

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**FARKLI MEME KANSERİ HÜCRE TİPLERİNİN
(MCF-7, MDA-MB-231,CRL-4010) ORGANİK ASİT
PROFİLİNİN İNCELENMESİ**

Mehmet ESEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Dr.Öğr. Üyesi Ataman GÖNEL**

**ŞANLIURFA
2019**

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**FARKLI MEME KANSERİ HÜCRE TİPLERİNİN
(MCF-7, MDA-MB-231,CRL-4010) ORGANİK ASİT
PROFİLİNİN İNCELENMESİ**

Mehmet ESEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Dr.Öğr. Üyesi Ataman GÖNEL

Bu çalışma herhangi bir kurum tarafından desteklenmemiştir.

**ŞANLIURFA
2019**

T. C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Mehmet ESEN'in hazırladığı "Farklı meme kanseri hücre tiplerinin (MCF-7, MDA-MB-231, CRL4010) Organik asit profilinin incelenmesi" başlıklı çalışması 11/06/2019 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak kabul edilmiştir.

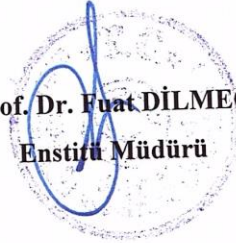
BAŞKAN
Dr. Öğr. Üyesi Ataman GÖNEL
Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

ÜYE
Doç. Dr. Nihayet BAYRAKTAR
Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

ÜYE
Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ÖRKMEZ
Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 20.06/2019 tarih ve 2019/10/06... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fuat DİLMEÇ
Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitime başladığım ilk günden itibaren bilimsel çalışmalarına yardım ederek, tez çalışmamı yapmamda hiçbir yardımını esirgmeden yanımda olan ve zamanını harcamaktan kaçınmayan, bana her konuda destek veren Tıbbi Biyokimya AD Başkanımız Doç. Dr. Nihayet BAYRAKTAR ve danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ataman GÖNEL'e,

Tezimde kullandığım Organik asit profillerinin çalışmasını gerçekleştiren Dr. Öğr. Üyesi İsmail KOYUNCU'ya,

Her anımda arkamda büyük desteklerini hissettiğim, iyi bir eğitim almam için her türlü fedakarlığı gösteren, beni asla yalnız bırakmayan Eşim, Dilek ESEN'e ve anlayışlarından dolayı sevgili oğlum Eren ESEN ve Biricik kızım Elif Ece ESEN'e

Sevgili arkadaşım, Özgür YÜKSEKDAĞ'a, sonsuz teşekkür ederim.

Mehmet ESEN

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanser	3
2.1.1. Kanser Epidemiyolojisi	4
2.1.2. Kanserin Sebepleri	5
2.1.3. Kanserde Tedavi Yöntemleri	6
2.2. Meme Kanseri	8
2.2.1. Meme Kanserinin Tarihçesi	8
2.2.2. Meme Kanserinin İnsidansı	9
2.2.3. Meme Kanserinin Etiyolojisi	10
2.2.4. Meme Kanserinin Evreleri	13
2.2.5. Meme Kanseri Hücre Hatları	14
2.2.6. Meme Kanserinin Tanısı	15
2.2.7. Meme Kanserinin Tedavisi	17
2.3. Biyobelirteç Olarak Organik Asitler	18
2.3.1. 3-Hidroksipropiyonik asit	19
2.3.2. Laktik asit	19
2.3.3. Pirüvik asit oksim	20
2.3.4. Glikolik asit	20
2.3.5. 3-hidroksibütirik asit	21
2.3.6. 2-hidroksiizovalerik asit	22
2.3.7. 3-hidroksiizobütirik asit	22
2.3.8. 3-hidroksiizovalerik asit	23
2.3.9. Metilmalonik asit	24

2.3.10. Malonik asit	25
2.3.11. Gliserik asit	26
2.3.12. Etilmalonik asit	26
2.3.13. Süksinik asit	27
2.3.14. Fumarik asit	28
2.3.15. Glutarik asit	29
2.3.16. 3-Metilglutakonik asit	30
2.3.17. 3-Metilglutarik asit	31
2.3.18. Malik asit	31
3.3.19. Süksinil Aseton Oksim	32
2.3.20. Adipik Asit	32
2.3.21. 5-Okzoprolin	34
2.3.22. 2-Hidroksiglutarik asit	35
2.3.23. Tiglilisin	36
2.3.24. 2-Okzoglutarik Asitoksim	37
2.3.25. Homogentisik Asit	37
2.3.26. Hegzanoilglisin	37
2.3.27. N-asetilaspantik asit	38
2.3.28. Suberik asit	38
2.3.29. Orotik asit	39
2.3.30. 2-Metilsitrik Asit	40
2.3.31. Sebasik Asit	41
2.4. Genomik, Proteomik Ve Metabolomik	41
2.4.1 Metabolomik	42
2.5. LC/MS/MS (Kütle Spektrometresi)	43
2.5.1. HPLC Ünitesi	43
2.5.2. Kütle Spektrometresi	44
2.5.3. Çalışma Prensibi	44
2.5.4. Uygulama Alanları	45
3. GEREÇ ve YÖNTEM	46
3.1. Materyal	46
3.2. Analitik Prosedür	47
3.2.1. Organik Asit Kalibratör Setinin Hazırlanması (Seviye 1-6)	47
3.2.2. Organik Asitlerin Plazma Kontrol Standardının Hazırlanması	47

3.3.3. ÖrnekHazırlama	47
3.3.4. Numune Hazırlama Adımları	48
3.3. Yöntem performansı	51
3.3.1. Yöntemin kalibrasyon eğrilerine örnekler	52
4. BULGULAR	56
4.1. İstatistiksel Yöntem	56
5. TARTIŞMA	67
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	73
7. KAYNAKLAR	74
8. EKLER	
EK.1. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Kararı	83
EK.2. Tez Çalışması Orjinallik Raporu ve Beyan Belgesi	84
EK.3. İntihal Raporu	85
EK.4. Tez Veri Giriş Formu	86

