyon danışmanlığı ve risk azaltma stratejileri için değerlidir.

2.5.1.6 Göğüs Yoğunluğu

Yüksek göğüs dokusu yoğunluğunun (göğüsdeki yağ dokusuna göre göğüs ve bağ dokusu miktarının mamografik bir göstergesi), göğüs kanseri gelişimi için güçlü, bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (Tamimi *et al.* 2007).

Yaş, menopoz durumu, belirli ilaçların kullanımı (menopozal hormon tedavisi gibi), hamilelik ve genetik gibi bir dizi faktör göğüs yoğunluğunu etkileyebilir. Göğüs yoğunluğu kalıtsal genetik faktörlerden etkilenir, ancak yaşla birlikte azalır ve hamilelik ve menopoz ile daha da azalır (Ursin *et al*. 2009).

Yüzde göğüs yoğunluğu, daha yüksek yağlı doku oranı nedeniyle vücut ağırlığı yüksek olan kadınlar arasında genellikle daha düşüktür (Harriset *et al.* 2011).

Tamoksifen (yoğunluğu azaltır) ve kombine menopozal hormon tedavisi (yoğunluğu artırır) dahil olmak üzere bazı ilaçlar göğüs yoğunluğunu etkiler (Boyd *et al*. 2011).

Göğüs kanseri riski artan göğüs yoğunluğu ile artar; Göğüs yoğunluğu çok yüksek olan kadınlar, göğüsleri daha az yoğun olan kadınlara göre dört ila altı kat daha fazla göğüs kanseri riskine sahiptir (Cummingset *et al*. 2009). Ayrıca, yoğun göğüs dokusu için göğüs kanserinin mamografik tespiti bozulmuştur.

Bazı eyaletlerde, kadınların mamogramlarındaki diğer bulgularla birlikte, ortalamanın üzerinde göğüs dokusu yoğunluğuna sahip olmaları durumunda bilgilendirilmelerini gerektiren yasalar vardır. Ayrıca bazı eyaletler, yoğun göğüslü kadınlara ek taramadan fayda görebileceklerinin söylenmesini de talep etmektedir (Brower *et al*. 2013). Ancak şu anda yoğun göğüsleri olan kadınlarda göğüs kanserini taramak için mamogramlara ek

olarak, varsa, başka hangi testlerin yapılması gerektiği konusunda uzman görüş birliği bulunmamaktadır.

2.5.1.7 Endojen Hormon Seviyeleri

Yüksek seviyelerde endojen hormonlara (vücutta doğal olarak üretilen östrojen veya testosteron) sahip menopoz sonrası kadınlar, en düşük seviyelere sahip kadınlara kıyasla göğüs kanserine yakalanma riskinin yaklaşık iki katıdır (Fuhrman *et al*. 2012). Yüksek dolaşımdaki hormon seviyeleri, menopoz sonrası obezite ve alkol kullanımı gibi diğer göğüs kanseri risk faktörleri ile ilişkilidir ve bu faktörlerin etkilerini yansıtabilir (Key 2011).

Menopoz öncesi kadınlarda ilişki daha az açıktır, bu muhtemelen adet döngüsü sırasında değişen hormon seviyelerini ölçmenin karmaşıklığını yansıtır. Bununla birlikte, premenopozal kadınlarda yüksek testosteron seviyelerini göğüs kanseri riskine bağlayan artan kanıtlar vardır (Zeleniuch *et al.* 2012).

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, toplam ve serbest testosteronun en yüksek beşte birlik dilimlerinde yer alan menopoz öncesi kadınların, en düşük beşte birlik dilimlerde yer alan kadınlara kıyasla %80 daha fazla göğüs kanseri riskine sahip olduğu bildirilmiştir (Zeleniuch *et al.* 2012). Ayrıca menopoz öncesi kadınlarda göğüs kanseri riskinde hafif bir artışla ilişkilendirilmiştir (Walker *et al*. 2011).

2.5.1.8 Hamilelik ve Emzirme

İlk tam süreli gebelikte daha genç yaş (<30 yaş) ve daha fazla sayıda gebelik, uzun vadede göğüs kanseri riskini azaltmakta; bununla birlikte, özellikle ilk doğumda daha yaşlı olan kadınlar arasında, tam süreli bir hamileliği takiben göğüs kanseri riskinde geçici bir artış olduğu görülmektedir (Yang *et al.* 2011). Gebelikle ilgili risk faktörleri hormonla daha güçlü bir şekilde ilişkili görünmektedir- hormon reseptörü negatif ise göğüs kanseri var demektir (Phipps *et al.* 2011).

Çoğu çalışma, bir yıl veya daha uzun süre emzirmenin bir kadının genel göğüs kanseri riskini biraz azalttığını göstermektedir. Bazal benzeri göğüs kanserleri için koruyucu etki daha büyük olabilir. Daha uzun süre emzirme, daha fazla risk azaltma ile ilişkilidir.

30 ülkede yapılan 47 çalışman gözden geçirildiğinde, her 12 aylık emzirme için göğüs kanseri riski %4,3 azalmıştır (Faupel *et al*. 2013).

Bu etkinin olası bir açıklaması, emzirmenin menstrüasyonu engellediği ve böylece yaşam boyu adet döngüsü sayısını azalttığı olabilir. Bir başka olası açıklama, emzirme ve sütten kesmeyi takiben göğüste meydana gelen yapısal değişikliklerle ilgilidir.

2.6 Lipit Profili

Lipitler, vücutta birçok fizyolojik fonksiyona hizmet eden biyomoleküllerdir. Kimyasal yapılarına, yani triasilgliserol, kolesterol, glikolipitler ve fosfolipidlere göre genel olarak dört gruba ayrılabilirler (Bishop *et al*. 2005).

Lipitler, adrenal ve gonadal steroidler ve safra asitleri (kolesterol) için öncüler olarak ve hücre dışı ve hücre içi haberciler (örneğin; prostaglandinler ve fosfatidil inositol) olarak depolanmış besinlerin (triasilgliserol) ana formu olarak işlev görür (Robert *et al.* 2002).

Lipid profili, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-C), yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-C) ve trigliseritler (TG) gibi kandaki farklı lipid seviyelerini tanımlar (Mann *et al.* 2014). Artan LDL kolesterol seviyeleri, kandaki yüksek lipid içeriği nedeniyle kardiyovasküler hastalık riskini artırırken, yüksek HDL kolesterol, sağlıklı bir kardiyovasküler sistemi göstermektedir (Carroll *et al.* 2012).

Fazla TG, bağımsız olarak kardiyovasküler hastalıkla ilişkilidir (Luz *et al*. 2008) ve yiyeceklerde veya diğer enerji kaynaklarından alınan yağlardan elde edilir. Çok düşük yoğunluklu lipoprotein, TG ile ilişkilendirilir ve normal LDL kolesterolü olan kişilerde bile kardiyovasküler risk ile bağımsız olarak ilişkilidir. Serum trigliseridindeki artışla birlikte vücut yağı artmıştır (Hossain and Goodarzi 2014).

Düşük yoğunluklu lipoprotein, kolesterolü karaciğerden vücudun çeşitli bölgelerine taşıyan kolesterolün kandaki başlıca taşıma biçimini oluşturur. Arterlerde fazla kolesterol biriktiği için LDL-C genellikle kötü kolesterol olarak bilinmektedir (Greene *et al*. 2012).

Hem adipoz hem de glikoz taşınması için kullanılan kan lipitleri ve membran üretimi için kullanılan lipoproteinler, insülin direnci, iltihaplanma, oksidatif stres yolları vasıtasıyla karsinogenezde ve kanser hücrelerinde sinyal molekülleri üretmekle suçlanmaktadır (Ackerman and Simon 2014). Beslenme değişiklikleri gibi kanserin önlenmesi için sağlıklı yaşam tarzı değişikliklerinin olduğu gösterilmiştir (Febbraio
2017). Egzersiz ve sigarayı bırakmak, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterolü artırmada etkilidir (Criqui *et al.* 1980).

Metabolik sendromun önemli bir bileşeni olan dislipideminin, prostat kanseri, yumurtalık kanseri ve böbrek kanseri gibi farklı kanserlerin karsinogenezinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Zhang *et al.* 2015).

Göğüs kanserinde iyi hazırlanmış birkaç metabolomik ve lipidomik çalışma, lipitler ile göğüs kanseri teşhisi ve ilerlemesi arasındaki ilişkiyi göstermiştir (Hilvo *et al*. 2011). Bununla birlikte, bu çalışmaların çoğunun odak noktası, kanser hastalarında toplam lipit seviyeleri olmuştur ve bunlardan sadece birkaçı, iyi huylu göğüs hastalıkları olan hastalarla yürütülmüştür.

Yang ve arkadaşları tarafından yapılan iyi huylu göğüs hastalığı hastalarını da içeren, plazma lipid profillerinin yeni kapsamlı bir değerlendirmede, göğüs kanseri hastalıklarında lipid belirteçlerinin tanısal etkinliğini de gösterilmiştir (Yang *et al.* 2015).

İnsülin ve glisemi durumunu yansıtan trigliserid seviyeleri, hipergliseminin ve/veya hiperinsülineminin tümör teşvik yolları üzerindeki karmaşık dolaylı etkilerini de ifade edebilir. İnsülin kanser bağlantısının mekanizmasının, temel olarak, güçlü bir mitojen olan serbest insülin benzeri büyüme faktörü-1 üretiminin artması ve tümör anjiyogenezinde hücre hayatta kalmasına yol açan anahtar bir faktör olan adipositten

türetilmiş vasküler endotelyal büyüme faktörü ile ilişkili olduğu varsayılmıştır (Gialamas *et al*. 2011).

2.7 Lipit ve Göğüs Kanseri

Son çalışmalar, farklı kanser türlerinin prognozunda lipid seviyelerinin değiştiğini bildirmiştir (Cvetkovic *et al.* 2009). Örneğin, ağız kanserlerinde kolesterolün azalması, kanserli lezyonların ilerlemesi için endişe vericidir (Singh *et al.* 2013). Lipit seviyeleri ile kanser ilerlemesi arasındaki ilişki ile ilgili karşıt sonuçlar, tümörün tipine ve ayrıca kanser ilerlemesiyle ilişkili lipitlerin patofizyolojik rolüne bağlı gibi görünmektedir. Lipitler ve lipoproteinlerin göğüs kanseri ile ilişkisi belirlenmiştir (Llanos *et al*. 2012). Ghahremanfard ve arkadaşları tarafından göğüs kanserleri arasında serum lipitlerinin değerlendirilmesi, en yüksek kolesterol ve lipoprotein seviyelerini ortaya çıkarmıştır (Ghahremanfard *et al.* 2015). Böylelikle, göğüs ve yumurtalık kanserleri dahil kadınlarda kanserlerin ilerlemesinde artmış serum lipid seviyelerinin önemli bir role sahip olabileceği, düşük lipit ve lipoprotein seviyelerinin ise mide kanserini ayırt etmek için markör olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Daha yüksek yağ tüketimi, dolaşımdaki östrojen seviyelerini artırır, artan proliferasyon ve hücre hasarı kanserin büyümesi üzerinde doğrudan etkilidir (Bertone *et al.* 2002).

Kolesterol ve yüksek HDL seviyeleri ile artmış göğüs kanseri riski arasında bir ilişki olduğu bulunmuştur (Ghahremanfard *et al.* 2015). Başka bir çalışmada, düşük HDL, artmış postmenopozal göğüs kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (Furberg *et al.* 2004). Bu nedenle, serum HDL seviyesi ile göğüs kanseri riski arasındaki ilişki, menopoz durumundan potansiyel olarak etkilenmiş gibi görünmektedir. Böylelikle premenopozal hastaların ortalama HDL düzeylerinin eşleştirilmiş kontrol grubundakilere göre daha düşük olduğu, menopoz sonrası hastaların ise kontrol grubundakilere göre daha yüksek düzeylere sahip olduğu bildirilmiştir (Saha *et al.* 2013). İlginç bir şekilde, serum lipid ve lipoprotein profilindeki değişiklikler sadece bazı kanser türlerinin varlığıyla bağlantılı olmamakla beraber, aynı zamanda yüksek LDL seviyesi ile artmış lenf nodu metastazı riski arasında doğrudan bir korelasyon vardır (Ghahremanfard *et al*. 2015).

2.8 Tiroid Hormonları

Tiroid hormonları (TH) farklılaşma, büyüme ve metabolizmada kritik rol oynar. Nitekim TH, oksijen tüketimi ve metabolik hız üzerinde önemli etkilerle birlikte neredeyse tüm dokuların normal işlevi için gereklidir (*Giustarini et al.* 2006). Tiroid bezi bozuklukları, en sık görülen endokrin hastalıklar arasındadır. Ayrıca, iyot eksikliğine bağlı endemik kretinizm, gelişmekte olan ülkelerde bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. TH sentezi ve salgılanması, hipotalamus, hipofiz bezi ve tiroid bezini (hipotalamik/hipofiz/tiroid (HPT) ekseni) içeren bir negatif geri besleme sistemi tarafından zarif bir şekilde düzenlenir (Shupnik *et al.* 1989). H'ler, T4 ve daha güçlü T3, tiroid bezinde sentezlenir. İyodür, Na+ / I simporter (NIS) tarafından aktif olarak tiroide taşınır ve konsantre edilir (Dai *et al.* 1996).

Yakalanan iyodür, hidrojen peroksit varlığında tiroid peroksidaz (TPO) ile oksitlenir ve bir glikoprotein, tiroglobulinin (Tg) tirozin kalıntılarına dâhil edilir. Tg üzerinde bulunan spesifik tirozinlerin bu iyotlanması, T4 ve T3 oluşturmak için enzimatik olarak birleştirilen monoiyodine ve diiyodine kalıntılar (MIT, monoiodo-tirozinler; DIT, diiyodo-tirozinler) verir. MIT, DIT, T4 ve T3 içeren iyotlu Tg daha sonra tiroid foliküler hücrelerinin lümeni içindeki kolloidde hücre dışı bir depolama polipeptidi olarak depolanır. TH'lerin sentetik yolundaki genetik kusurlar insanlarda tanımlanmıştır ve iyotlu ortamlarda konjenital hipotiroidizmin başlıca nedenleridir (De Vijlder *et al.* 1997).

Toplam serum T4, serum T3'ten 40 kat daha yüksek olduğu için salınan TH'nin çoğu T4 formundadır. Toplam serum T4'ün yalnızca %0,03'ü serbesttir (bağlanmamış), geri kalanı tiroksin bağlayıcı globulin (TBG), albümin ve tiroid bağlayıcı prealbumin gibi taşıyıcı proteinlere bağlıdır. Toplam serum T3'ün yaklaşık %0,3'ü serbesttir, geri kalanı TBG ve albümine bağlıdır. Hedef hücrelere giren ve biyolojik bir yanıt üreten serbest THdir. T3 üretimi için ana yol, deiyodinazlar tarafından T4'ün dış halkasının 5'deiyodinasyonudur ve dolaşımdaki T3'ün çoğunu oluşturur (Kopp 2000). Tip I deioidinaz, karaciğer ve böbrek gibi periferik dokularda bulunur ve dolaşımdaki T4'ün çoğunun T3'e dönüşümünden sorumludur. Tip II deiyodinaz beyin, hipofiz ve kahverengi yağ dokusunda bulunur ve hücre içi kullanım için öncelikle T4'ü T3'e dönüştürür (Kohrle *et*

al. 2000). Öncelikle plasenta, beyin ve ciltte bulunan tip I deiyodinaz ve tip III deiyodinaz ile 5'-deiyodinasyon, TH'nin inaktivasyonunda anahtar adım olan ters T3 (rT3) oluşumuna yol açar. rT3 ve T3 ayrıca karaciğerde deiyodine edilebilir ve safrada boşaltılmadan önce sülfo ve glukuronid konjuge edilir (Larsen and Berry 1995).

2.9 Tiroid ve Lipit

Tiroid hormonunun lipit metabolizmasının düzenlenmesindeki rolü, tiroid durumu ile vücut ağırlığı arasında bir ilişki tespit edildiğinden beri ilgi konusu olmuştur. Vücut yağı, tiroid durumu ve metabolizma arasındaki ilişki, bazal metabolik hızların ölçülmesiyle sağlam bir şekilde kurulmuştur (Johansen *et al.* 1998). Bu çalışmalar, hipertiroidizmin metabolik hızdaki (oksijen tüketimi) bir artışla ilişkili olduğunu ve hipotiroidizmin metabolik hızdaki düşüşle ilişkili olduğunu açıkça göstermiştir. Dahası, metabolik hızdaki değişiklikler, lipit ve karbonhidrat metabolizmasındaki değişikliklerle ilişkilendirilmiştir (Sestoft *et al*. 1990). Bununla birlikte, bu değişikliklere yol açan mekanizmalar karmaşıktır zira tiroid durumundaki değişiklikler birden çok sistemi ve birden çok hedef dokuyu etkilemektedir.