Şekil 2.1. KKMM (Elle meme muayenesi prosedürü)	15
Şekil 2.2. Momografide meme kitle görüntüsü	16
Şekil 2.3. Glikoliz sonucunda piruvat'tan laktat'ın meydana gelmesi	19
Şekil 2.4. Glikoliz sonucunda piruvat'tan laktat'ın meydana gelmesi	20
Şekil 2.5. Glikolik asit'ten okzalit taşıının oluşumu	21
Şekil 2.6. AA (Asetoasetat)'tan keton cisimlerinin oluşumu	22
Şekil 2.7. Valin katabolizması	23
Şekil 2.8. Metilmalonik asit metabolizmasında vitamin B12'nin yeri	24
Şekil 2.9. Malonattanmalonil-CoA oluşumu ile yağ asit sentezinin başlaması	25
Şekil 2.10. Hücre ölümü sırasında alanininmalonat ve asetata çevrilmesi	25
Şekil 2.11. D-gliserik asidüri, primerhiperokzaluri Tip 2 ve primerhiperokzaluri Tip 1'in metabolik yolları	26
Şekil 2.12. SCAD eksikliğinde etilmalonik asit atılımı	27
Şekil 2.13. TCA döngüsü	28
Şekil 2.14. Tirozin katabolizması ile fumarat ve asetoasetat'ın oluşumu	28
Şekil 2.15. Triptofan, hidroksilizin ve lizin katabolizma yolları	29
Şekil 2.16. 3-metilglutakonik asitinde novosentezi	30
Şekil 2.17. Malat mekiği ile sitozolden mitokondriye ekivalan taşıınması	31
Şekil 2.18. Fenilalanin ve tirozin katabolizması ile süksinilaseton üretimi	32
Şekil 2.19. Yağ asitlerinden omegaoksidasyonu ile adipat oluşumu	33
Şekil 2.20. Glutasyon döngüsü	34
Şekil 2.21. NAD(P)H bağımlı redüksiyon ile L-2-hidroksiglutarat ve D-2-hidroksiglutarat oluşumu	35
Şekil 2.22. İzolösin ve metillenmiş yağ asitlerinin yıkımı	36
Şekil 2.23. 2-okzoglutarat (α -ketoglutarat) ile glutamat ilişkisi	37
Şekil 2.24. Nöronlarda NAA oluşumu ve Canavan hastalığı patogenezi	38
Şekil 2.25. Üre siklusu	39
Şekil 2.26. Pirimidin sentezi sırasında orotik asit oluşumu	39
Şekil 2.27. Fenilalanin ve tirozin metabolizması	40
Şekil 2.28. Metilsitrat oluşumu	40
Şekil 3.1. Panel-1'in toplam İyon kromatogramı	50
Şekil 3.2. Panel-2'nin toplam iyon kromatogramı	50

Şekil 3.3. Tiglyglicine'in kalibrasyon eğrisi	52
Şekil 3.4. Etilmalonik asit'in kalibrasyon eğrisi	53
Şekil 3.5. Adipik asit'in kalibrasyon eğrisi	53
Şekil 3.6. 3-Fenil laktik asit'in kalibrasyon eğrisi	54
Şekil 3.7. Süksinil aseton'un kalibrasyon eğrisi	54
Şekil 3.8. Süksinik asit'in kalibrasyon eğrisi	55
Şekil 4.1. Hücreler arası Okzoprolin konsantrasyonlarının karşılaştırılması	57
Şekil 4.2. Hücreler arası Malik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	58
Şekil 4.3. Hücreler arası Sebasik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	58
Şekil 4.4. Hücreler arası Suberik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	59
Şekil 4.5. Hücreler arası 3-Metil glutakonik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	59
Şekil 4.6. Hücreler arası Glutakonik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	60
Şekil 4.7. Hücreler arası metil-2-okzovalerik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	60
Şekil 4.8. Hücreler arası Pirüvik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	61
Şekil 4.9. Hücreler arası 2-OH Glutarik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	61
Şekil 4.10. Hücreler arası 2-OH İzokaproik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	62
Şekil 4.11. Hücreler arası 2-OH İzovalerik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	62
Şekil 4.12. Hücreler arası 3-OH İzovalerik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	62
Şekil 4.13. Hücreler arası 2-OH Pentanoik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	63
Şekil 4.14. Hücreler arası 2-Ketoglutarik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	63
Şekil 4.15. Hücreler arası Sitrik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	63
Şekil 4.16. Hücreler arası Etil malonik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	64
Şekil 4.17. Hücreler arası Laktik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	64
Şekil 4.18. Hücreler arası Metil malonik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	64
Şekil 4.19. Hücreler arası Orotik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	65
Şekil 4.20. Hücreler arası Süksinik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması	65

TABLolar DİZİNİ**SAYFA NO**

Tablo.2.1. Kanser türlerine göre yakalanan vaka sayısı	5
Tablo.2.2. Kanser türlerine göre ölüm sayısı	5
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan kit bileşenleri	46
Tablo 3.2. Panel 1 ve 2'nin Örnek Kromatogramları	49
Tablo 3.3. CRL-4010, MCF7 ve MDA-MB-231 gruplarında karşılaştırılan Organik asit türleri	51
Tablo 4.1. CRL-4010, MCF7 ve MDA-MB-231 gruplarının değişkenlerde farklılık analizleri	56



KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ

AA	: Asetoaset
ACoaC	: Açıl-CoAkarboksilaz
BTD	: Biotidinaz
BRCA-1	: Breast Cancer-1
BRCA-2	: Breast Cancer-2
D-2 DGA	: D -2-hidroksiglutarik asidüri
DH	: Kalp damar hastalıkları
EMA	: Etilmalonik asit
ER	: Östrojen reseptör
ER+	: Östrojen reseptör pozitif
ER-	: Östrojen reseptör negatif
FAD	: Flavin adenin dinükleotid
FAP	: Familyal Adenomatöz Polipozis
FFA	: Serbest yağ asidi
FT-IR	: Fourier transform infrared)Spektroskopisi
GAT1	: Glutarik asidüri Tip 1
GCoA DH	: Glutaril-CoA dehidrogenaz
GDH	: Glutamatdehidrogenaz
GS	: Gaz Kromatografisi
HPV	: Human Papilloma Virus
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
İGP	: İnsan Genom Projesi
KKM	: Klinik meme muayenesi
KKMM	: Kendi kendine elle meme muayenesi
L-2 HGA	: L-2-hidroksiglutarik asidüri
MA-CoA DH	: Multiplaçıl-CoAdehidrogenaz
MCACoaC	: Orta zincirli açıl-CoAkarboksilaz
MCFAS	: Orta zincirli yağ asit supplement
MDH	: MalatDehidrogenaz

MGCoA DH	: Multiplaçil-CoAdehidrogenaz
MMA	: Metilmalonik asit
MMSDH	: Metilmaloniksemialdehitdehidrogenaz
MS	: Kütle spektrometrisi
NAA	: N-asetilaspark asit
NMR	: Nükleer Magnetik Rezonans
OD	: Otozomal dominant
OFRT	: Orotatfosforiboziltransferaz
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
SCADH	: Kısa zincir açil-koenzim A Dehidrogenaz
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü



ÖZET

FARKLI MEME KANSERİ HÜCRE TİPLERİNİN (MCF-7, MDA-MB-231, CRL-4010) ORGANİK ASİT PROFİLİNİN İNCELENMESİ

Mehmet ESEN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Meme kanseri bayanlarda en çok rastlanan kanser türü olup, akciğer kanserinden sonra ikinci sırada gelmektedir. Prognozu patolojik tiplendirmesine göre farklılık gösteren meme kanserinde kemoterapi vazgeçilmez tedavi yöntemidir. Kemoterapi ile erken evrelerde bile tam kür şansı düşüktür. Kanser hücrelerinin metabolik aktivitelerinin ve karakteristiğinin tanımlanması yeni tedavi modaliteleri ve kür açısından fayda sağlayabilir. Bunu tanımlayacak yöntemlerden biri bu hücrelerin salgıladığı organik asit düzeylerinin ölçümüdür. Geniş bileşik sınıfı organik asitler, aminoasit metabolizması gibi primer metabolik yollarda, yağ asidi oksidasyonu, lipit metabolizması, krebs döngüsü vb. ara maddeler olarak ortaya çıkar. In-vivo koşullarda organik asit konsantrasyonları diğer doku ve organ fonksiyonlarına bağlı olarak değişkenlik gösterebilse de, izole edilmiş hücre kültür ortamında bu ara maddelerin sentezindeki eksitasyon ve inhibisyonlar daha doğru olarak saptanabilir. Bu çalışmada, MDA-MB-231 (meme adenokarsinomu) MCF-7, (duktal meme karsinomu) ve CRL 4010 normal hücre hattının organik asit düzeylerinin analizi ve bu ara metabolit düzeylerinin tanımlanması ve karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Hücre kültür ortam sıvısının 54 plazma organik asit düzeyi, LC-MS / MS tekniği kullanılarak ölçüldü. 28 organik asit panel-1, 26 organik asit panel-2 yöntemi kullanılarak gradyan elüsyonu ile 12 dakikada analiz edildi. Verilerin dağılımlarına göre yapılan istatistiksel analizde oxoproline, malicacid, sebacic acid, suberic acid, 3-methylglutaconic acid, glutaconic acid, 3-methyl-2-oxoaleric acid, pyruvic acid, 2-oh glutaric acid, 2 oh isocaproic acid, 3 oh isovaleric acid, 3 oh pentanoic acid, 2 keto glutaric acid, citric acid, ethyl malonic acid, lactic acid, methyl malonic acid, orotic acid düzeylerinde anlamlı değişiklikler saptandı.

Östrojen reseptör pozitif MCF-7 duktal karsinomlu hücrelerin daha fazla diferansiye olmuş MDA-MB-231 adenokarsinom hücrelerine göre sağlıklı hücrelere daha yakın fizyolojik aktivitelere sahip olduğu, kötü prognozlu histolojik yapının anaerobik solunum yolunu daha fazla seçtiği, TCA siklus aktivitesini kaybetme eğiliminde olduğu tespit edilmiştir. ER- (östrojen reseptör negatif) olan MDA-MB-231 hücreleri normal meme hücrelerinin gösterdiği özelliklerini kaybetmiştir. Kanser hücre metabolomiksinin gelişen LC-MS/MS tekniğiyle tanımlanması ve metabolit düzeylerinin analizi diferansiyasyonu artmış hücrelerin metastaz oluşumları ve programlı hücre ölümlerine direnç kazanmasıyla ilişkilendirilebilir. Metabolit düzeylerindeki değişikliklerden elde edilen ipuçları yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde fayda sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: MCF-7, MDA-MB-231, Organik asit profili

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE ORGANIC ACID PROFILE OF DIFFERENT BREAST CANCER CELL TYPES (MCF-7, MDA-MB-231, CRL-4010)

Mehmet ESEN

Department of Medical Biochemistry, Master Thesis

Breast cancer is the most common type of cancer in women and comes second after lung cancer. Chemotherapy is an indispensable treatment method in breast cancer, which shows different prognosis according to pathological typing. Even in the early stages of chemotherapy, the chance of full cure is low. The identification of metabolic activities and characteristics of cancer cells may be beneficial in terms of new treatment modalities and cure. One method to identify this is to measure the levels of organic acid secreted by these cells. Wide range of compound organic acids, primary metabolic pathways such as amino acid metabolism, fatty acid oxidation, lipid metabolism, krebs cycle and so on. as intermediates. Although organic acid concentrations may vary depending on other tissue and organ functions in in vivo conditions, excitations and inhibitions in the synthesis of these intermediates in isolated cell culture media can be more accurately detected. In this study, it was aimed to analyze the organic acid levels of MDA-MB-231 (breast adenocarcinoma) MCF-7, (ductal breast carcinoma) and CRL 4010 normal cell line and to identify and compare these intermediate metabolite levels.

The plasma organic acid level of cell culture medium fluid 54 was measured using the LC-MS / MS technique. 28 organic acid panel-I were analyzed in 12 minutes by gradient elution using 26 organic acid panel-2 method. In the statistical analysis according to the distribution of data, oxoproline, malic acid, sebamic acid, suberic acid, 3-methylglutaconic acid, glutaconic acid, 3-methyl-2-oxovaleric acid, pyruvic acid, 2-oh glutaric acid, 2 oh isocaproic acid, 3 oh isovaleric acid, 3 oh pentanoic acid, 2 keto glutaric acid, citric acid, ethyl malonic acid, lactic acid, methyl malonic acid, orotic acid levels were found significant changes.

It was found that estrogen receptor positive MCF-7 ductal carcinoma cells had more physiological activities closer to healthy cells than more differentiated MDA-MB-231 adenocarcinoma cells, histologic structure with poor prognosis chose more anaerobic airway and TCA cycle activity tended to lose activity. MDA-MB-231 cells, which are ER- (estrogen receptor negative), have lost the characteristics of normal breast cells. The identification of cancer cell metabolomics by developing LC-MS / MS technique and analysis of metabolite levels may be associated with increased differentiation of cells with resistance to metastasis formation and programmed cell death. Clues from changes in metabolite levels may be helpful in developing new treatment strategies.

Key Words: MCF-7, MDA-MB-231, CRL-4010, organic acid profil

1. GİRİŞ

Kanser, herhangi bir organ veya dokudaki hücrelerin düzensiz olarak bölünüp çoğalması sonucunda beliren kötü urlara denir (1).Tümör nedenlerinin başında, kalıtsal farklılıklar veya DNA'da meydana gelen hasarlardan kaynaklanmaktadır.Oluşan bu hasarların hedefi açısından üzerinde durulması gereken gen sayısı üç'tür.Poliferasyona neden olan gen (protoonkogen)'dir. Aktivasyona neden olan gen (onkogen). Büyüme sınırlayan (tümör supresor) gen tiplerinde inaktivasyona rastalanabilmektedir. DNA'nın onarımı ve Apoptisoz'dan sorumlu genlerde hasarların olması ihtimaldir (2).

Kadınlarda kanserlere bağlı ölüm sebebi olarak akciğer kanserlerinin meme kanseri oranını geçtiği biliniyorsa da, meme kanseri tanısı alan kadınlar batı dünyasında kanser çeşitleri içerisinde en çok ve en yaygın kanser olmayı sürdürmektedir. ABD'de her 10 kadından birinde meme kanseri gözlemlendiği bilinmektedir. Kadınlarda 54 yaşlarına kadar kansere bağlı ölüm sebebi olarak ilk sırada meme kanseri bulunmaktadır (3).

Meme kanseri %99 kadınlarda görülürken, %1'de erkeklerde görülebilmektedir. Cinsiyet bu kanser türü için önemli bir risk faktörüdür. Bunun sebebi ise meme dokusunun kadınlarda fazla miktarda bulunmasıdır. Kadınların gelişimsel dönemlerindeki östrojen ve progesteron hormonlarındaki değişimdir (4).

Kanser hücre tiplerinden olan MDA-MB-231 hücreleri 51 yaşındaolan meme adenokarsinomaya sahip olan bir bayanın plevraefüzyonundan izolasyonu yapılmıştır (5).Anormal biçimde karyotipe sahip olmuş olan hücre hattı anöploid yapı halindedir.Karyotip analiz içerisinde kromozom miktarlarının triploide yakın değerler içinde (6).bulduğu gözlemlenmiş, az sayıda normal ve çok az sayıda da kromozoma sahiptir. N8 ve N15 kromozomları yoktur.Bahsi geçen kromozomlar sitogenetik analizler kapsamında markır olarak kullanılmaktadır.Yapılan karyotip analizler, hücre popülasyonlarının kromozom sayıları ve yapıları açısından homojen olmadıklarını göstermişlerdir (7).

MDA-MB-231 hücrelerinde oluşan söz konusu değişimler, tümörün ilerlemeleri, metastaz oluşumları ve programlı hücre ölümlerine direnç kazanmasıyla alakalıdır (5).

MCF-7 hücreleri, 63 yaşında olan 4.seviye duktalkarsinoma teşhisi almış bir kadından 1970 senesinde elde edilmiştir.Bu seneden sonra ise, östrojen reseptörü pozitif (ER+) MCF-7 hücre hatlarıyla ortalama 12.000 çalışma gerçekleştirilmiştir.Epityyal yapı içerisindedir ve çoğalmaunsuru bağlanma proteinlerini üretmektedir (8).MCF-7 hücrelerinin hücre analizi içerisinde; kromozom miktarlarındaki normal bulunmayan bir artış ve azalış görülmektedir (9).Yanlış eşleşmesi yapılmış olan bazların tamir edilme sürecinde görevli olan onarım proteinleri MCF-7 hücreleri içerisinde mutasyonlara uğramış olduğundan, hücreler antikanser ilaçlarına karşı dirençler geliştirmişlerdir (10).