Tiroid hormonu, hem yağ sentezi (lipogenez) hem de lipoliz oranını düzenler (Blennemann *et al.* 1995). T3, asetil CoA karboksilaz, malik enzim, glikoz-6-fosfat dehidrojenaz ve yağ asidi sentazı gibi anahtar lipojenik enzimleri indüklemektedir (Perez-Castillo *et al.* 1993).

Bu genlerin ekspresyonu, yüksek karbonhidratlı diyet, insülin ve CAMP gibi diğer faktörler tarafından da modüle edilmektedir (Oppenheimer *et al*. 1991).
Araştırmacılar, lipojenik yoldaki enzimlerin hem karaciğer hem de yağ dokusunda tiroid hormonu tarafından düzenlendiğini göstermiştir. Dahası, tiroid hormonu ve diyetteki sakarozun bu enzimlerin içeriğini kontrol etmek için sinerjik bir şekilde hareket ettiğini gösterdiler (Cary and Mariash 2003). Daha yeni teknolojilerin ortaya çıkmasıyla, yukarıda tartışılan bazı tartışmalı konulara cevap bulunacaktır. Bu meselede araştırmacılar, tiroid halinin in vivo lipoliz üzerindeki etkisini incelemek için yeni bir

mikrodiyaliz tekniğinden yararlanmaktadırlar. Lokal norepinefrin (NE) salınımını ölçtüler ve adipositteki (NE) konsantrasyonlarının ötiroid kontrollere kıyasla hipertiroid hastalarında daha yüksek ve hipotiroid hastalarında anlamlı ölçüde daha az olduğunu gösterdiler (Haluzik *et al*. 2003).

TH, karaciğer fonksiyonu üzerinde, lipogenez ve lipoliz düzenleyen enzimlerin yanı sıra oksidatif süreçlerin uyarılması dâhil olmak üzere birçok etkiye sahiptir. Düzenlenen lipojenik enzimlerin bazıları malik enzim, glikoz-6-fosfat dehidrojenaz ve yağ asidi sentazdır (Oppenheimer *et al*. 1995).

Yıllardır hipotiroidizmin, yüksek serum orta ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol konsantrasyonları ile hiperkolesterolemi ile ilişkili olduğu kabul görmüştür (Brent 1994). Bu etkilerin ana mekanizması, azalmış LDL reseptörlerinden kaynaklanan düşük kolesterol klirensi olabilir. Ek bir mekanizma, orta yoğunluklu lipoproteinlerin LDL'ye dönüşümünü ve yüksek yoğunluklu lipoprotein metabolizmasını azaltan hipotiroidizmde azalmış hepatik lipaz aktivitesi olabilir (Tan *et al*. 1998).

2.10 Göğüs Kanseri ve Tiroid Hastalıkları

Aileden gelen eğilim, mesleki, üreme ve hormonal faktörlerin yanı sıra, göğüs kanseri için klinik risk faktörü tanımlanmamıştır (Vasei *et al.* 2019). Tiroid hastalığı ve göğüs kanseri riski arasındaki bağlantı, tiroid hormonlarının göğüs epitel hücre büyümesini düzenlemedeki rolünü gösteren çalışmalarla desteklenmektedir (Simon *et al.* 2002).

Sağlıklı kontrollere göre göğüs kanseri olmuş kadınlarda pozitif tiroid peroksidaz antikorları daha yüksek oranda görülmektedir. Birçok laboratuvar çalışmasında yüksek tiroid hormon düzeyleri östrojen benzeri etkilere sahip olduğundan, tiroid hormon düzeyleri ve bunların göğüs kanseri ve diğer kanserlerin ilerlemesi ile ilişkisi geçmişte tutarsız sonuçlarla incelenmiştir.

Yakın zamanda yapılan araştırmalar, subklinik veya belirgin hipotiroidizm ile birlikte yüksek serum Tiroid Uyarıcı Hormon (TSH) seviyelerinin göğüs kanseri hastalarının %10,0 - %19,7'sinde görüldüğünü göstermiştir (Ditsch *et al*. 2010).

Son epidemiyolojik çalışmalar tiroid fonksiyonu ile göğüs kanseri arasındaki ilişkileri tanımlamıştır (Journy *et al.* 2017). Bu, hormonun bu kanser türünü destekleyebileceğini göstermektedir.

Hipotiroidizmin göğüs kanserinin seyrini faydalı bir şekilde etkilediğine dair klinik kanıtlar da mevcuttur (Sogaard *et al.* 2016). Hormon, özellikle L-tiroksin, T4, göğüs kanseri hücreleri için in vitro proliferatif bir faktördür ve östrojen, tiroid hormonu, bu reseptörü taşıyan göğüs kanseri hücrelerinin nükleer östrojen reseptör-α (ERα) bağımlı proliferasyonunu teşvik edebilir (Tang *et al.* 2004). Bu etki, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) bağımlı proteinkinaz ve spesifik serin fosforilasyonuyla ERα'nın aktivasyonunu içermektedir.

Tiroid hormonunun şu anda bildiğimiz bu ortamda hareketine, tümör hücreleri tarafından ifade edilen integrin αvβ3'ün hücre dışı alanındaki bir tiroid hormonu reseptörü aracılık etmektedir (Davis *et al*. 2016). Böylelikle, tiroid hormonunun genomik olmayan bir şekilde başlatılan bir eylemi, başka bir yerde incelediğimiz bir endokrin örtüşme olan ER eyleminin genomik yolundaki aktiviteyle sonuçlanır (Hammes and Davis 2015).

ER bozunma ajanı fulvestrant (ICI 182,780), tiroid hormonunun ERα-pozitif insan göğüs kanseri hücreleri üzerindeki proliferatif etkisini bloke eder (Tang *et al.* 2004).

L-tiroksinin (T4) fizyolojik olarak serbest olduğu unutulmamalıdır. αvβ3 üzerindeki bu reseptör bölgesinde hormon konsantrasyonları maksimum düzeyde aktiftir. Oysa ki bu reseptör aracılığıyla önemli proliferatif aktivite elde etmek için serbest T3'ün fizyolojik seviyelerinden önemli ölçüde daha yüksek olması gerekir (Lin *et al.* 2009).

2.11 p53 ve Tiroid Bozukluğu

Pek çok çalışma, p53 geni SNP'lerin kanser ve otoimmün tiroid hastalıkları ile risk ilişkisini bildirmiştir (Chen *et al*. 2008). P53 genellikle bir tümör baskılayıcı gen olarak tanınır çünkü kodlayan proteini p53, hücre döngüsününbloke edilmesi ve apoptoz işlemlerine katılır (Karp 2002). Apoptoz sadece tümör oluşumunu engellemekle kalmaz, aynı zamanda normal olarak oto reaktif veya reaktif olmayan immün elementleri ortadan kaldırarak tiroid bezinin (AITD) otoimmün hastalıklarının temel patojenetik bileşenleri olan hem T hem de B hücresi immün yanıtlarının olgunlaşmasını ve kontrolünü düzenler (Dhein *et al*. 1995).

Genel olarak p53, çeşitli kanser hücrelerinde değişen derecelerde eksprese edilse de, bununla birlikte, kanserli olmayan tiroid dokusunda da tespit edilmiştir.
İmmünohistokimyasal boyama tekniklerini kullanan Chetty ve arkadaşaları ve Okayasu ve arkadaşları bağımsız olarak, HT hastalarından türetilen tiroid dokusunda p53 ekspresyonunu gözlemlediler (Chetty *et al.* 1995, Okayasu *et al.* 1998).

Ayrıca, 2000 yılında Fenton ve arkadaşları, AITD'den muzdarip hastalar için p53'e karşı Ab'nin serumda varlığını tespit etmişlerdir. Bu nedenle, p53 ile bir bireyin AITD'ye duyarlılığı arasında bir bağlantı olduğunu öne sürmek makul görünmektedir. AITD'nin altında yatan genetik mekanizma oldukça karmaşık görünebilir ve bildiğimiz kadarıyla, bu mekanizmayı ele almaya çalışan çoğu çalışma, insan lökosit antijeni (HLA) bölgesi ve sitotoksik T lenfosit ile ilişkili protein-4 (CTLA-4) üzerine odaklanmıştır (Tomer and Davies 2003). Bununla birlikte, diğer genlerin de AITD'nin kalıtımına dâhil olduğu görülmektedir. Codon 72 prolin/arginin alelik varyantları, p53'ün çok yaygın bir polimorfizmi olmakla beraber belirgin şekilde farklı apoptotik potansiyellere sahip oldukları bildirilmiştir (Dumont *et al*. 2003). Bu alandaki prolin homozigotluk derecesinin, bir kişinin tiroid kanserine duyarlılığı için bir risk faktörü oluşturduğu bulunmuştur (Granja *et al*. 2004).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma Mart 2020'den Haziran 2020'ye kadar devam eden bir vaka kontrol çalışmasıdır. Yapılan bu tez çalışması, Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölüm Kurulu tarafından onaylanmıştır.

3.1 Çalışma Grupları

Çalışmadaki toplam katılımcı sayısı 100 kadından oluşmuştur ve çalışma grupları şunları içermiştir:

1. **Grup:** 50 göğüs kanseri olan kadın, örnekleri Karama Eğitim Hastanesinden ve Al-Zahra Eğitim Hastanesi alındı. Klinik bilgileri dosyalarından elde edilmiştir**.**
2. **Grup:** Görünüşlerine göre sağlıklı elli kadın kontrol grubu olarak sınıflandırılmıştır.

3.2 Ekipman

3.2.1 Kullanılan Malzemeler

Bu çalışmada kullanılan genel alet ve ekipmanlar Çizelge 3.1 de listelenmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan malzemeler

AURA TM	**PCR Kabini**	**Italya**
Otomatik bölme	Lab tech	Kore
Denge	Kernpfb	Almanya
Dahili kuru blok termostat	Bio San DB-100,	Almanya
Pipet	Değişken Hacim 2-20 uL	Almanya
Santrifüj	Hattich	Almanya
Su küveti	Memmert	Almanya
V-1 plus, Tüpler için Kişisel	Digsystem Vorteks	Almanya
uv ile görülebilir pektrofotometre	Cecil	İngiltere
MultiGene OptiMax Gradyan Termal Döngüleyici	Labnet	ABD
Mini Güç Kaynağı	300V, 2200V	Çin
Microdalga	Gosonic	Çin
Microspin 12, Yüksek hızlı Mini santrifüj	Bio San	Almanya
Mikropipet 10 – 100u	Slamed	Japonya
Mikropipet 100-1000uL	Slamed	Japonya
Mikropipet 50 – 200uL	Slamed	Japonya
Kuluçka	Jrad	Çin
Başlık	MDH	ABD
Elektroforez	CBS, Scientific	USA
Belge sistemi	Labnet	ABD
Kombi-spin	Biosan	Letonya
Santrifüj tüpleri (steril) 1. 5ml	Bio basic	Kanada
Santrifüj	Hattich	Almanya
Su damıtma cihazı	GFL	Almanya

3.2.2 Reaktifler ve Kimyasallar

Çalışma boyunca kullanılan genel reaktifler ve kimyasallar Çizelge 3.2'de listelenmiştir.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan genel reaktifler ve kimyasallar

No	**MALZEMELER**	**ŞİRKET**
1	Agaroz	Conda/ABD
2	Kırmızı güvenli boyama solusyonu	Intron/Kore
3	6X Yükleme boyası	Intron/Kore
4	Merdiven 100bp	Kapa/ABD
5	n karışım pcr	Intron/Kore
6	TBE arabelleği 10X	Conda/ABD
7	Primer	Integrated DNA technologies/ABD
8	Geneaid DNA ekstraksiyon kiti	Almanya

3.2.3 Çalışmada Kullanılan Kitler

Çalışmada kullanılan kitler Çizelge 3.3 de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan kitler

Kolesterol Kiti, HDL-kolesterol Kiti ve Trigliserid Kiti	Biolabo Company
DNA ekstraksiyon kiti	Geneaid
PCR PreMix kiti (i-Taq) 20µlrxn	Geneaid
İnsan Tiroid Uyarıcı Hormon TSH ELISA Kiti	Maxime
Triiodothyronine (T3) hormonu ELISA Kiti	Cell Biolabs (ABD)
L-Tiroksin (T4) hormonu ELISA Kiti	Abnova (Almanya)

3.3 Yöntemler

3.3.1 Kan Örneklerinin Toplanması

Her hasta ve kontrolden de 5 mL venöz kan örnekleri alınarak kan örnekleri biri EDTA tüpü diğeri ise jel tüpü içinde olmak üzere iki parçaya bölünerek bu kan nazikçe karıştırıldı, daha sonra tüm kan örnekleri aseptik koşullar altında bir soğuk kutu içine yerleştirildi ve bu tüp DNA ekstraksiyonu için daha fazla işlenene kadar (-20°C'de) dondurucuda saklandı. İkinci kısım heparinize olmayan tüplere konuldu, Serum 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek izole edildi ve serum Eppendorf tüplerinde lipid profili ve tiroid hormonu tahmin edilinceye kadar alikotlara bölündü.

3.3.2 Lipitprofilinin Belirlenmesi

Kural

Hangi reaksiyon şeması ile tanımlanan enzimatik yöntem aşağıdaki gibidir (Allain et al.1974).

$$\text{Kolesterol esterleri} \xrightarrow{\text{Kolesterol esteraz}} \text{kolesterol + serbest yağ asitleri}$$

$$\text{Kolesterol} + O_2 \xrightarrow{\text{Kolesterol oksidaz}} \text{Kolesten} - 4 - \text{bir } 3 + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{Fenol} + 4\text{-Aminoantipirin} \xrightarrow{\text{Peroksidaz}} \text{Kinoneimine} + H_2O$$



$2H_2O_2$ + fenol + 4 – amino antipirin ~~4H2O~~ + kinonemine bileşiği (renkli bileşik)

Renk yoğunluğu, kolesterol konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak belirlenebilir (Tietz *et al.* 1999).

3.3.2.1.1 Kolestrol İçin Kullanılan Reaktifler

Kolesterol testi için elektroforez işleminde kullanılan malzeme ve reaktif, Çizelge 3.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.4 Elektroforez sisteminin çalışması

Reaktifler	**İçerik**	**İlk çözelti konsantrasyonu**
R1(Tampon çözümü)	Fosfat tamponu Kloro-4-fenol Sodyum kolt Triton x100 koruyucu	100 mmol/L 5 mmol/L 2,3 mmol/L 1,5 mmol/L
R2 (enzimler)	kolesterol esteraz kolesterol oksidaz peroksidaz 4-aminoantipirin PEG 6000	≥100 IU/L ≥170 IU/L ≥1200 IU/L 0,25 mmol/L 167 µmol/L
R3 (standart)	kolesterol	200mg/dL (5,17 mmol/L)

3.3.2.1.2 Reaktiflerin Hazırlanması

R2 flakonu (enzimler) içeriği, R1 flakonuna (tampon) hemen eklendi. Tamamen çözülene kadar yavaşça karıştırın (yaklaşık 2 dakika).

3.3.2.1.3 Prosedür

Çalışma yöntemi Çizelge 3.5'de gösterildiği gibi özetlenmiştir; burada tüm numuneler için, emilimlerini ölçmek ve temel denklemi uygulamak için tek bir standartla test tüpleri hazırlanmıştır.

Çizelge 3.5 Kolesterol için çalışma aşamaları

İyi tanımlanmış test tüplerine pipetlenip	Boş	Standart	Tahlil
Reaktif	1mL	1mL	1mL
Steril su	10µL		
Standart		10µL	
Örnek			10µL

Not: Karıştırıcı 37°C'de 5 dakika veya oda sıcaklığında 10 dakika bekletilir. Absorpsiyon, boş reaktif maddeye karşı 500 nm'de (480-520) kaydedildi.