Kısacası DNA onarım hücrelerinde yaşanan bu mutasyonlar ya da tamir proteinlerinin az veya aşırı ifadesi, direnç gelişimlerinde birer etkidir (11). Meme kanseri ve diğer kanserlerin meydana gelmesi sürecinde, hücre döngüsü kontrol noktalarından siklin D1'de meydana gelen mutasyonlar MCF-7 hücrelerinde de bulunmaktadır (12).

Bu çalışmada konuyla ilgili ilk ve orijinal bir çalışma özelliğindedir. Bu konuda geniş bir seride çalışma yaparak hem bilime katkıda bulunmayı hem de hastalığın tanı ve tedavisinde etkinliği artırmayı amaçladık. Meme kanseri hücre çizgilerini MDA-MB231 (ER⁻, PR⁻, Her2⁺) ile MCF-7(ER⁺, PR⁺, Her2⁺) normal hücre hattı CRL-4010 arasındaki hücre içerisindeki serbest organikasit profili çıkartılarak hastalığın oluşumundaki moleküler mekanizmaları belirlemek ve bu farklılıklardan yararlanarak erken tanı ve tedavi yöntemleri geliştirilebilecektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Vücudumuzdaki sağlıklı hücreler bölünebilme yeteneğine sahiptirler.Ancak, kas ve sinir hücrelerinde bu özellik bulunmaz.Hücreler bu yeteneklerini yenilenme ve yaralanan dokuların onarılması için kullanırlar (13).Hücreler insan yaşamının başlarında hızlı bölünürken, ileriki yaşlarında bölünme hızı yavaşlamaktadır.Yalnız, hücreler ömür boyu sürekli bölünemezler.Her hücrenin yaşamı boyunca belli bir bölünebilme sayısı vardır. Sağlıklı bir hücre yaşamı boyunca ne kadar bölüneceğini ve zamanı geldiğinde de ölmesini bilir. Bu olaya apoptosis denir.Apoptosis hücrenin programlı ölümüdür.

Kanser, herhangi bir organ veya dokudaki hücrelerin düzensiz olarak bölünüp çoğalması sonucunda beliren kötü urlara denir (1).Genel anlamda kanser vücudumuzun çeşitli bölgelerindeki hücrelerin kontrol dışı çoğalmasıdır. Kanseri hücrelerin sebebi, Hücrelerin merkezindeki çekirdekte bulunan DNA'nın iplikçisinde hasar oluşmasıdır. Kanseri hücreleri, kontrolsüz bölünmeye başlayınca çoğalırlar, fazlalaşan hücrelerin kütleleri de bir büyüklük veya tümör oluştururlar.DNA çevresel etkenler (kimyasallar, virüsler, sigara,alkol, aşırı güneş ışınları, radyasyon vs gibi) nedeniyle hasar görebilirler. Bu tümörler iyi yada kötü huylu olabilirler.İyi huylu tümörler genellikle alınır ve çoğu zamanda tekrarlamazlar.Kötü huylu olan tümörler ise kanserdir.Kontrolsüz bir şekilde çoğaldığından vücudun her tarafına yayılabilirler.Kanserin vücudun diğer bölgelerine yayılması olayına da metastaz adı verilir.Bu yayılma veya istila genellikle bütünlüğü bozma, kan dolaşımına ya da lenf damarlarına girme ve vücudun diğer bölgelerinde, metastaz olarak adlandırılan ikincil tümörler oluşturma yeteneğini ifade etmektedir (14).

Tümör nedenlerinin başında, kalıtsal farklılıklar veya DNA'da meydana gelen hasarlardan kaynaklanmaktadır. Oluşan bu hasarların hedefi açısından üzerinde durulması gereken gen sayısı üç'tür.Poliferasyona neden olan gen (protoonkogen)'dir. Aktivasyona neden olan gen (onkogen). Büyümeyi sınırlayan (tümör supresor) gen tiplerinde inaktivasyona rastalanabilmektedir. DNA'nın onarımı ve Apoptisoz'dan sorumlu genlerde hasarların olması ihtimaldir(2).

Kanser çeşitleri 5 grupta kategorize edilebilir:

a. Karsonima:vücudumuzun iç organlarını kaplayan doku ya da deride oluşur.

b. Sarkoma:kemik, kas, kıkırdak, yağ, kan damarları ya da bağ ve destek dokularında oluşmasıdır.Nadirende olsa. Vücudun iç kısmındakiorganların bağ - kas dokularında da meydana gelebilir.

c. Lenfoma ve Miyelom:vücudun bağışıklık sisteminde oluşur.

d. Merkezi Sinir Sistemi Kanseri:Beyin ve omurilik dokularında oluşur.

e. Lösemi: kemik iliğinde, Fazla miktarda oluşan anormal kan hücrelerinin kana karışması ile üretilmesine sebep olur (15).

2.1.1. Kanser Epidemiyolojisi

Kanser (cancer) terimini ilk olarak Yunan fizikçi Hippocrates (MÖ 460-370) tarafından kullanılmıştır. Hippocrates **carcinoma** terimlerini ülser oluşturan ve ülser oluşturmayan tümörler için kullanmıştır daha sonrada sırasıyla,

- M.Ö.28-50 Celsus Yunanca "karkinos" terimini Latince "Kanser"
- M.S. 130-200 Galen, tümörleri tanımlamak için "onkos" (şişkinlik) adını vermiştir (16).

"Kanser" kelimesi insanları ürküten, ölümcül kurtulması neredeyse mümkün olmayan bir hastalık olarak bilinmekte olup, önemini korumaktadır. Bununla birlikte tedavi süreciyle ilgili sorular, tedavi sürecinin zorluğu ve tedavi yöntemlerine bağlı olarak hastada meydana gelen huzursuzlukar nedeniyle, günümüzde büyüyerek devam eden bir sorun teşkil etmektedir (17,18,19).