3.3.2.1.4 Hesaplama

Kolesterol konsantrasyonu aşağıdaki denklem uygulanarak tahmin edildi:

$$\text{Kolesterol konsantrasyonu} = \frac{\text{Abc (tahlil)}}{\text{Abc (standart)}} \text{ X standart konsantrasyon}$$

3.3.2.2 Trigliseridin Belirlenmesi

Aşağıdaki denklemlerde gösterilen enzimatik yönteme dayanan Bio lab Kit kullanılarak triasilgliserol konsantrasyonunu belirlemek için enzimatik kolorimetrik test kullanılmıştır (Fossati and Principe 1982).

$$\text{Trisigliderol} + H_2O \xrightarrow{\text{Lipaz}} \text{gliserol} + 3 \text{ Yağ Asitleri}$$

$$\text{Gliserol} + ATP \xleftrightarrow{\text{Lliserol kinaz}} \text{gliserol} - 3 - \text{fosfat} + ADP$$

$$\text{Gliserol} - 3\text{- fosfat} + O_2 \xleftrightarrow{\text{Gliserol kinaz}} \text{dihidroksiaseton} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + 4 - \text{klorofenol} + PAP \xrightarrow{\text{Peroksidaz}} \text{Kinonimin (pembe)} + H_2O$$

3.3.2.2.1 Trigliseridler için Çalışma Reaktifleri

Trigliserit düzeylerinin ölçülmesinde kullanılan malzeme ve reaktif kolesterol testi,, Çizelge 3.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.6 Trigliseridler için çalışma reaktifleri

Reaktifler	**İçerik**	**İlk çözelti konsantrasyonu**
R1 (tampon çözelti)	Borular Magnezyum klorür Kloro-4-fenol koruyucu	100 mmol/L 9,8 mmol/L 3,5 mmol/L
R2 (enzimler)	Lipase Peroxydeas (POD) gliserol -3-fosfat Gliserol kinaz 4-Amino-antipirin ((PAP) Adenozin trifosfat Na (ATP)	≥100 IU/L ≥1700 IU/L ≥3000 IU/L ≥ 660 IU/L 0,5 mmol/L 1,3 mmol/L
R3 (standart)	trigliseridler	200mg/dL (2,28 mmol/L)

3.3.2.2.2 Reaktif Hazırlanışı

R2 şişesinin (enzimler) içeriği derhal Rl şişesine (tampon) ilave edildi. Tamamen çözünene kadar yavaşça karıştırıldı (yaklaşık 2 dakika). Çalışma yöntemi Çizelge 3.7'de gösterildiği gibi özetlenmiştir; burada tüm numuneler için, emilimlerini ölçmek ve temel denklemi uygulamak için tek bir standartla test tüpleri hazırlanmıştır.

3.3.2.2.3 Hesaplama

Trigliserid konsantrasyonu aşağıdaki denklem uygulanarak tahmin edilmiştir:

$$\text{Trigliserid konsantrasyonu} = \xrightarrow{\text{Abc (Tahlil)}} \times \text{standart konsantrasyon}$$

Abc (standart)

3.3.3 HDL-Kolesterolün Belirlenmesi

3.3.3.1 HDL için Çalışma Reaktifleri

Bu reaktif, HDL'nin toplam kolesterol için bir dedektörle belirlenmesinden önce numunelerin saflaştırılması için tasarlanmıştır; burada düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL), çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL) ve örneklerden elde edilen şilomikronlar fosfotungstik asit (Santrifüjlemeden sonra süpernatanttaki PTA) ve magnezyum klorür daha sonra toplam kolesterol reaktifi ile ölçülürör: kolesterol CHOD-PAP Biolabo).

Çizelge 3.7 HDL için çalışma reaktifleri

Reaktifler	**İçerik**	**İlk çözelti konsantrasyonu**
R1 (çökelticiler)	Fosfotungstik asit (PTA) Magnezyum klorür	13,9 mmol/L 570 mmol/L
R2 (standart)	Kolesterol	100 mg/dL (2,58 mmol/L)

3.3.3.2 Numune Hazırlama

Diğer partiküllerin sedimantasyonu ve sadece HDL'nin belirlenmesi amacıyla aşağıdaki tabloda gösterildiği gibi 50 µL çökeltici eklenmiştir. Sonra kuvvetlice karıştırın ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletilerek, daha sonra 3500-4000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüje aktarılmıştır. Ardından, HDL'yi belirlemek için filtre alınmıştır. Çalışma Çizelge 3.8'de sıralanmıştır.

Çizelge 3.8 HDL için çalışma prosedürü

Santrifüj tüpünde pipetleyin	**Hacim**
Örnek	0,5 mL
Çökelticiler	50µL

Not: Kuvvetlice karıştırın, oda sıcaklığında 10 dakika bekletin. Santrifüj, 3500-4000 rpm'de 15 dakika süreyle yapılmıştır.

Çalışma yöntemi Çizelge 3.9'da gösterildiği gibi özetlenmiştir; burada tüm numuneler için, emilimlerini ölçmek ve temel denklemi uygulamak için tek bir standartla test tüpleri hazırlanmıştır.

Çizelge 3.9 HDL için Çalışma yöntemi

İyi tanımlanmış test tüplerine pipetleme	**Boş**	**Standart**	**Tahlil**
Reaktif	1mL	1mL	1mL
Demineralize su	25µL		
Standart		25µL	
Örnek			25µL

Not: Karıştırıcı 37°C'de 5 dakika veya oda sıcaklığında 10 dakika bekletilir.

Absorpsiyon, boş reaktif maddeye karşı 500 nm'de (480-520) kaydedilmiştir.

3.3.3.3 Hesaplama

$$\text{HDL – Kolesterol konsantrasyonu} = \frac{\text{Abc (Tahlil)}}{\text{Abc (standart)}} \times \text{standart konsantrasyon} \times 1.1$$

Seyreltilmemiş kalan standart, 1.1 faktör çökeltme adımı sırasında numunenin seyreltilmesini hesaba katılır.

3.3.3.4 Çok Düşük Yoğunluklu lipoprotein ve Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterolün Belirlenmesi

VLDL-kolesterol, bu denklem uygulanarak tahmin edilebilir (Fridewald *et al*. 1972):

$$\text{VLDL–Kolesterol Konsantrasyonu} = \frac{\text{Trigliserid Konsantrasyonu (mg/dl)}}{5}$$

LDL-kolesterol aşağıdaki denklem uygulanarak tahmin edilebilir:

LDL-Kolesterol=Toplamkolesterol– (VLDL - kolesterol + HDL -kolesterol) (mg/dL)

3.3.4 Tiroid Hormonlarının Belirlenmesi

3.3.4.1 (ELISA) Testi İle Tiroid Uyarıcı Hormonun Belirlenmesi

Bir anti TSH kaplama antikoru, bir mikrotiter plakaya adsorbe edilir. Plaka üzerinde adsorbe edilen antikorlara numunede veya standart bağlantıda bulunan TSH proteini; biyotinlenmiş bir anti-TSH antikoru, birinci antikor yoluyla yakalanan antijene bağlanır. İnkübasyon ve yıkamadan sonra, bir streptavidin enzim konjugatı eklenir ve biyotinlenmiş anti-TSH antikoruna bağlanır. Serbest streptavidin enzimi daha sonra yıkanarak ve substrat çözeltisi kuyulara eklenir. Kromatik yoğunluk numunede bulunan TSH konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Reaksiyon bir asit ilavesiyle sona erer ve absorbans 450 nm'de ölçülür. Saflaştırılmış TSH'den standart bir eğri hazırlanır ve ardından numune konsantrasyonu belirlenir. Bu aşamalarda kullanılan malzemeler Çizelge 3.10‘da verilmiştir.

Çizelge 3.10 TSH’ ın belirlenmesi için kullanılan malzemeler

Madde	**Miktar**
Anti-TSH Antikor Kaplı Tek şerit	oyuklu 96 oyuklu plaka
Biyotinlenmiş Anti-TSH Antikoru (1000X)	20 µL şişe
Streptavidin-Enzim Eşleniği	20 µL şişe

Deney Seyreltici	50 mL şişe
10X Yıkama Tamponu	100 mL şişe
Substrat Çözeltisi	Bir adet 12 mL amber şişesi
Durdurma Çözeltisi	Bir adet 12 mL şişe

Bu materyaller kite dâhil değildir, ancak bu testi başarıyla kullanmak için gerekli olacaktır:

1- 450 nm'de absorbansı ölçebilen mikroplaka okuyucu.
2- 1 µL ila 1 mL hacimler dağıtmak için hassas pipetler.
3- Reaktif hazırlama için ayarlanabilir 1-25 mL pipetler.
4- 100 mL ve 1 litrelik dereceli silindirler.
5- Emici kağıt.
6- Distile veya deiyonize su.
7- Standart veya numune dilüsyonları hazırlamak için 7- tüp.

3.3.4.2 Numune Hazırlama

Serum

Numune, bir serum ayırıcı tüpte toplanmışdır. Pıhtılaşma oluşumundan sonra örnekleri 3.000 x g'de 10 dakika santrifüjleyin. Örnekleri 1: 400'ü 1X Diluent N'ye seyreltilip ve incelenmiştir. Seyreltilmemiş numune -20°C'de veya 3 aya kadar saklanmıştır.

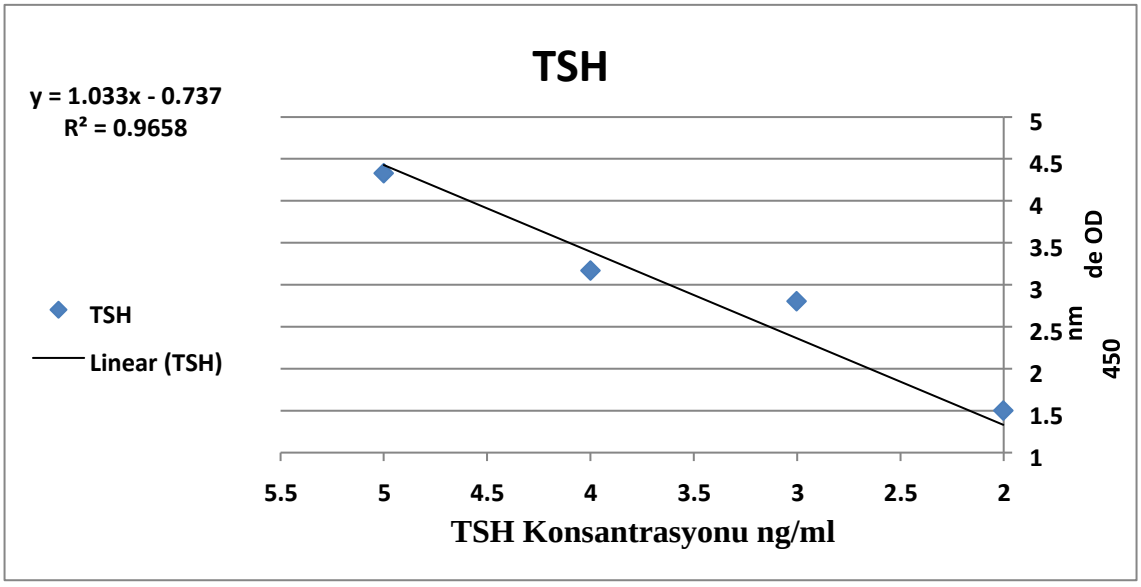
3.3.4.3 Prosedür

1. Reaktifler kullanımdan önce hazırlanmıştır.
2. TSH antikoru kaplı plakaya 100 µL TSH numunesi veya standardı eklenmiştir.

3. Plaka kapatıldı ve oda sıcaklığında bir saat inkübe edildi.
4. Plaka kapağını çıkardıktan sonra kuyucukları boşaltın. Mikro kuyucuk şeritleri, her yıkamadan sonra tam emişle, kuyucuk başına 250 µL 1X Yıkama Tamponu kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklar boşaltıldıktan sonra, kalıntı tampon çözeltisini çıkarmak için bir kurutma tabakasına yerleştirilir.
5. Her kuyuya 100 µL seyreltik Biotinile anti-TSH antikoru eklenmiştir.
6. Bir plaka kapağı ile örtün ve orbital bir çalkalayıcıda oda sıcaklığında bir saat inhibe edin.
7. Plaka kapağını çıkardıktan ve kuyuları boşalttıktan sonra, 4. adımda belirtildiği gibi şeridi 5 kez iyice yıkayın.
8. Her kuyucuğa 100 µL seyreltilmiş Streptavidin-Enzim Konjugatı eklendi.
9. Ayrıca, bir plaka kapağıyla kapatın ve orbital çalkalayıcıda 1 saat oda sıcaklığında inkübe edin.
10. Plaka kapağını çıkardıktan sonra kuyuları boşaltın. Daha sonra mikrokuyu şeritleri 4. adımda belirtildiği gibi 5 kez yıkayın.
11. Daha sonra boş kuyucuklar dâhil olmak üzere her kuyucuğa 100 µL substrat çözeltisi ilave edildi ve ardından oda sıcaklığında orbital bir çalkalayıcıda inkübe edildi. Gerçek inkübasyon süresi 5-20 dakika arasında değişebilir.
12. Boş kuyucuklar dahil her kuyucuğa 100 µL durdurma solüsyonu eklenmiştir. Birincil dalga boyu olarak 450 nm kullanan bir spektrofotometrede mikrokuyu başına absorbansı okuyun.

3.3.4.4 Hesaplamalar

Üçlü okumaların ortalama değeri, her standart ve numune için hesaplanmıştır. Standart bir eğri oluşturmak için, x ekseni üzerindeki standart konsantrasyonları ve y ekseninde 450 nm'lik absorbansın karşılık gelen ortalamasını kullanarak grafiği çizin. En iyi uyum çizgisi, Şekil 3.1'de gösterildiği gibi regresyon analizi ile belirlenebilir.



Şekil 3.1 TSH için Standart Eğri

3.3.5 (ELISA) Testi İle Triiodothyronine (t3) Hormonunun Belirlenmesi

İkinci antikor, mikrotitre kuyuları üzerinde kapsüllenir. İnce oyuklara bir miktar hasta serumu, T3'e karşı belirli miktarda bir fare monoklonal antikoru ve yaban turpu peroksidazı ile konjüge edilmiş sabit miktarda T3 eklenir. İnkübasyon yoluyla fare antiT3 antikoru, kuyucuklar üzerindeki ikinci antikora bağlanır; T3 ve enzim konjüge-T3, anti-T3 antikoru üzerindeki sınırlı bağlanma yerleri için rekabet eder. Oda sıcaklığında 60 dakikalık inkübasyondan sonra oyuklar, bağlanmamış T3 konjugatını çıkarmak için suyla 5 kez yıkanır. Daha sonra bir TMB reaktifi çözeltisi eklendi ve 20 dakika inhibe edildi, mavi bir renk oluşması sağlandı. Durdurma çözeltisinin eklenmesiyle renk gelişimi durdurulur ve absorbans, 450 nm'de spektrofotometrik birleşik ölçülür. Oluşan rengin gücü, mevcut olan kimyasalın ölçüsüne karşılık gelir ve aynı şekilde hesaplanan sınıflandırılmamış T3 miktarı ile derinden ilişkilidir.

3.3.5.1 T3 Hormonunun Belirlenmesi İçin Kullanılan Malzemeler Kullanılan

malzemeler Çizelge 3.11‘de verilmiştir.

Çizelge 3.11 T3 hormonunun belirlenmesi için kullanılan malzemeler

Malzeme	Miktar
Keçi Anti-Fare IgG Kaplı Mikrotiter	kuyucuk 96-kuyucuk plakası
Enzim Eşlenik Konsantresi (11x).	1,3 mL
Enzim Eşlenik Seyreltici 13 mL.	13 mL
T3 Referans Standardı, 0/0,75/1,5/3,0/6,0	Her biri 1,0 mL
Antikor Reaktifi	7 mL
TMB Reaktifi	11 mL
Durdurma Çözeltisi (1N HCl)	11 mL

Bu malzemeler kite dahil değildir, ancak bu testi başarıyla kullanmak için gerekli olacaktır:

- Hassas pipetler: 50µL, 100 µLandL. 0mL.
- Tek kullanımlık pipet uçları.
- Arıtılmış su.
- Vorteks karıştırıcı eşdeğeri.
- Emici kâğıt veya kâğıt havlu.
- Grafik kâğıdı.
- Mikrotitre kuyu okuyucu
- 10 nm veya daha az bant genişliğine ve 450 nm dalga boyunda 0-2 OD veya daha büyük bir optik yoğunluk aralığına sahip bir mikrotitre plaka okuyucusu, absorbans ölçümünde kullanım için kabul edilebilir.

3.3.5.2 Numune Hazırlama

Serum

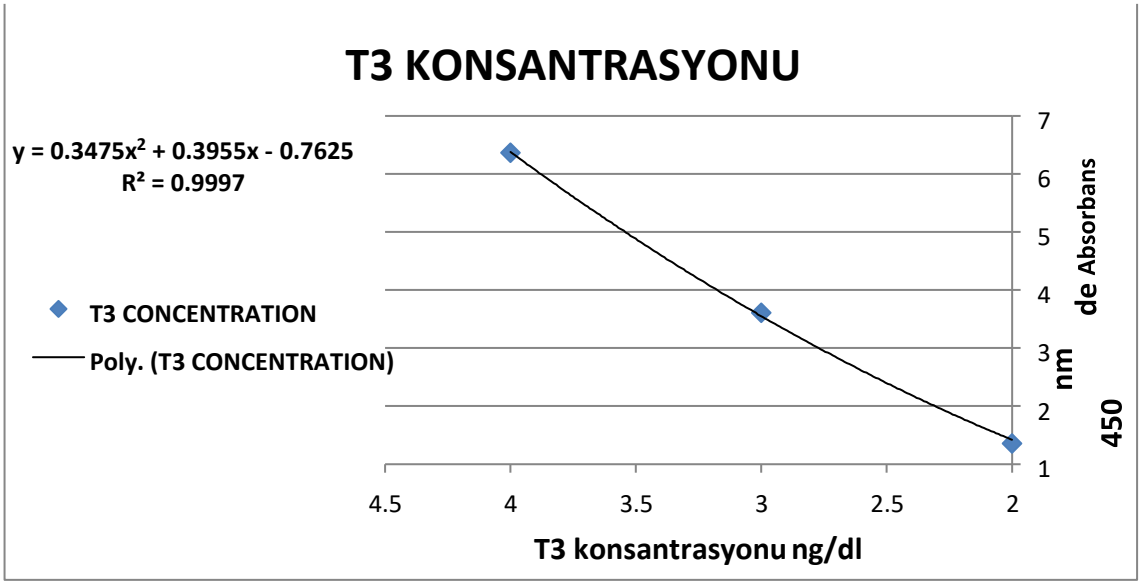
Bu kit, Amerikan menşeli cloud-clone şirketi olduğu durumlarda herhangi bir katkı maddesi olmadan serum numuneleriyle kullanılır.

3.3.5.3 Prosedür

1. Her kuyucuğa 50 µL standart, numune ve kontrol grubundan eklendi.
2. Ayrıca her kuyucuğa 50 µL antikor reaktifi ekleyin, ardından 30 saniye boyunca iyice karıştırın.
3. Her kuyuya 100 µL konjugat reaktifi eklendi ve 30 saniye karıştırıldı.
4. Ardından oda sıcaklığında yaklaşık 60 dakika inkübe edin.
5. Karışım, plakanın içeriği kap içine çalkalanarak ayrılır.
6. Kuyucuklar, damıtılmış su ile beş kez iyice yıkanır.
7. Daha sonra plaka, kalan su damlacıklarını çıkarmak için emici kâğıt üzerinde iyice çırpılır.
8. Her kuyucuğa 100 µL TMB reaktifi dağıtıldı ve 10 saniye karıştırıldı.
9. Karışım oda sıcaklığında karanlıkta 20 dakika boyunca çalkalanmadan inkübe edildi.
10. Reaksiyonu durdurmak için her kuyuya 100µL durdurma çözeltisi eklenmiştir.
11. Ve 30 saniye karıştırın.
12. 15 dakika içinde mikrotitre okuyucu ile 450 nm'de OD okuyun

3.3.5.4 Hesaplamalar

Üçlü okumaların ortalama değeri, her standart ve numune için hesaplandı. Standart bir eğri oluşturmak için, x eksenindeki standart konsantrasyonları ve y ekseninde 450 nm'lik absorbans ortalamasını kullanarak grafiği çizin. En iyi uyum çizgisi, Şekil 3.2'de gösterildiği üzere regresyon analizi ile belirlenebilir.



Şekil 3.2 T3 için Standart Eğri

3.3.6 (ELISA) TESTİ ile L-Tiroksin (T4) Hormonunun Belirlenmesi

Mikrotiter kuyularda belirli bir miktarda anti-T4 antikoru kaplanmıştır. Mikrometre kuyucuklarına hesaplanmış miktarda hasta serumu ve peroksidaz yaban turpu ile konjuge edilmiş sabit miktarda T4 eklenir. İnkübasyon periyodu sırasında serbest T4, T4 antikorunun sınırlı bağlanma bölgeleri için konjuge T4 ile rekabet eder. Oda sıcaklığında 60 dakikalık inkübasyondan sonra oyuklar, bağlanmamış T4 birleşimini ortadan kaldırmak için 5 kez su ile yıkandı. TMB Reaktifi ekledikten ve 20 dakika inkübe ettikten sonra renk maviye döndü. Durdurma çözeltisinin eklenmesiyle renk yoğunluğu artışı durdurulur ve absorbans, 450 nm'de optik olarak ölçülür. Oluşan rengin yoğunluğu, mevcut enzim miktarı ile orantılıdır ve numunedeki işaretlenmemiş T4 miktarı ile ters orantılıdır Aynı şekilde incelenen bir dizi T4 parametresine atıfta bulunularak bilinmeyen numunedeki T4 konsantrasyonu ölçülür.

3.3.6.1 Malzemeler

Kullanılan malzemeler Çizelge 3.12’ de gösterilmiştir.

Çizelge 3.12 T4 hormonun belirlenmesi için kullanılan malzemeler

Malzeme	**Miktar**
Koyun anti-T4 kaplı mikrotiter kuyuları	kuyucuk 96-kuyucuk plakaları
Enzim Eşlenik Reaktif Konsantresi (11x)	1,3 mL
Enzim Eşlenik Seyreltici	13 mL
T4 ReferansStandartları: 0, 2, 5, 10, 15, and 25 ug/dL	1 set, 1mL/vial
TMB Reaktifi	11 mL
Durdurma Çözeltisi(1N HCl)	11 mL

Bu malzemeler kite dâhil değildir, ancak bu testi başarıyla kullanmak için gerekli olacaktır:

Hassas pipetler: 25 µL, 100 µL ve 1. 0 mL.

• Tek kullanımlık pipet uçları.

•Arıtılmış su.

• Vorteks karıştırıcı veya eşdeğeri.

• Emici kâğıt veya kâğıt havlu.

• Grafik kâğıdı.

• Mikrotitre plaka okuyucu.

3.3.6.2 Numune Hazırlanma

Serum

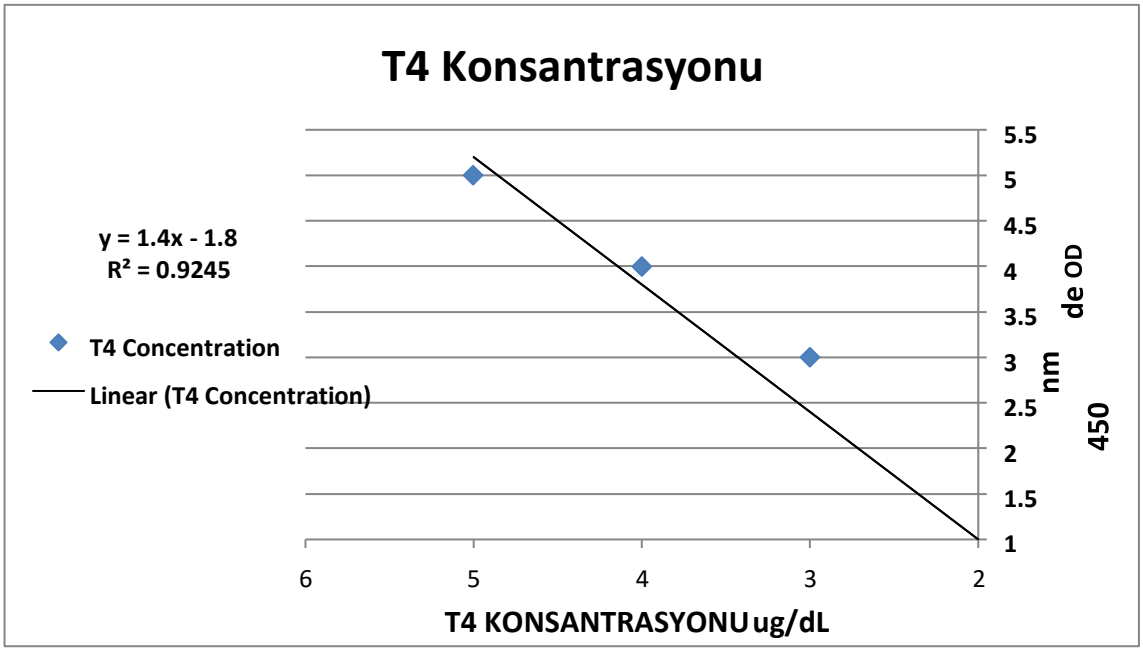
Bu kit, Amerikan menşeli cloud-clone şirketi olduğu durumlarda herhangi bir katkı maddesi olmadan serum numuneleriyle kullanılır.

3.3.6.3 Prosedür

1. Her kuyucuğa 25 µL standart, örnek ve kontrol grubundan eklenmiştir.
2. Her kuyucuğa 100 µL konjugat reaktifi eklenmiştir.
3. Daha sonra oda sıcaklığında yaklaşık 60 dakika inhibe edin.
4. Karışım 30 dakika atılır.
5. Daha sonra oda sıcaklığında (18-25°C) 60 dakika inkübe edilir.
6. Kuyular, damıtılmış su ile beş kez iyice yıkanır.
7. Karışım, plaka içeriği kabın içine çalkalanarak ayrılır.
8. Kuyucuklar distile su ile beş kez iyice yıkanır.
9. Daha sonra plaka, kalan su damlacıklarını çıkarmak için emici kâğıt üzerinde iyice çırpıldı.
10. Her kuyuya 100 µL TMB reaktifi dağıtıldı. 10 saniye karıştırın.
11. Karışım oda sıcaklığında karanlıkta 20 dakika boyunca çalkalanmadan inhibe edildi.
12. Reaksiyonu durdurmak için her kuyuya 100 µL durdurma çözeltisi eklenmiştir.
13. Ve 30 saniye karıştırın.
14. OD'yi 450 nm'de mikrotitre okuyucu ile 15 dakika içinde okuyun

3.3.6.4 Hesaplamalar

Üçlü okumaların ortalama değeri, her standart ve numune için hesaplandı. Standart bir eğri oluşturmak için, x eksenindeki standart konsantrasyonları ve y ekseninde 450 nm'lik absorbans ortalamasını kullanarak grafiği çizin. En iyi uyum çizgisi, Şekil 3.3 te gösterildiği üzere regresyon analizi ile belirlenebilir.



Şekil 3.3 T4 için Standart Eğri

3.4 Moleküler Saptamalar

3.4.1 Kandan DNA Ekstraksiyonu

Kullanılan kitler Çizelge 3.13'de verilmiştir.

Çizelge 3.13 Genomik DNA mini kitinin kit içeriği

RBC Lizis Tamponu	135 mL
GT Tamponu	30 mL
GB Tamponu	40 mL
W1 Tamponu	45 mL
Yıkama Tamponu *(Etanol ekleyin)	25 mL ve 100mL
Elüsyon Tamponu	30
GD Sütunları	100
2 ml Toplama Tüpleri	200

3.4.2 Geneaid Company Tarafından Sağlanan Prosedür, DNA İzolasyonu için

Aşağıdaki Gibi Kullanıldı

1- 5 mL mikrosantrifüj tüpüne 300 µL kan eklenmiştir.
2- Ayrıca RBC Lizis Tamponundan 3 x numune hacmi eklendi ve daha sonra vorteks olmadan ters çevrilerek karıştırıldı. Tüpler oda sıcaklığında 10 dakika inhibe edildi.
3- Ayrılmamış parçacıkları çıkarmak için numune tüpünü 3,000 x'te 5 dakika boyunca santrifüjleyin ve lizata 100 µL RBC Lizis Tamponu ekleyin.
4- 60°C'de 10 dakika inkübasyondan sonra santrifüj tüpüne 4-200 µL GB Tamponu eklenmiştir. Bundan sonra, berrak bir çözeltiye 5 uL RNase A (10 mg/mL) ilave edildi ve daha sonra oda sıcaklığında 5 dakika çalkalanarak ve kuvvetli inkübasyonla karıştırıldı.
5- Lizata 200 µL mutlak etanol ilave edildi ve daha sonra 10 saniye süreyle kuvvetlice karıştırıldı. Daha sonra GD kolonunu 2 mL'lik bir toplama tüpüne yerleştirin, karışımı bir GD kolonuna aktarın ve ardından 5 dakika 14-16000 xg'de bir santrifüjleyin. 2 mL koleksiyonu tüpe atın ve GD kolonunu yeni bir 2 mL toplama tüpüne yerleştirin.
6- GD kolonuna 400 µL W1 tamponu ilave edildi ve ardından 30-60 saniye 14-16000 x g'de santrifüjlendi.
7- Akış atıldı ve GD kolonu, GD kolon santrifüjünde 30-60 s süreyle 14-16000 x g'de etanol eklendikten sonra 600 µL yıkama solüsyonu ilave edilerek 2 mL toplayıcı tüpe tekrar yerleştirildi ve daha sonra atıldı. Sütun matrisini kurutmak için GD sütununu tekrar santrifüj tüpüne 2 mL diziye 3 dakika süreyle 14-16000 × g'de yerleştirin. Kurutulmuş GD kolonunu temiz bir 1,5 mL mikro santrifüj tüpüne, merkez kolon matrisine 100 µL Elüsyon Tamponu eklenerek aktarın.
8- Saflaştırılmış DNA'nın ayrıştırılması için 14-16000 x g'de 30 saniye santrifüjlenen elüsyon Tamponu çözeltisini emmek için 3 dakika bırakın.

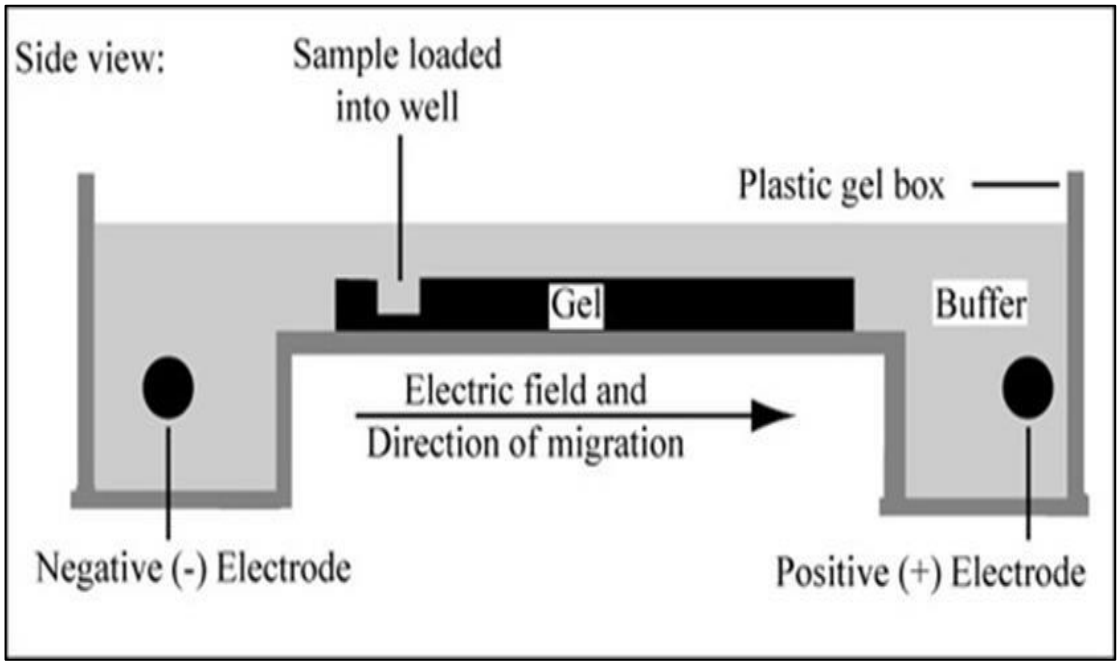
3.5 Agaroz Jeli Hazırlanması

Sambrook ve arkadaşlarına (1989) göre agaroz jel, 1,5 g agarozun 100 mL halihazırda yapılmış TBE tamponunda eritilmesiyle %1,5 konsantre halinde yapılır. Agaroz ısıtıldı, sonra (45-50^{o}C) soğumaya bırakıldı. Jel, numuneleri tutacak delikler açmak için tarak

takıldıktan sonra agaroz destek plakasının hazırlandığı döküm plakasına döküldü. Jeli hava kabarcıkları oluşturmaması için yavaşça dökün ve 30 dakika soğumaya bırakın. Tarak, sert agarozdan yavaşça çıkarıldı. Plaka, elektroforez için kullanılan tankla temsil edilen yatay elektroforez ünitesindeki tutucusuna yerleştirildi. Hazne, jel yüzeyini kaplayan TBE tamponu ile dolduruldu.