Dünya'da olduğu gibi ülkemizde'de kanser hastalarının sayısı hızla artmaktadır. Muhakkak ki en önemli etkenlerden biri, insan ömrünün ortalamasının artmış olması ve gelişen teknoloji ile birlikte artan çevresel etmenler (sigara,alkol, v.s) kanser sayısının artmasında etkili olmaktadır (20). Bir de bunlara çağımızın en önemli bağımlılıklarında biri olan kontrolsüz bir şekilde ilaç kullanma merak'ını ekleyebiliriz.

Şuan da Dünya'daki kanser verileri IARC (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı)'nin verilerine göre Eylül 2018 itibariye vaka sayısı 18.1 milyona çıkarken, kanserden ölenlerin sayısı 9.6 milyona çıkmıştır. En çok rastlanan kanser türleriye aşağıda tablo halinde düzenlenmiştir.

Tablo 2.1.Kanser türlerine göre yakalanan vaka sayısı (15).

Kanser türü	Yakalanan vaka sayısı
Akciğer	2.09 milyon
Meme	2.09 milyon
Kolorektal	1.80 milyon
Prostat	1.28 milyon
Deri kanseri	1.04 milyon
Mide	1.03 milyon

Tablo 2.2.Kanser türlerine göre ölüm sayısı (15).

Kanser türü	Ölüm sayısı
Akciğer	1.76 milyon
Kolorektal	862 000
Mide	783 000
Karaciğer	782 000
Meme	627 000

2.1.2. Kanserın Sebepleri

Kansere neden olan bazı faktörler bulunmaktadır. Bunlardan önemli olanları;

a) Sigara ve Alkol: SigaraAkciğer kanserinin en önemli risk faktörlerinden biridir. Neredeyse Akciğer kanserinin %90'a yakını sigaradan kaynaklanmaktadır.Fazla miktarda alkol kullanımı ise; Ağız, yutak, gırtlak, yemek borusu, karaciğer, meme kanseri risklerini arttırmaktadır.

b) Bazı virüsler, (HPV, Hepatit): Virüsler canlılarda çeşitli hastalıklara yol açmaktadırlar. Bunlar arasında kanserle alakalı virüsler (onkovirüs) olduğu bilinmektedir.

c) **Radyasyon:** Genellikle iyonize radyasyonun lösemi, akciğer, mide-barsak, yemek borusu, troit ve deri kanserleri gibi tümörlere sebep olduğu bilinmektedir. Burada radyasyonun dozu tabiki önemli olmaktadır.

d) **Ultraviyole ışınlar:** Güneşten gelen zararlı ışınlara korunmasız ve aşırı derecede maruz kalanlarda çoğunlukla deri kanserleri görülmektedir.

e) **Kimyasal Maddeler:** Bazı meslek gruplarında çalışan insanların, endüstriyel kimyasal maddelere maruz kalmasında anser oluşumuna sebep olduğu düşünülmektedir. Bunlardan bazıları plastik sanayinde, lösemi, lenfoma, akciğer kanseri. Kömür sanayinde, akciğer ve böbrek kanseri. Boya sanayinde çalışanlarda ise akciğer mide ve yemek borusu.

f) **Beslenme Alışkanlığı:** Kanser oluşumunda beslenme alışkanlığı etkisinin %30 ile 70 arasında değişmekte olduğu bilinmektedir. Kızartma, gibi bazı pişirme yöntemleri kanser oluşumuna neden olabilmektedir.

g) **Genetik faktörler:** Kanser sadece genetik rahatsızlık olmadığı gibi dış(çevresel) etmenlerle birlikte de etki edebilmektedir. Yalnız bazı hastalıklar (çocuklarda görülenbir göz kanseri olan retinoblastomda ile Kalın barsakta polipler) aileden geçen rahatsızlıklardır (13).

2.1.3. Kanserde Tedavi Yöntemleri

Hastaya kanser tanısı konulduktan sonra, tümörün yayılımı araştırılır ve hastalığın bulunduğu evreye bağlı olarak, genellikle aşağıdaki tedavi yöntemlerinden biri tercih edilerek uygulanır.

1. Cerrahi tedavi
2. Radyoterapi
2. Kemoterapi

Radyoterapi yöntemlerinden biriyada birden fazlası, aynı anda uygulanabilmektedir. Kanser tedavisinin esas amacı, olabiliyorsa hastalığı kontrol altına alabilmek, bu mümkün görünmüyorsa hastanın hayat kalitesini olabildiğince yükseltmektir.

1.Cerrahi Tedavi: Kanserde cerrahi işlemdeki amaçlar daha çok;

- Tanı amaçlı
- Tedavi amaçlı
- Korunma (önleyici) amaçlı ve
- kanser kontrol altına alarak hastanın yaşam kalitesini arttırmaktır.

Kanserde, cerrahi işlem tanısal ve tedavi olarak iki şekilde uygulanmaktadır.

-Tanı amacıyla yapılan cerrahide, dokudan küçük bir parça alınır. Dokudan parça alınması işlemine ise biyopsi denir. Bu işlemde kanserin türü ve metastaz durumu hakkında bilgi sahibi olunur (21).

-Tedavi amaçlı cerrahide ise kanser türü uygun ve metastaz durumu iyi olan kanserli doku tamamen çıkarılarak, etrafındaki bir kısım normal olan dokularında, temizlenmesi işlemi gerçekleştirilir (21).

- Korunma(önleyici) amaçlı cerrahide kalıtsal bir bağırsak kanseri türü olarak FAP (Kalın bağırsak polipleri)'in ileriki zamanlarda kansere yaklanma riskinin fazla olmasından dolayı çıkarılması işlemi olarak uygulanır (21).