3.5.1 Numune Hazırlanması

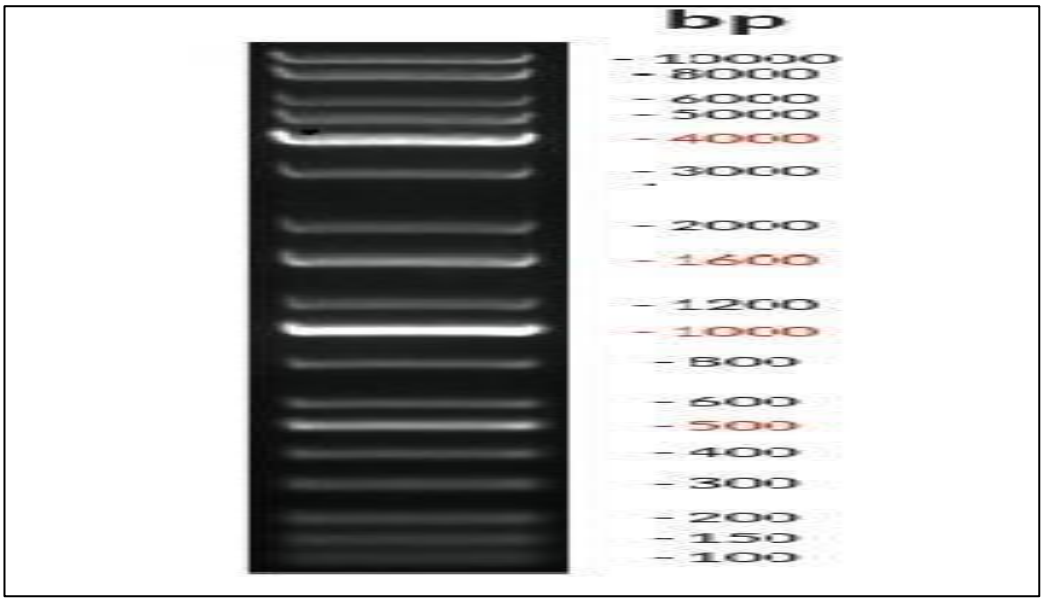
3 µL işlemci yükleme tamponu (Intron/Kore) elektroforez (yükleme boyası) olduğu varsayılan 5 µl DNA ile karıştırıldı ve karıştırma işleminden sonra yükleme işlemi artık jel deliklerinde gerçekleşmektedir. Boya jelin diğer tarafına ulaşana kadar 1saat 15 dakika süreyle 7 V/C2 elektrik akımına maruz bırakıldı. Jel, 30 µl kırmızı güvenli DNA boyama çözeltisi ve 500 mL damıtılmış su içeren havuza jelin uygulanmasından sonra 336 nm'lik bir UV kaynağı ile Şekil 3.4 te gösterildiği üzere test edilmiştir.



Şekil 3.4 Elektroforez sisteminin çalışması

3.6 KAPA Evrensel DNA Merdiveni

KAPA Evrensel Merdiven Kiti, agaroz jel üzerindeki çift sarmallı DNA'nın yaklaşık boyutunu ve miktarını belirlemek için tasarlanmıştır. KAPA Evrensel Merdiven kitleri, Şekil 3.5 'te gösterildiği gibi on sekiz farklı DNA fragmanı içerir (baz çiftleri halinde): 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600, 800,1000, 1200, 1600, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 8000 ve 10000. KAPA Evrensel Merdiven, oryantasyon için dört referans bandı (500, 1000, 1600 ve 4000) içermektedir.



Şekil 3.5 KAPA Evrensel Merdiven Kiti

3.7 PCR ASPCR ile p53 Geninin Belirlenmesilokus 72'de p53 Genotiplemesi

3.7.1 PCR Prosedürü

P53 Polimorfizminin Alel Spesifik PCR Analizi Kodon 72'de p53'ün genotiplemesi, alele spesifik bir PCR amplifikasyon prosedürü ile gerçekleştirildi. P53 sekanslarını ayrı ayrı amplifiye etmek için farklı 3 terminal bazlı iki primer çifti kullanıldı- Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'de gösterildiği gibi prolin (176 baz çifti) içinp53İleri (GCCAGAGGCTGCTCCCC) ve p53Geri (CGTGCAAGTCACAGACTT) ve arjinin

(143bp) için p53ileri (TCCCCCTTGCCGTCCCAA) ve p53geri (CTGGTGCAGGGGCCACG). Amplifikasyon reaksiyonu, 1×Taq polimeraz tamponunda her bir konsensüs primerinden 0,5 µM, 200 m M dNTP, 0,125 birim Taq DNA polimeraz ve 2 µL genomik DNA içeren toplam 25 µL hacimde gerçekleştirildi. P53 genotiplemesi, alele özgü PCR (AS-PCR) ile yapıldı. rimer dizilerinde gösterildiği gibi p53 Pro ve p53 Arg'yi saptamak için iki primer ayrıldı. DNA, bir Gene Amp PCR System 9700 termo döngüleyicide(Applied Biosystems), p53 Pro ve p53 Arggene için Termal döngü koşullarında büyütüldü. Touchdown PCR prosedürü, p53 genotiplemesi için seçildi. Program ilk denatürasyon 1 adımı 94°C'de 10 dakika, ardından 1 döngü ve {94°C'de 30 saniye için denatürasyon 2 adımı, 58°C'de 30 saniye tavlama adımı, 72°C'de 40 saniye için uzatma 1 adımı C} ve ardından 40 döngü. Son uzatma 2 adımı, 72°C'de 7 dakika süreyle gerçekleştirildi.

3.7.2 Primerlerin Hazırlanması

Primerler liyofilize edildi, stok çözelti olarak 100 pmol/µL nihai konsantrasyon vermek üzere serbest ddH2O içinde çözündürüldü ve iş primeri 90 µl stok çözeltisi süspanse edildiğinde 10 pmol/µL konsantrasyonları hazırlamak için -20C0'da bir stok tutuldu ve nihai hacim 100 µL'ye ulaşmaşabilmesi için 90 µlserbest ddH2O eklendi Moleküler tahlilde kullanılan primerlerin dizisi sırasıyla Çizelge 3.14, 3.15 ve 3.16'da gösterilmiştir.

3.7.2.1 Primer Seçimi

a) P53 geninin spesifik primeri

Çizelge 3.14 P53 Pro'nun saptanmasında kullanılan primer dizisi

Primer	**Dizi**	**Ürün Boyutu**
İleri	5'- GCCAGAGGCTGCTCCCCC- 3'	176 Baz çift
Geri	5'- CGTGCAAGTCACAGACTT - 3’	

b) Spesifik primer p53 Pro

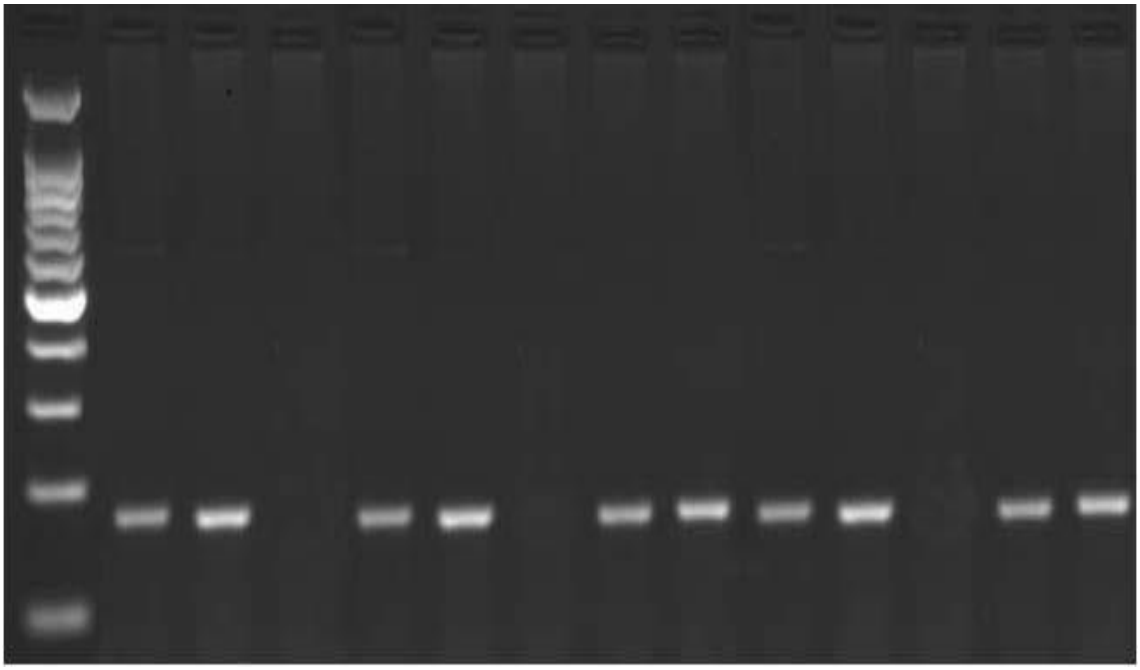
Çizelge 3.15 P53 Arg saptanmasında kullanılan primer dizisi

Primer	Dizi	Ürün Boyutu
İleri	5'- TCCCCCTT GCCGTCCCAA - 3'	143 Baz çift
Geri	5'- CTGGTGCAGGGGCCACGC - 3’	

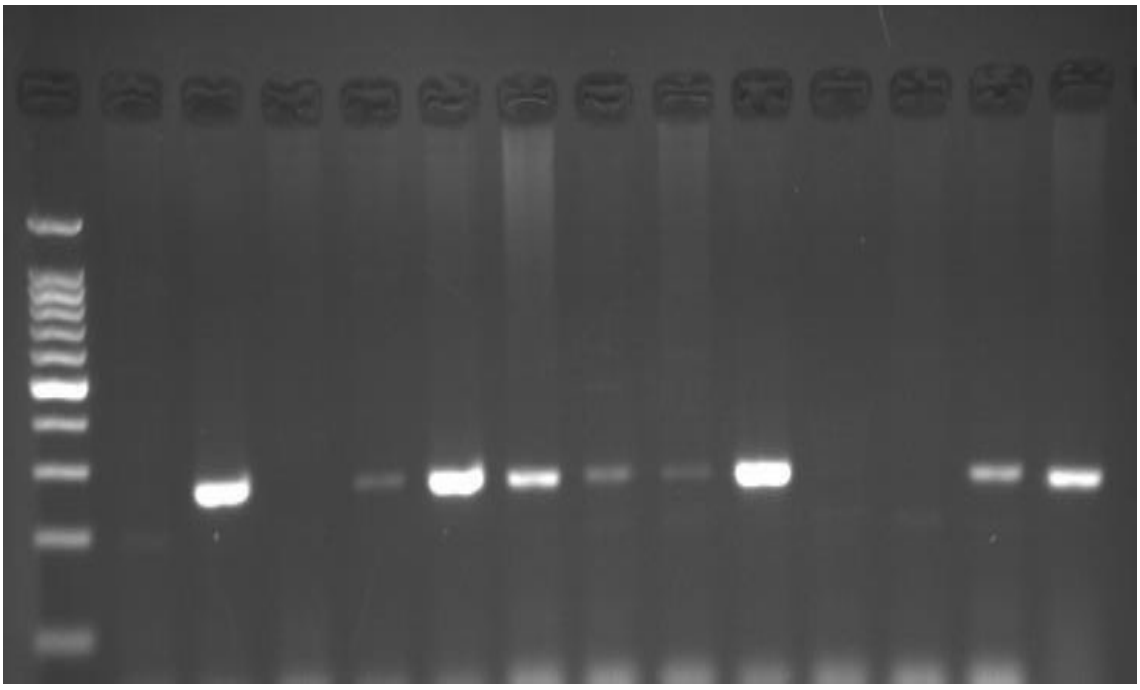
Çizelge 3.16 Termo döngü cihazlarında uygulanan PCR programı

No	Aşama	Derece (Cº)	Süre	Döngü Sayısı
1-	İlk Denatürasyon	94ºC	10 dk.	40 döngü
2-	Denatürasyon	94ºC	30sn	
3-	Tavlama	58ºC	30sn	
4-	Uzantı-1	72ºC	40sn	
5-	Uzantı -2	72ºC	7 dk	

P53 pro ve p53 Arg amplifikasyonundan elde edilen PCR ürünleri daha sonra 1,5 saat boyunca 5 hacim/cm2 1X TBE tamponunda %2 agaroz üzerinde elektroforeze tabi tutuldu. N: DNA merdiveni (100) 144 bp'lik bantların varlığı, p53 pro genotiplerinin göstergesi olup, 176 bp, sırasıyla şekil 3.6 ve Şekil 3.7'de gösterildiği gibi p53 Arg genotiplerinin göstergesi olmuştur.



Şekil 3.6 P53 Arg genotipinin PCR ürünleri, bant boyutu 144 bp



Şekil 3.7 P53 Pro genotipinin PCR ürünleri, bant boyutu 176 bp

3.8 İstatistiksel Analiz

Veriler ortalama ± SD (Standart Sapma) olarak ifade edilirlken olasılık IBM SPSS sürüm 24Pearson ki-kare, Fischer mutlak olasılık istatistiksel analiz prograları kullanılarak ifade edilmiştir. Tek oran, taşınabilir istatistik programı WinPepi sürüm 11,65 kullanılarak çalışılan gruplar arasındaki polimorfizmler ve ilgili parametreler arasındaki önemi ifade etmek için kullanılırkengenotipleme ve alel frekans hesaplaması için çevrimiçi Hardy-Weinberg denge hesaplayıcısı kullanılmıştır.

4. TARTIŞMA

4.1 Lipitprofilleri

Lipitler, biyomoleküllerdir ve zarların ana bileşenleridir. Ayrıca hücre büyümesi ve bölünmesi ile normal ve habis dokuların gelişimi dahil olmak üzere çeşitli biyolojik işlevlerde önemli bir rol oynamaktadırlar (Jellinger *et al.* 2017).

Bazı kanserlerde kandaki kolesterol erken fark edilir değişikliklere uğrar. Çeşitli çalışmalar, kandaki lipit profili ile farklı tümörler arasında ters bir ilişki olduğunu göstermiştir (Akahoshi *et al.* 1996). Öte yandan, yeni yüksek toplam kolesterol seviyelerinin kanserde anahtar bir rol oynadığı öne sürülmüştür.

Bu çalışmada göğüs kanserinin plazma lipitleri üzerindeki etkisini araştırmak için sağlıklı kadınlarda (kontrol grubu) toplam kolesterol, triasilgliserol, LDL-C, HDL-C ve VLDL-C ölçüldü.

4.1.1 Kolesterol Konsantrasyonu

Ayrıca lipitler ve lipoproteinler, kanser hastalığı tehlikesi ile ilişkilendirilmiştir (Burgess *et al*. 2018). Çalışmanın sonucu, göğüs kanseri olmuş kadınlarda artmış toplam kolesterol seviyesi olduğu ortaya çıkmıştır ve bunun nedeni olarak kolesterolün steroid hormon sentezinin önemli bir rol oynadığı ve endojen steroid hormonların doğrudan göğüs kanseri riski ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Schroor *et al*. 2019).

Bu çalışmanın sonuçları, göğüs kanseri hastalarında toplam kolesterol düzeyinde önemli bir artış olduğu ve toplam kolesterol ile göğüs kanseri riski arasında bir ilişki olduğunu gösteren Swelmien, 2014 ile uyumludur (Al-Swelmien *et al*. 2014).

Yakın tarihli bir rapor, göğüs kanseri gelişiminin, diğer tümörler ile karşılaştırıldığında yüksek kolesterol ile bir ilişkisi olduğunu göstermiştir (Ghahremanfard *et al*. 2015).

4.1.2 Triasilgliserol Konsantrasyonu

Mevcut çalışmanın sonuçları, Xing Li ve arkadaşları 2017 tarafından elde edilenlerden farklıydı. Kandaki trigliserid seviyesi düşmesine rağmen, bu azalmanın göğüs kanseri hastaları için bir risk faktörü olduğunu belirtmişlerdir.

Önceki çalışmalar, serum trigliseridinin göğüs kanseri riskiyle ilişkili olmadığını bildirmiştir (Hong *et al*. 2016). Yüksek TG konsantrasyonları ile globulini sınırlayan azalan seks hormonu seviyeleri arasındaki ilişki, serbest estradiolün artmasına ve sonuç olarak genişlemiş göğüs karsinomu tehlikesine yol açar (Takatani *et al*. 1991).

4.1.3 Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol Konsantrasyonu

Bununla birlikte, vaka ve kontrol grubundakiler arasında HDL-C seviyelerinde statik olarak önemli bir fark bildirilmiştir, yüksek serum HDL-C'nin, göğüs kanseri riskinin artmasının biyokimyasal bir indeksi olabileceğini düşündürmüştür (Borrelli *et al*. 1993). Bu sonuçlar Al-swelmien'in (2014) yaptığı çalışmayı desteklemektedir.

Bu çalışmada gösterilen HDL-C konsantrasyon düzeyindeki artış, HDL kolesterolünü ve göğüs kanseri riskini artırdığını bulan Kiran ve Hardeep (2012) çalışmalarını desteklemektedir.

4.1.4 Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol Konsantrasyonu

LDL-C konsantrasyon seviyesindeki bu artış, oksidasyonda önemli bir role sahip olduğu için kanser için risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Ioannis Delimaris *et al.* 2007).
LDL-C, oksidatif stres sırasında lipid peroksidasyonunun yükselmesine yol açtığı oksidasyonda önemli bir rol oynar (Gibanananda *et al.* 2000), reaktif oksijen türlerinin yüksek konsantrasyonunun ve/veya plazma antioksidanı dolaşımıyla serbest radikallerin

uygun olmayan temizlenmesinin, bireyin oksidatif durumuna bağlı olarak LDL-C'nin lipit peroksidasyon ürünlerinin artmasına neden olduğunu belirtmiştir.

4.1.5 Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol Konsantrasyonu

Bu çalışmanın sonuçları, kontrol grubu ve iyi huylugöğüs karsinomu olan hastalarla karşılaştırıldığında göğüs kanseri hastalarında plazma VLDL düzeylerinin anlamlı derecede yüksek olduğunu bulan (Shah *et al.* 2008) tarafından elde edilen sonuçlara benzerlik arz etmektedir. Yakın zamanda yapılan bir araştırma, VLDL'nin in vitro göğüs kanseri hücre canlılığını, VLDL'yi, mezenkimal belirteçler Slug, Vimentin ve β-Katenin düzeylerini artırdığını ve göğüs kanseri hücre göçünü ve istilasını ve VLDL'nin göğüs kanseri hücrelerinde anjiyojenik faktörlerin salgılanmasını artırdığını ve anjiyojenik aktiviteyi teşvik ettiğinigöstermiştir (Lu *et al.* 2017).

4.2 Tiroid Hormonları

Tiroid disfonksiyonu ile göğüs kanseri tehlikesi arasındaki ilişki belirsizdir. Tiroid hormonları, Tiroid Hormon Reseptörlerine (TRS) bağlanarak gen ifadesini artırmaktadır. Tiroid hormonunun genetik olmayan etkisi ayrıca gösterilmiştir. Epidemiyolojik araştırmalar çelişkili sonuçlar vermiştir, bazıları hipotiroidizm veya hipertiroidizm ile göğüs kanseri riski arasında bir ilişki olduğunu gösterirken, diğerleri bağlantı olmadığını açıklamıştır (Chaker and Visser 2016).

Tiroid hormonları, göğüsler dâhil olmak üzere hemen hemen tüm memeli dokularının büyüme, gelişme, metabolizma ve fizyolojik kapasitesi ile ilişkilidir (Brent 2012). Triiodotironinin (T3) çeşitli kanser türlerinde proliferatif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Göğüs kanseri hücre hatları, T3, tümör proliferasyonunu tetikleyebilir ve göğüs kanserinin gelişimi ve ilerlemesinde önemli rol oynayabilir (De Sibio *et al.* 2014).

Sonuçlarımızda göğüs kanseri olan kadın grubunun %3'ünde tiroid disfonksiyonu saptanırken, diğer çalışmalarda %7 ila %39 arasında geniş bir aralık bildirilmiştir (Cengiz

et al. 2004). Bu farklılık hem beslenmeyle ilgili, ırksal ve coğrafi faktörlerden hem de sağlıklı ırksal ve coğrafi unsurlardan kaynaklanıyor olabilir (Naslund *et al.* 2000).

Tiroid hormonlarının göğüs epitel genişlemesi üzerindeki etkisine dair in vitro kanıtlar olmasına rağmen, epidemiyolojik incelemelerin tiroid bozuklukları ile göğüs kanseri riski arasındaki ilişkiye çok az yardımı vardır (Zhang *et al.* 2017).

Başka bir raporda, hipertiroidizm ile göğüsün kötü huylu büyüme tehlikesi arasında bir bağlantı olduğu ifade edilmiştir, ancak bu sadece 17 vaka ve 19 kontrolde yapıldığı için ve bu bulgu, küçük örneklem boyutu nedeniyle daha fazla araştırmaya tabidir (Pedram *et al*. 2020).

Birkaç inceleme, göğüs kanserine sahip bir aile geçmişinin, sonuçları etkileyebilecek göğüs kanseri tehlikesi oluşturacağını önermektedir (Streff *et al.* 2016).

4.3 P53 Polimorfizm

P53 geni, hücre döngüsü kontrolünde, apoptozun başlangıcında ve DNA onarımında önemli rol oynar. P53 geninin kodon 72'sindeki bir Arg/Pro polimorfizmi, p53 proteininin apoptozu indükleme kapasitesini değiştirir, DNA onarım kapasitesini azaltır ve artmış bir göğüs kanseri riski ile bağlantılı olabilir (Evgeny *et al*. 2003).

Kodon 72 polimorfizmi, arginin (R72)'yi proline (p72) değiştirerek protein yapısının modifikasyonuna yol açtığı için yaygın popülasyonda yaygın bir varyasyondur (Matlashewski *et al.* 1987). Moleküler düzeyde, Arg alelinin Pro allelinden oldukça çeşitli özelliklere sahip olduğu artan bir indeks gövdesi vardır (Siddique and Sabapathy 2006). Codon 72 ve genotip frekansları sağlıklı Arap kadınlarında incelenmemiştir. Son yirmi yılda, p53 kod 72 polimorfizmi ile birkaç popülasyonda göğüs kanseri gelişme riski arasındaki ilişkiyi araştırmak için bir dizi çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar çelişkili sonuçlar bildirmiştir. Bazı çalışmalar, R72 p53 varyantı ile artmış göğüs kanseri riski arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (Sansone *et al.* 2007).

Pro/Arg heterozigot genotipinin hem meme kanseri hastalarında hem de kontrollerde. Bu sonuçlar, istatistiksel analizin sadece Kuveytli hastaları, tek başına Suriyeli hastaları ve havuzlanmış numuneleri içerenve gözlem yoluyla kontrol grubundakiler ve vakalar arasındaki kodon 72'deki önemli farklılıkları bulan Shafika ve arkadaşları (2011) ile paralellik arz etmektedir. Bu çalışmanın sonuçları, Ruanda Popülasyonunda yürütülen bir başka çalışma ile uyumludur.

Bu çalışma, insan P53 geninin polimorfizmini ve meme kanseri ile ilişkisini içermekte olup, hem meme kanseri grubunda hem de kontrol grubunda baskın olan heterozigot Pro/Arg genotipini göstermektedir ve vakaların sırasıyla %80'inde (32-40) ve %92,3'ünde (36-39) mevcuttu, p53 kodon 72 polimorfizmi ile meme kanseri riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı.

5. SONUÇ

5.1 Çalışma Popülasyonunun Genel Özellikleri

Muayene popülasyonu 50 vaka (göğüs kanseri olmuş kadın) ve 50 kontrol (sağlıklı kadın) içeriyordu. Çizelge 5.1, çalışma gruplarının genel niteliklerini göstermektedir. Kontrol ve vakaların 11'i (%22) ve 14'ü (%28) bekâr iken 39'u (%78) ve 36'sı (%72) evliydi. Eğitim durumunun araştırıldığında, 9'u (%18) kontrol ve 15'i (% 30) vakanın okuma yazma bilmediği, 17'si (%34) ve 7'si (%14) vakanın ilkokulu, 10'u (%20) ve 16'sı (%32) ortaokulu bitirmiş ve 14'ü (%28) ve 12'si (%24) üniversite mezunu olduğu görülmüştür. Toplam 34'ü (%68) kontrol ve 29'u (%58) vaka iş sahibi olduğu, 16'sı (%32) ve 21'i (%42) işsiz olduğu, kontrol ve vaka gruplarında hiçbir kadının sigara kullanmadığı görülmüştür.

Çizelge 5.1 Çalışma popülasyonunun genel özellikleri

Özellik	Kontrol Grubu (n=50)		Göğüs Kanseri Olmuş Kadınlar (n=50)	
	Sayı	%	Sayı	%
Medeni Durumu Bekâr	14	28	11	22
Evli	36	72	39	78
Eğitim Durumu Okuma Yazma Bilmeyen	9	18	15	30
İlk Okul	17	34	7	14
Orta Okul	10	20	16	32
Üniversite	14	28	12	24
İstihdam Durumu Çalışıyor	34	68	29	58
İşsiz	16	32	21	42
Sigara İçme Durumu İçen	0	0	0	0
İçmeyen	50	100	50	100

5.2 Yaş Dağılımı

Bu çalışmaya aşağıdaki grupları içeren yüz kadın katıldı:

1. Grup

Bu grup, yaşları 21-71 arasında değişen 50 göğüs kanseri olmuş kadını içermekte olup ve grubun ortalama ± standart sapması 47,42 ± 44,13 yıldı. Yaş grubu dağılımları en yüksek frekansta olan 13 hasta (%26'sı) (31 - 41) yaş grubunda yer aldı. Bunu %22 4251 yaş grubunda 11 hasta ve 52-61 yaş grubunda 9'ü (%18) hasta ile 62-71 yaş grubundaki 9'ü (%18'si) hasta takip etmektedir, en az sıklıkta olan 21-31'lik yaş grubunda 8 hasta (%16) oldu.

2.Grup

Bu grup görünüşte sağlıklı 50 kadını içeriyordu. Yaşları (20-70) yıl arasında değişen ve grubun ortalama ± standart sapması 47,34 ± 14,48 yıldı.

5.3 Kolesterol Konsantrasyonu

Toplam kolesterol konsantrasyonu, enzimatik yöntem esas alınarak (3.3.2.1) 'de açıklandığı gibi belirlenmiştir. Çizelge 5.2'de gösterilen sonuçlar ve kontrol olarak sağlıklı gruba göre göğüs kanseri olmuş kadınların serumunda toplam kolesterol konsantrasyonunda önemli bir artış vardır (201,37 ± 25,88 vs 190,42 ±10,9) ($P < 0,05$).

Çizelge 5.2 İncelenen gruplarda kolesterol konsantrasyonu

Parametre / Groplar	Kolesterol (değer±SD)
Kontrol	**A** 190,42±10,9
SAYI	**50**
Göğüs Kanseri	**B** 201,37±25,88
SAYI	**50**
P-değeri	0,0117
Anlam Değeri	P<0,05

5.4 Triasilgliserol Konsantrasyonu

Trigliserid konsantrasyonu, Çizelge 5.3'te gösterildiği gibi sağlıklı kadınalrdan oluşan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında göğüs kanseri olmuş kadınlarda da artmıştır (232,63 ± 86,65'e karşı 185,36 ±65,14) (P <0,05).

Çizelge 5.3 Triasilgliserolün çalışılan gruplarda konsantrasyonu

Parametre / Gruplar	Triasilgliserol (ortalama±SD)
Kontrol	**A** 185,36±65,14
SAYI	**50**
Göğüs Kanseri	**B** 232,63±86,65
SAYI	**50**
P-değeri	0,0014

5.5 Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol Konsantrasyonu

Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol HDL-C, (3.5.2.3) 'de tarif edildiği gibi belirlenmiştir. Kontrol grubu ve göğüs kanseri hastalar grubunda olan kadınların serumlarında HDL-C konsantrasyonunun sonuçları Çizelge 5.4'de sunulmuştur. Bu sonuçlar, göğüs kanserli kadınların serumundaki HDL-C konsantrasyonunda, kontrol grubuna (49,61 ± 9,65 ve 54,31 ± 7,31) kıyasla anlamlı farklılık göstermiştir (P = 0, 0114).

Çizelge 5.4 İncelenen gruplarda Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol Konsantrasyonu

Parametre / Gruplar	HDL (ortalama±SD)
Kontrol	**A** 54,31±7,31
SAYI	**50**
Göğüs Kanseri	**B** 49,61±9,65
SAYI	**50**
P-değeri	0,0114
Anlam Değeri	P<0,05

5.6 Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol Konsantrasyonu

LDL-C konsantrasyonu (3.5.2.4) 'te açıklandığı gibi hesaplanmış olup ve LDL-C'nin sonuçları Çizelge 5.5' de gösterilmiştir. Bu sonuçlar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında göğüs kanseri olan kadınların serumunda LDL-C konsantrasyonunda önemli bir artış olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, göğüs kanseri olan kadınların serumundaki LDL-C konsantrasyonunda, kontrol grubuna kıyasla anlamlı farklılık göstermiştir (201,37 ± 25,88 ve 110,61 ± 9,2) (P = 0,011).

Çizelge 5.5 Çalışılan gruplarda düşük yoğunluklu lipoprotein konsantrasyonu

Parametre / Gruplar	LDL (ortalama±SD)
Kontrol	**A** 110,61±9,2
SAYI	**50**
Göğüs kanseri	**B** 201,37±25,88
SAYI	**50**
P-değeri	0,011
Anlam Değeri	P<0,05

5.7 Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol Konsantrasyonu

VLDL-C konsantrasyonu (3.5.2.4)'te açıklandığı gibi hesaplanmış olup VLDL-C konsantrasyonunun sonuçları Çizelge 5.6'da sunulmuştur. Bu sonuçlar, kontrol grubu ve göğüs kanseri grubu kadınlar arasında önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir (39,98 ± 10,45 vs 31,80 ± 8,98) ((P=0001).

Çizelge 5.6 Çalışılan gruplarda çok düşük yoğunluklu lipoprotein konsantrasyonu

Parametre / Gruplar	VLDL (ortalama±SD)
Kontrol	**A** 31,80±8,98
SAYI	**50**
Göğüskanseri	**B** 39,98±10,45
SAYI	**50**
P-değeri	0,0001
Anlam değeri	P<0,05

5.8 Tiroid Hormonları

Hem göğüs kanseri hem de kontrol grubu kadınlarda tiroid hormon testlerinin sonuçları Çizelge 5.7'de sunulmuştur. Bu sonuçlar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında göğüs kanseri olan kadınların serumunda T3 konsantrasyonunda anlamlı olmayan farklılığı göstermiştir (93 ± 25,6 ve 87 ± 32,55) (0,6112). Sırasıyla, ortalama T4 düzeylerinin iki grup arasında anlamlı fark olduğu (5,6 ± 1,39 ve 4,9 ± 1,57) (0,0365), TSH düzeyleri ise iki grup arasında anlamlı olmayan fark olduğu bulunmuştur (2,91 ± 1,57 ve 3,09 ± 1,92) (0,607). T3, tümör proliferasyonunu uyarabilir ve göğüs kanserinin büyümesi ve ilerlemesinde anahtar rol oynayabilir (De Sibio *et al.* 2014).