-Daha ileri seviyedeki kanser vakalarında uygulanan bir yöntemdir. Amaç kanser kontrol altına alarak hastanın acısını azaltmak ve yaşam kalitesini arttırmaktır (22).

2. Radyoterapi (Işın Tedavisi): Radyoterapide amaç, yüksek dozda verilen iyonize ışınların kanserli hücrelerin çoğalmasını engellemek ve kanserli hücreleri öldürmesini sağlamaktır. Radyoterapide kullanılan iyonize ışınlar (RadyoX-ışınları, gamma ışınları, elektronlar gibi) kanserli hücreye tahribat verme şeklinde etki etmektedirler. Fakat bütün kanser türlerinde radyoterapi etkili olmayabilmektedir.

Nedeni ise bazı kanser türlerinin Radyoterapiye dirençli olmasından kaynaklanmaktadır. Radyoterapide, cerrahi gibi radikal ve palyatif amaçlarla kullanılmaktadır (23,24).

3. Kemoterapi: Kanserin sitotoksik (ilaçla) tedavisidir. Kanserin başladığı bölgenin uzaklarına yayılmış olması sebebiyle kullanılan bir tedavi yöntemidir.

2.2. Meme Kanseri

Kanser en fazla rastlanan ve mortalitesi önemli seviyede olan bir sağlık problemidir (25). XX. yüzyılın ilk dönemlerinde mortalitesi bakımından 7.inci sırada bulunan kanser, bugün KDH (kalp damar hastalıklarının)'dan sonra 2.inci olarak bulunmaktadır (26). WHO (Dünya sağlık örgütü) dünya'da 7 milyon insanın her sene kanserden öldüğünü bildirmektedir. İnsanların %25'i hayatları boyunca bir defa kanserle karşılaşmaktadır. Erkeklerde ölüm sebeplerinde ilk sırada akciğer kanseri gelirken, bayanlarda ilk sırada meme kanseri gelmektedir (27). Bayanlarda meme kanseri sıklığı, taranabilirliği halk sağlığı bakımından önemlidir. Meme kanseri erken teşhis konması hayatta kalma şansını %20 arttırmaktadır. Meme kanserinde 20 yaşından itibaren kendi kendine elle meme muayenesi (KKMM), 20-40 yaşları arasında ise 3 yılda bir defa, 40 yaş üzerinde her sene KMM (klinik meme muayenesi), 40 ile 49 yaş arası ortalama 2 yılda bir, 50 yaşın üstünde de senede 1 defa mamografi yaptırılmalıdır. Tümör tiplerinin büyük çoğunluğu KKMM ile saptanabilmektedir.

Memedeki 10'da 9'nun bayanların KKMM ile saptadığı, bu kitlelerin % 25'inin kötü huylu tümöre dönüşme eğiliminin olduğu bilinmektedir (28). Bugün kanser kelimesi birçok bireyde korku ve endişeye sebep olmaktadır. Ancak tedavi tekniklerinin gelişmesi ve erken tanı sayesinde birçok insanın yaşam süresi uzayabilmektedir (29).

2.2.1. Meme Kanserin Tarihi

Meme kanserinin tarihi çok eskiye dayanmaktadır. M.Ö. 3000-2500 yıllarında hekim imhotep tarafından meme kitlelerinden bahsedilmiş ve tedavisinin olmadığı söylenmiştir. Meme apsisi ve kistleri için kızgın metal ile koterizasyon yapıldığı aynı dokümanda belirtilmektedir (25).

M.Ö. 460-370'de ilk defa Hippocrates tarafından "karkinoma" terimi kullanılmış ve "tüm vücudu etkiler, uzaklara gider, iyileşmez ve hasta bu nedenle ölür denmiştir". Bu metastatik meme kanseri hakkında ilk bilgidir. M.S. 180 yılına ait bir dokümanda mastektomiden bahsedilmektedir. 1852-1922 yılları arasında yaşayan William Steward Haisted meme kanserinde standart cerrahi tedavi ilkelerini ileri sürmüştür. Bu teknik Radikal mastektomi olarak anılmaktadır (30).

Virchow'un, kanserin primer neoplazmdan geliştiğini belirtmesinden sonra erken tanı ve daha sınırlı cerrahi gelişim arayışları başlamıştır. Patey 1948'de, Modifiye Radikal Mastektomi ameliyatını tarif etmiştir (31).

2.2.2. Meme Kanserinin İnsidansı

Kadınlarda kanserlere bağlı ölüm sebebi olarak akciğer kanserlerinin meme kanseri oranını geçtiği biliniyorsa da, meme kanseri tanısı alan kadınlar batı dünyasında kanser çeşitleri içerisinde en çok ve en yaygın kanser olmayı sürdürmektedir. ABD'de her 10 kadından birinde meme kanseri gözlemlendiği bilinmektedir. Kadınlarda 54 yaşlarına kadar kansere bağlı ölüm sebebi olarak ilk sırada meme kanseri bulunmaktadır (3).55 - 74 yaşlar arasındaki kadınlarda malign bir sebebe bağlı olarak akciğer kanseri ve 75 yaşın üzerindeki kadınlarda kolorektal kanserler meme kanserine bağlı ölüm oranını geçmektedir (2,15).

Dünya genelinde Hastalık İnsidansı

- Kuzey Amerika → 99.4/100.000
 - En az Asya, Ortadoğu ve Afrika'nın gelişmekte olan ülkelerinde;
- Afrika merkez → 16.5/100.000
 - Sıklık 1990'dan beri yılda % 0.5 artmakta
- Çin'deki artış → %3-4
 - Düşük-orta gelirli ülkelerde, halen yüksek olan bölgelerden, daha hızlı artmakta
 - Meme kanser ölümlerinin %54'ü düşük-orta gelirli ülkelerde

2.2.3. Meme Kanserinin Etiyoloisi

Meme kanserinin etiyojisinde sadece bir risk faktöründen bahsedemeyiz. Hastalıkta birden faktör yer almaktadır.