Çizelge 5.7 Çalışılan gruplarda tiroid fonksiyon testleri

Tiroid testleri / Gruplar	T3 (ng/dL) (ortalama±SD)	T4 (ug/dL) (ortalama±SD)	TSH (µIU/mL) (ortalama±SD)
Kontrol	**A** 93±25,6	**A** 5,6±1,39	**A** 2,91±1,57
SAYI	**50**	**50**	**50**
Göğüskanseri	**A** 87±32,55	**B** 4,9±1,57	**A** 3,09±1,92
SAYI	**50**	**50**	**50**
P-değeri	0,6112	0,0365	0,607
Anlam değeri	P<0,05	P<0,05	P<0,05

Tiroid disfonksiyonu, hipotiroidizmi ve hipertiroidizmi olan hastaların değerlendirilmesi ayrıca Çizelge 5.8'de gösterildiği gibi iki grup arasında kayda değer bir ayrım olmadığını göstermiştir:

Çizelge 5.8 Çalışılan gruplarda tiroid bozuklukları

Tiroid testleri / Gruplar	İşlev bozukluğu	Hipotiroidizm	Hipotiroidizm
Kontrol	2 (%4)	3 (%6)	4 (%8)
SAYI	50	50	50
Göğüs kanseri	3 (%6)	2 (%4)	3 (%6)
SAYI	50	50	50

5.9 P53 Polimorfizm

Çalışma, p53 Codon 72 Proline Alel polimorfizminin çalışma grupları arasındaki dağılımını analiz etmiştir. P53 Codon 72 için kontrol ile karşılaştırılan incelenen gruplar arasında genotip ve alel frekanslarının dağılımı Çizelge 5.9 'da gösterilmiştir.

Çizelge 5.9 Araştırılan gruplarda p53 Codon 72 genotipinde genotip dağılımı ve alel frekansı

Parametre / Grup	Genotip (%)				Alel frekansı			
	Pro/pro		Arg/pro	Arg/arg	Pro		Arg	
Göğüs Kanseri	16 (32)	32 (64)	2 (4)	64	36 Kontrol	8 (16)	42 (84)	0 (0) 58
42 X^2 4,495	4,176	2,126	2,084	2,393 P-değeri	0,026	0,047	0,073	0,052 0,53 Anlam
Değeri Evet	Evet	Hayır	Hayır	Hayır				

Pro alel, incelenen gruplar arasında en yaygın olanıydı. Bu alel, göğüs kanseri hastalarında (%64) ve kontrolde (%58) daha yaygındır ve hastalar ve kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark yoktur (P=0,052). Burada istatistiksel kanıtlar küçük olabilir ve örnek sayısına veya koşullara göre farklılık gösterebilir.

Genel olarak, hem göğüs kanserli kadınlarda hem de kontrol grubundakilerde (sağlıklı) yaygın olan heterozigot genotip Arg/procommon, mevcut kontrol vakaları ile karşılaştırdığında sırasıyla (% 64'e karşı % 84, p = 0,047) olmuştur.

Araştırılan grupta homozigot genotipi, vaka grubundakilerle kontrol grubundakiler karşılaştırdığında anlam ilişkisi ile Pro/pro'dur (%32'ye karşı %16, p = 0,026).

Araştırılan herhangi bir grup için Arg/Arg genotipleriyle ilişkili olarak önemli bir farklılık yoktur.

P53 kodon 72 polimorfizmi, göğüs karsinomu dâhil olmak üzere çok sayıda tümörde en yaygın olarak incelenen polimorfizmdir. P53 kodon72 polimorfizmi ile göğüs kanseri yaratma riski arasındaki ilişki, tutarsız sonuçlara sahip çeşitli popülasyonlarda yoğunlaşmıştır. P53 SNP72 genotiplerinin yaygınlığını tahmin etmek için aleller, bu vaka kontrol konsantresini göğüs kanserli kadınlara ve kombine birleştirilmiş kontrol grubundakilere taşınması gereklidir.

Genel olarak, Pro alel en yaygın topluluktur. Hem vakalar hem de kontrol grubundakiler, Arg aleli ile karşılaştırıldığında bu alelin yüksek oranda yayıldığını göstermiştir.

Sonuçlarımız, heterozigot genotipin (Pro/Arg) hem kanser vakalarında ortak olduğunu hem de genotip için sağlıklı ve anlamlı ilişki elde edildiğini göstermiştir. Sonuçlarımız, vakalar ve kontroll grubu arasında (Pro/Arg) genotip dağılımının istatistiksel olarak anlamlı olduğunu belirtmiş olan Faghani (2007) ile uyumludur.

Çizelge 5.10'da görüldüğü üzere Genotip Pro/pro, göğüs kanseri ile bir ilişkiye sahiptir ve hastalığa yakalanma olasılığını arttırır (OR = 2,4706). Öte yandan, Arg/pro genotipi hastalık olasılığını azaltır OR= 0,0386. Ayrıca Arg/Arg, OR= 5,2062 olduğunda hastalığa yakalanma olasılığını artırabilir.

Çizelge 5.10 P53 genotiplerine göre Göğüs kanseri ve Sağlıklı grubu için olasılık oranı

72 lokusundaki P53 polimorfizmi	**% Frekans**		**P-değeri**	**OR (%95CI)**
Genotipler	**Göğüs Kanseri**	**Kontrol**		
Pro/pro	16 (32)	8 (16)	0,0653	2,4706 (0,9444 ila 6,4630)
Arg/pro	32 (64)	42 (84)	0,0257	0,3386 (0,1308 ila 0,8768)
Arg/ Arg	2 (4)	0 (0)	0,2909	5,2062 (0,2436 ila 111,2444)

Çizelge 5.11de, Pro/pro genotipinin göğüs kanserine yakalanma olasılığını arttırdığı görülmektedir. Genotipin göreceli risk RR'si 2,00 dir.

Çizelge 5.11 P53 genotiplerine göre Göreceli Göğüs kanseri ve Sağlıklı grubu riski

72 lokusundaki P53 polimorfizmi	**%Frekans**		**P-değeri**	**OR(%95CI) Genotipler**
Genotipler	**Göğüs kanseri**	**Kontrol**		
Pro/pro	16 (32)	8 (16)	0,0711	2,00 (0,9421 to 4,2457)
Arg/pro	32 (64)	42 (84)	0,0267	0,7619 (0,5990 to 0,9691)
Arg/ Arg	2 (4)	0 (0)	0,2949	5,00 (0,2461 to 101,5902)

Bu çalışmadaki temel amaç, Iraklı göğüs kanseri olmuş kadınlarda bu üç p53 polimorfizminin belirlenmesi ve Pro72Pro veya pro 72 Argotipleri arasında pozitif bir bağın ve bu popülasyonda göğüs kanseri gelişme riskinin azalmasının gösterilmesidir.

KAYNAKLAR

Ackerman, D.and Simon, M. C. 2014. Hypoxia, lipids, and cancer: surviving the harsh tumor microenvironment. Trends in cell biology, 24(8), 472-478.

Akahoshi, M., Soda, M., Nakashima, E., Shimaoka, K., Seto, S. And Yano, K. 1996. Effects of menopause on trends of serum cholesterol, blood pressure, and body mass index. Circulation, 94(1), 61-66.

Allred, D. C. 2010. Ductal carcinoma in situ: terminology, classification, and natural history. Journal of the National Cancer Institute Monographs, 2010(41), 134138.

Al-Swelmien, A. 2014. Serum lipid profile in breast cancer patients. Rawal medical journal, 39(3), 254-256.

Bertone, E. R., Rosner, B. A., Hunter, D. J., Stampfer, M. J., Speizer, F. E., Colditz, G. A. and Hankinson, S. E. 2002. Dietary fat intake and ovarian cancer in a cohort of US women. American journal of epidemiology, 156(1), 22-31.

Bishop, M., Fody, E. P. and Schoeff, L. E. 2005. Clinical chemistry–principles, procedures, correlation. Quality assurance, 3(4).

Blennemann, B., Leahy, P., Kim, T. S., and Freake, H. C. 1995. Tissue-specific regulation of lipogenic mRNAs by thyroid hormone. Molecular and cellular endocrinology, 110(1-2), 1-8.

Blows, F. M., Driver, K. E., Schmidt, M. K., Broeks, A., Van Leeuwen, F. E., Wesseling, J. and Huntsman, D. 2010. Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. PLoS med, 7(5), e1000279.

Borrelli, R., Del Sordo G., De Fillippo, E., Contaldo, F. and Parisi V. 1993. High serum HDL-cholestrol in pre and post –menopasusal women with breast cancer in southern Italy AdvExp Med Biol., 348: 149-53.

Boyd, N. F., Martin, L. J., Yaffe, M. J. and Minkin, S. 2011. Mammographic density and breast cancer risk: current understanding and future prospects. Breast cancer research, 13(6), 1-12.

Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A. and Jemal, A. 2018. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians, 68(6), 394-424.

Brent, G. A**.** 1994. The molecular basis of thyroid hormone action. New England Journal of Medicine, 331: 847-853.

Brent, G. A. 2012. Mechanisms of thyroid hormone action. J Clin Invest, 122: 30353043.

Brower, V. 2013. Breast density legislation fueling controversy. J Natl Cancer Inst 105: 510-511.

Carroll, M. D., Kit, B. K. and Lacher, D. A. 2012. Total and high-density lipoprotein cholesterol in adults; national health and nutrition examination survey, 20092010.

Cengiz, Ö., Bozkurt, B., Ünal, B., Yildirim, O., Karabeyoğlu, M., Eroğlu, A., Koçer, B. and Ulaş, M. 2004. The relationship between prognostic factors of breast cancer and thyroid disorders in Turkish women. Journal of Surgical Oncology, 87(1), 19–25.

Chaker, L. and Visser, T. J. 2016. Thyroid dysfunction and breast cancer risk—an unfinished story. Nature Reviews Endocrinology, 12(6), 313-314.

Cheang, M. C. U., Chia, S. K., Voduc, D., Gao, D., Leung, S., Snider, J., Watson, M., Davies, S., Bernard, P. S., Parker, J. S., Perou, C. M., Ellis, M. J. and Nielsen, T. O. 2009. Ki67 Index, HER2 Status, and Prognosis of Patients With Luminal B Breast Cancer. JNCI: Journal of the National Cancer Institute, 101(10), 736– 750.

Chen, R. H., Chang, C. T., Wang, T. Y., Huang, W. L., Tsai, C. H. and Tsai, F. J. 2008. p53 codon 72 proline/arginine polymorphism and autoimmune thyroid diseases. Journal of clinical laboratory analysis, 22(5), 321-326.

Chetty, R., O'Laery, J. J., Biddolph, S. C. and Gatter, K. C. 1995. Immunohistochemical detection of p53 and Bcl-2 proteins in Hashimoto's thyroiditis and primary thyroid lymphomas. J Clin Pathol, 48: 239–241.

Criqui, M. H., Wallace, R. B. and Heiss, G. 1980. Cigarette smoking and plasma highdensity lipoprotein cholesterol. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. Circulation; 62(4 Pt 2), IV70-76.

Cristofanilli, M., Yamamura, Y., Kau, S.-W., Bevers, T., Strom, S., Patangan, M., Hsu, L., Krishnamurthy, S., Theriault, R. L. and Hortobagyi, G. N. 2005. Thyroid hormone and breast carcinoma. Cancer, 103(6), 1122–1128.

Cummings, S. R., Tice, J. A., Bauer, S., Browner, W. S., Cuzick, J., Ziv, E., Vogel, V., Shepherd, J., Vachon, C., Smith-Bindman, R. and Kerlikowske, K. 2009. Prevention of Breast Cancer in Postmenopausal Women: Approaches to Estimating and Reducing Risk. JNCI: Journal of the National Cancer Institute, 101(6), 384–398.

Cvetkovic, Z., Cvetkovic, B., Petrovic, M., Ranic, M., Debeljak-Martarcic, J., Vucic, V. and Glibetic, M. 2009. Lipid profile as a prognostic factor in cancer patients. J BUON, 14(3), 501-6.

Dai, G., Levy, O. and Carrasco, N. 1996. Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. Nature, 379(6564), 458-460.

Danilo, C. and Frank, P. G. 2012. Cholesterol and breast cancer development. CurrOpinPharmacol. 12(6): 677–82.

Davis, P. J., Goglia, F. and Leonard, J. L. 2016. Nongenomic actions of thyroid hormone. Nature Reviews Endocrinology, 12(2), 111-121.

De Sibio, M. T., De Oliveira, M., Moretto, F. C. F., Olimpio, R. M. C., Conde, S. J., Luvizon, A. C. and Nogueira, C. R. 2014. Triiodothyronine and breast cancer. World journal of clinical oncology, 5(3), 503.

De Vijlder, J. J., Ris-Stalpers, C. and Vulsma, T. 1997. Inborn errors of thyroid hormone biosynthesis. Experimental and clinical endocrinology & diabetes: official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association, 105, 32-37.

Delimaris, I., Faviou, E., Antonakos, G., Stathopoulou, E., Zachari, A. and DionyssiouAsteriou, A. 2007. Oxidized LDL, serum oxidizability and serum lipid levels in patients with breast or ovarian cancer. Clinical biochemistry, 40(15), 1129– 1134.

Dhein, J., Walczak, H., Bäumler, C., Debatin, K. M. and Krammer, P. H. 1995. Autocrine T-cell suicide mediated by APO-1/(Fas/CD95). Nature, 373(6513), 438-441.

Ditsch, N., Liebhardt, S., Von Koch, F., Lenhard, M., Vogeser, M., Spitzweg, C., Gallwas, J. and Toth B. 2010. Thyroid function in breast cancer patients. Anticancer research, 30(5), 1713-1717.

Dumont, P., Leu, J. J., Della Pietra, A. C., George, D. L., & Murphy, M. 2003. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. Nature genetics, 33(3), 357-365.

Evans, D. G. and Woodward, E. R. 2020. Genetic predisposition to cancer. Medicine, 48(2), 138–143.

Edge, S. B., Byrd, D.R., Compton, C.C., Fritz, A.G. and Greene, F.G. 2010. AJCC Cancer Staging Manual. (7thedn), Springer, New York, USA.

Evgeny, N., Suspıtsın Konstantin, G., Buslov, M. Y., Grıgorıev, J. G., Ishutkına, J. M.

Ulıbına V. Gorodınskaya K. M., Pozharısskı, L. M., Berstеın, K. P., Hanson, A.V. and Togoandevgeny, N. I. 2003. Evidence Against Involvement Of P53 Polymorphism in Breast Cancer Predisposition. J. Cancer, 103,431–433 .

Faghani, M., Nikbakht, M., SALEHI, M., RABANI, M., Talebi, A., Soleimani, B., & Faghihi, M. 2007. Study of p53 polymorphism at codon 72 in patients of breast cancer in Isfahan.

Faupel-Badger, M. J., Arcaro, F. A., Balkam, J. J., Eliassen, H. A., Hassiotou, F., Lebrilla, B. C., Michels, B. K., Palmer, R. J., Schedin, P., Stuebe, M. A., Watson, J. C. and Sherman E. S. 2013. Postpartum remodeling, lactation, and breast cancer risk: summary of a National Cancer Institute-sponsored workshop. J Natl Cancer Inst 105: 166-174

Febbraio, M. A. 2017. Health benefits of exercise—more than meets the eye!. Nature Reviews Endocrinology, 13(2), 72-74.

Fenton, C. L., Patel, A., Tuttle, R. M. and Francis, G. L. 2000. Autoantibodies to p53 in sera of patients with autoimmune thyroid disease. Annals of Clinical & Laboratory Science, 30(2), 179-183.

Ferlay, J., Shin, H. R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., & Parkin, D. M. 2010. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008.
International journal of cancer, 127(12), 2893-2917.

Fuhrman, J. B., Schairer, C., Gail, H. M., Boyd-Morin, J., Xu, X., Sue, Y. L., Buys, S. S., Isaacs, C., Keefer, K. L., Veebstra, D. T., Berg, D. C., Hoover, N. R. and Ziegler G. R. 2012. Estrogen metabolism and risk of breast cancer in postmenopausal women. Journal of the National Cancer Institute, 104(4), 326339.

Furberg, A. S., Veierød, M. B., Wilsgaard, T., Bernstein, L. and Thune, I. 2004. Serum high-density lipoprotein cholesterol, metabolic profile, and breast cancer risk. Journal of the National Cancer Institute, 96(15), 1152-1160.

Ghahremanfard, F., Mirmohammadkhani, M., Shahnazari, B., Gholami, G. and Mehdizadeh, J. 2015. The valuable role of measuring serum lipid profile in cancer progression. OMAN Medical journal, 30(5), 353.

Gialamas, P. S., Petridou, T. E., Tseleni-Balafouta, S., Spyridopoulos, N. T., Matsoukis, L. I., Kondi-Pafiti, A., Zografos, G. and Mantzoros, S. C. 2011. Serum adiponectin

levels and tissue expression of adiponectin receptors are associated with risk, stage, and grade of colorectal cancer. Metabolism, 60(11), 1530-1538.

Giustarini, E., Pinchera, A., Fierabracci, P., Roncella, M., Fustaino, L., Mammoli, C. and Giani, C. 2006. Thyroid autoimmunity in patients with malignant and benign breast diseases before surgery. European journal of endocrinology, 154(5), 645-649.

Goldhirsch, A., Wood, W. C., Coates, A. S., Gelber, R. D., Thürlimann, B. and Senn, H. J. 2011. Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. Annals of oncology, 22(8), 1736-1747.

Goldman, M. B. 1990. Thyroid diseases and breast cancer. Epidemiologic reviews, 12(1), 16-28.

Granja, F., Morari, J., Morari, E. C., Correa, L. A., Assumpção, L. V. and Ward, L. S. 2004. Proline homozygosity in codon 72 of p53 is a factor of susceptibility for thyroid cancer. Cancer letters, 210(2), 151-157.

Greene, N. P., Martin, S. E. and Crouse, S. F. 2012. Acute exercise and training alter blood lipid and lipoprotein profiles differently in overweight and obese men and women. Obesity, 20(8), 1618-1627.

Hall, L. C., Salazar, E. P., Kane, S. R. and Liu, N. 2008. Effects of thyroid hormones on human breast cancer cell proliferation. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology, 109(1-2), 57-66.

Haluzik, M., Nedvidkova, J., Bartak, V., Dostalova, I., Vlcek, P., Racek, P., Taus, M., Svacina, S., Alesci, S. and Pacak, K. 2003. Effects of hypo-and hyperthyroidism on noradrenergic activity and glycerol concentrations in human subcutaneous abdominal adipose tissue assessed with microdialysis. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 88(12), 5605-5608.

Hammes, S. R. and Davis, P. J. 2015. Overlapping nongenomic and genomic actions of thyroid hormone and steroids. Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism, 29(4), 581-593.

Harris, H. R., Tamimi, R. M., Willett, W. C., Hankinson, S. E. and Michels, K. B. 2011. Body size across the life course, mammographic density, and risk of breast cancer. American journal of epidemiology, 174(8), 909-918.

Hilvo, M., Denkert, C., Lehtinen, L., Müller, B., Brockmöller, S., Seppanen-Laakso, T., Budczies, J., Bucher, E., Yetkuri, L., Castillo, S., Berg, E., Nygren, H., Sysi-Aho, M., Griffin, L. J., Fiehn, O., Loibl, S., Richter-Ehrenstein, C., Radke, C., Hyötylainen, T., Kallioniemi, O., Iljin, K. and Oresic, M. 2011. Novel theranostic opportunities offered by characterization of altered membrane lipid metabolism in breast cancer progression. Cancer research, 71(9), 3236-3245.

Jedy-Agba, E., Curado, M. P., Ogunbiyi, O., Oga, E., Fabowale, T., Igbinoba, F. and Adebamowo, C. A. 2012. Cancer incidence in Nigeria: a report from populationbased cancer registries. Cancer epidemiology, 36(5), e271-e278.

Jellinger, P. S., Handelsman, Y., Rosenblit, P. D., Bloomgarden, Z. T., Fonseca, V. A., Garber, A. J., Grunberger, G., Guerin, C. K., Bell, D., Mechanick, J. I., PessahPollack, R., Wyne, K., Smith, D., Brinton, E. A., Fazio, S. and Davidson, M.

2017. Amerıcan Assocıatıon Of Clınıcal Endocrınologısts And Amerıcan College Of Endocrınology Guıdelınes For Management Of Dyslıpıdemıa And

Preventıon Of Cardıovascular Dısease. Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists, 23(Suppl 2), 1–87.

Johansen K., Hansen J. M. and Skovsted L. 1998. :Myxoedema and thyrotoxicosis: relations between clinical state and concentrations of thyroxine and triiodothyronine in blood . ActaMedicaScandenavia, 204: 361.364.

Journy, N. M., Bernier, M. O., Doody, M. M., Alexander, B. H., Linet, M. S. and Kitahara, C. M. 2017. Hyperthyroidism, hypothyroidism, and cause-specific mortality in a large cohort of women. Thyroid, 27(8), 1001-1010.

Kabat, C. G., Jones, G. J., Olson, N., Negassa, A., Duggan, C., Ginsberg, M., Kandel, A. R., Glass, G. A. and Rohan E. T. 2010. A multi-center prospective cohort study of benign breast disease and risk of subsequent breast cancer. Cancer Causes & Control, 21(6), 821-828.

Key T. J. 2011. Endogenous oestrogens and breast cancer risk in premenopausal and postmenopausal women Steroids, 76(8), 812–815.

Khan, M. H., Khalil, A., & Rashid, H. 2015. Evaluation of the p53 Arg72Pro polymorphism and its association with cancer risk: a HuGE review and metaanalysis. Genetics research, 97, e7.

Kim, Y., Park, S. K., Han, W., Kim, D. H., Hong, Y. C., Ha, E. H., Ahn, S. H., Noh, D. Y., Kang, D. and Yoo, K. Y. 2009. Serum high-density lipoprotein cholesterol and breast cancer risk by menopausal status, body mass index, and hormonal receptor in Korea. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology, 18(2), 508–515.

Kopp, P. 2000. Pendred's syndrome and genetic defects in thyroid hormone synthesis. Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders, 1(1), 109-121.

Kushi, L. H., Doyle, C., McCullough, M., Rock, C. L., Demark-Wahnefried, W., Bandera, E. V., Gapstur, S., Patel, A. V., Andrews, K., Gansler, T. and American Cancer Society 2010 Nutrition and Physical Activity Guidelines Advisory Committee 2012. American Cancer Society Guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. CA: a cancer journal for clinicians, 62(1), 30–67.

Lamy, P. J., Trétarre, B., Rebillard, X., Sanchez, M., Cénée, S. and Ménégaux, F. 2018. Family history of breast cancer increases the risk of prostate cancer: results from the EPICAP study. Oncotarget, 9(34), 23661.

Larsen, P. R. and Berry, M. J. 1995. Nutritional and hormonal regulation of thyroid hormone deiodinases. Annual review of nutrition, 15(1), 323-352.

Lin, H. Y., Sun, M., Tang, H. Y., Lin, C., Luidens, K. M., Mousa, A. S., Incerpi, S., Drusano, L. G., Davis, B. F. and Davis J. P. 2009. L-Thyroxine vs. 3, 5, 3′triiodo-L-thyronine and cell proliferation: activation of mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 296(5), C980-C991.

Llanos, A. A. Makambi K. H. and Tucker, C. A. 2012. Cholesterol, lipoproteins, and breast cancer risk in African American women. Ethn Dis; 22: 281–287.

Louie, S. M., Roberts, L. S. and Nomura, D. K. 2013. Mechanisms linking obesity and cancer. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 1831(10), 1499-1508.

Lu, C. W., Lo, Y. H., Chen, C. H., Lin, C. Y., Tsai, C. H., Chen, P. J. and Yuan, S. S. F. 2017. VLDL and LDL, but not HDL, promote breast cancer cell proliferation, metastasis and angiogenesis. Cancer letters, 388, 130-138.

Mann, S., Beedie, C. and Jimenez, A. 2014. Differential effects of aerobic exercise, resistance training and combined exercise modalities on cholesterol and the lipid profile: review, synthesis and recommendations. Sports medicine, 44(2), 211221.

Mantovani, F., Collavin, L. and Del Sal, G. 2019. Mutant p53 as a guardian of the cancer cell. Cell Death & Differentiation, 26(2), 199-212.

Matlashewski, G. J., Tuck, S., Pim, D., Lamb, P., Schneider, J. and Crawford, L. V. 1987. Primary structure polymorphism at amino acid residue 72 of human p53. Molecular and cellular biology, 7(2), 961-963.

Newman, B., Lose, F., Kedda, MA., Francois, M., Ferguson, K., Janda, M., Yates, P., Spurdle, B. A. and Hayes, C. A. 2012. Possible genetic predisposition to lymphedema after breast cancer. Lymphatic research and biology, 10(1), 2-13.

Nieman, K. M., Romero, I. L., Van Houten, B. and Lengyel, E. 2013. Adipose tissue and adipocytes support tumorigenesis and metastasis. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 1831(10), 1533-1541.

Okayasu, I., Osakabe, T., Onozawa, M., Mikami, T. and Fujiwara, M. 1998. p53 and p21. WAF1 expression in lymphocytic thyroiditis and thyroid tumors. Clin Immunol Immunopathol, 88: 183–191.

Oppenheimer, J. H., Schwartz, H. L. and Strait, K. A. 1995. An integrated view of thyroid hormone actions in vivo. Molecular endocrinology: basic concepts and clinical correlations, 249-268.

Oppenheimer, J. H., Schwartz, H. L., Lane, J. T. and Thompson, M. P. 1991. Functional relationship of thyroid hormone-induced lipogenesis, lipolysis, and thermogenesis in the rat. The Journal of clinical investigation, 87(1), 125-132.

Park, J., Morley, T. S., Kim, M., Clegg, D. J. and Scherer, P. E. 2014. Obesity and cancer mechanisms underlying tumour progression and recurrence. Nature Reviews Endocrinology, 10(8), 455.

Pedram, F., Fatemeh, J., Masoumeh, N., Mastaneh, S., Nariman, A. and Helaleh, K. A. 2020. Relationship between breast cancer and thyroid disorders. j. Oncology and Radiotherapy 1. 50: 005-008.

Pelton, K., Coticchia, C. M., Curatolo, A. S., Schaffner, C. P., Zurakowski, D., Solomon, K. R. and Moses, M. A. 2014. Hypercholesterolemia induces angiogenesis and accelerates growth of breast tumors in vivo. The American journal of pathology, 184(7), 2099-2110.

Perez-Castillo, A., Hernandez, A., Pipaon, C., Santos, A. and Obregon, M. J. 1993. Multiple regulation of S14 gene expression during brown fat differentiation. Endocrinology, 133(2), 545-552.

Perou, C. M. and Børresen-Dale, A. L. 2011. Systems biology and genomics of breast cancer. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 3(2), a003293.

Petitjean, A., Achatz, M. I. W., Borresen-Dale, A. L., Hainaut, P. and Olivier, M. 2007. TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. Oncogene, 26(15), 2157-2165.

Phipps, A. I., Buist, D. S., Malone, K. E., Barlow, W. E., Porter, P. L., Kerlikowske, K. and Li, C. I. 2011. Reproductive history and risk of three breast cancer subtypes defined by three biomarkers. Cancer causes & control, 22(3), 399-405.

Reis-Filho, J. S. and Pusztai, L. 2011. Gene expression profiling in breast cancer: classification, prognostication, and prediction. The Lancet, 378(9805), 18121823.

Robson, M. E., Storm, C. D., Weitzel, J., Wollins, D. S. and Offit, K. 2010. American Society of Clinical Oncology policy statement update: genetic and genomic testing for cancer susceptibility. J Clin Oncol, 28(5), 893-901.

Saha, K. R., Rahman, M. M., Paul, A. R., Das, S., Haque, S., Jafrin, W. and Mia, A. R. 2013. Changes in lipid profile of postmenopausal women. Mymensingh medical journal: MMJ, 22(4), 706-711.

Sansone, P., Storci, G., Pandolfi, S., Montanaro, L., Chieco, P. and Bonafe, M. 2007. The p53 codon 72 proline allele is endowed with enhanced cell-death inducing potential in cancer cells exposed to hypoxia. British journal of cancer, 96(8), 1302-1308.

Schottenfeld, D. and Beebe-Dimmer, J. 2006. Multiple Primary Cancers. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF, Jr. (eds). Cancer Prevention and Early Detection Third Edition. Oxford University Press, New York USA. 2006: 12691280.

Sestoft, L. 1990. Metabolic aspects of the calorigenic effect of thyroid hormone in mammals. Clinical Endocrinology .Oxf., 13:489.506

Shah, F. D., Shukla, S. N., Shah, P. M., Patel, H. R. and Patel, P. S. 2008. Significance of alterations in plasma lipid profile levels in breast cancer. Integrative cancer therapies, 7(1), 33-41.

Shupnik, M. A., Ridgway, E. C. and Chin, W. W. 1989. Molecular biology of thyrotropin. Endocrine Reviews, 10: 459-475.

Siddique, M. and Sabapathy, K. 2006. Trp53-dependent DNA-repair is affected by the codon 72 polymorphism. Oncogene, 25(25), 3489-3500.

Simon, S. M., Tang, C. M., Bernstein, L., Norman, A. S., Weiss, L., Burkman, T. R Daling, R. J., Deapen, D., Folger, G. S., Malone, K., Marchbanks, A. P., McDonald, A. J., Strom, L. B., Wilson, G. H. and Spirtas, R. 2002. Do thyroid disorders increase the risk of breast cancer?. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers, 11(12), 1574-1578.

Singh, S., Ramesh, V., Premalatha, B., Prashad, K. V. and Ramadoss, K. 2013. Alterations in serum lipid profile patterns in oral cancer. Journal of natural science, biology, and medicine, 4(2), 374.

Solin, L. J., Gray, R., Baehner, F. L., Butler, S. M., Hughes, L. L., Yoshizawa, C., Cherbavaz, D. B., Shak, S., Page, D. L., Sledge, G. W., Jr, Davidson, N. E., Ingle, J. N., Perez, E. A., Wood, W. C., Sparano, J. A. and Badve, S. 2013. A multigene expression assay to predict local recurrence risk for ductal carcinoma in situ of the breast. Journal of the National Cancer Institute, 105(10), 701–710.

Streff, H., Profato, J., Ye, Y., Nebgen, D., Peterson, K. S., Singletary, C., Arun, K. B. and Litton, K. J. 2016. Cancer incidence in first-and second-degree relatives of BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. The oncologist, 21(7), 869.

Takatani, O., Okumoto, T. and Kosano, H. 1991. Genesis of breast cancer in Japanese.a possible relationship between sex hormone-bindingglobulin. SHBG. and serum lipid components. Breast CancerRes Treat., 18: 527-529.

Tamimi, R. M., Byrne, C., Colditz, G .A. and Hankinson, S. E. 2007. Endogenous hormone levels, mammographic density, and subsequent risk of breast cancer in postmenopausal women. J Natl Cancer Inst., 99: 1178-1187.

Tan, K. C., Shiu, S. W. and Kung, A.W. 1998. Effect of thyroid dysfunction on highdensity lipoprotein subfraction metabolism: roles of hepatic lipase and

cholesteryl ester transfer protein. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 83: 2921-2924.

Tang, H. Y., Lin, H. Y., Zhang, S., Davis, F. B. and Davis, P.J. 2004. Thyroid hormone causes mitogen-activated protein kinase-dependent phosphorylation of the nuclear estrogen receptor. Endocrinology, 145:3265-72.

Tietz, N .W. Textbook of clinical chemistry ,3th Ed. C. A. Burtıs , E. R., Ashood,W. B. Saunders. 1999. p.826-835.

Tomer, Y. and Davies, T. F. 2003. Searching for the autoimmune thyroid disease susceptibility genes: from gene mapping to gene function. Endocrine reviews, 24(5), 694-717.

Turnbull, C. and Rahman, N. 2008. Genetic predisposition to breast cancer: past, present, and future. Annu. Rev. Genomics Hum. Genet., 9, 321-345.

Ursin, G., Lillie, O. E., Lee, E., Cockburn, M., Schork, J. N., Cozen, W., Parisky, R. Y., Hamilton, S. A., Astrahan, A. M. and Mack, T. 2009. The relative importance of genetics and environment on mammographic density. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers, 18(1), 102-112.

Vasei, N., Shishegar, A., Ghalkhani, F., and Darvishi, M. 2019. Fat necrosis in the Breast: A systematic review of clinical. Lipids in health and disease, 18(1), 1-9.

Voduc, K. D., Cheang, M. C., Tyldesley, S., Gelmon, K., Nielsen, T. O., & Kennecke, H. 2010. Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. Journal of clinical oncology, 28(10), 1684-1691.

Vousden, K. H. and Lane, D. P. 2007. P53 in health and disease. Nat Rev MolCell Biol; 8: 275–83.

Walker, K., Bratton, D. J. and Frost, C. 2011. Premenopausal endogenous oestrogen levels and breast cancer risk: a meta-analysis. British journal of cancer, 105(9), 1451-1457.

Whibley, C., Pharoah, P. D. and Hollstein, M. 2009. p53 polymorphisms: cancer implications. Nature reviews cancer, 9(2), 95-107.