Bunlar;

1. Deęiştirilemeyen risk faktörleri
2. Deęiştirilebilen risk faktörleri
3. İhtimal dahilinde olan risk faktörleritartışmalı risk faktörleri olarak ayırabiliriz
4. Diğer Çelişkili Risk Faktörleri

1. Deęiştirilemeyen Risk Faktörleri;

a) Cinsiyet: Meme kanseri %99 kadınlarda görülürken, %1'de erkeklerde görülebilmektedir. Cinsiyet bu kanser türü için önemli bir risk faktördür. Bunun sebebi ise meme dokusunun kadınlarda fazla miktarda bulunmasıdır. Kadınların gelişimsel dönemlerindeki östrojen ve progesteron hormonlarındaki değişimdir(4).

b) Yaş: Meme kanserinde yaş önemli bir faktördür. Meme kanserinin ileriki yaşlarda görülme sıklığı artmaktadır. Yayılmacı (invaziv) meme kanserlerinin kadınlardaki yaş aralığına göre dağılımı;

%12.5 < 45 yaş altında

%66.6 > 55 yaşından büyük kadınlarda (4,35).

c) Aile Öyküsü: 1.derece Ailesinde meme kanserine yakalanmış bireylerin olması, kadınlardaki meme kanseri riskini arttıran faktörlerden biridir. Anne veya kardeşi meme kanseri olan kadınlarda risk faktörü 2-5 kat arasında artmaktadır (4,33,35,36).

d) Irk:Beyaz ırk'taki kadınların, zenci ırk'taki kadınlara kıyasla meme kanseri riski az olmaktadır. Sebebi ise bilinmemektedir (34).

e) Yoğun Meme Dokusu:Yoğun meme dokusu olan kadınlarda daha fazla meme dokusu (parankim dokusu) ve daha az yağ dokusu bulunmaktadır. Bu durum meme kanseri riskini arttırmaktadır (35).

f) Benign Meme Hastalıkları: Meme'de Benign (iyi huylu tümör) olan kadınlarda meme kanseri olasılığı yüksek olmaktadır. (35).

g) Hormonlar: Gebelik geçirmemiş veya ilk gebeliğe 35 yaşından sonra kalmış olmak, erken menarş (adet görme) hastalığında etkili olmaktadır. Menarşın bir yıl gecikmesi ile meme kanseri riskini %20 civarında azalttığı kabul edilmektedir (36).

Menopoz yaşı 45'ten önce olan kadınlar, Menopoz yaşı 55'ten sonra olan kadınlara oranla kanser riski daha düşük seviyededir. İlk doğumu 30 yaşından sonra yapankadınlardaki Meme kanseri riski, 20 yaşından önce ilk doğumunu yapmış olan kadınlara göre dört kat daha fazla olmaktadır (4,33).

h) Daha Önce Göğüs Bölgesine Radyasyon Alınması: Erken yaşlarda, göğüs etrafına radyoterapi yapılan kadınlar için meme kanseri riski fazladır. Radyasyonun alınmış olduğu yaş, risk seviyesi üzerinde önemli olmaktadır. 40 yaş üzerinde alınan radyasyonun meme kanserinde önemli bir risk oluşturmadığı gözlenmiştir. Mamografinde meme kanserinde risk oluşturmadığı gözlemlenmiştir (4,33,36).

I) Genetik Mutasyon: Meme kanserineyakalanan her 10 bayandan1'inde OD (otozomal dominant) geçişli kalıtsal sebebin olabileceği belirtilmektedir. Kalıtsal meme kanserlerinin %50-60 kadarı 17 no'lu kromozomda bulunan BRCA-1 (Breast Cancer-1) ile BRCA-2 (Breast Cancer-2) genlerinden birinde meydana gelen mutasyondankaynaklanmaktadır (4,33).

Breast Cancer Tip1, ER(östrojen reseptör) aktivitesini kontrol ederken, meme dokusunda artma sebebi olan östrojeni denetimini sağlar. DNA'da meydana gelen bozulmaları tamir ederek kromatinin yeniden şekil almasında rol alır (4,33,36).

Breast Cancer Tip2'de; Bir tek DNA'dameydana gelen bozulmaları tamir ederek kromatinin yeniden şekil almasında rol alır (33,36).

Breast Cancer-1 ve Breast Cancer-2 genleri normalde hücrelerin anormal şekilde büyümelerini önleyerek tümör oluşumunu engelleyen tümör baskılayıcı genlerdir. BRCA-1 ya da BRCA-2 genlerinde mutasyon bulunan kadınların genlerinde mutasyon bulunmayan kadınlara oranla meme ya da over kanserine yakalanma risklerinin daha fazla olduğu belirtilmektedir. Aynı ailede BRCA-1 ve BRCA-2 gen mutasyonlarının varlığında meme kanseri riski %80 daha fazladır (4,33,36).

2. Değiştirilebilir Risk Faktörleri;

a) Çocuk Sahibi Olma: İlk gebeliği 30 yaşından sonra olan veya çocuk yapmayan kadınlarda, Meme kanseri riski arttırmaktadır. Nedeni ise gebeliğin, yaşamı boyunca toplamda geçirdiği, menstural döngü sayısını azaltmaktadır (4).

b) Oral Kontraseptif Kullanımı: Doğum kontrol hapları kullanan kadınlarda, hiç kullanmayanlara oranla meme kanseri riskinin azda olsa arttırdığı saptanmıştır. Doğum kontrol haplarının kullanımı sona erdiği zaman azalmakta olup ve 10 yıldan sonra meme kanseri riski bulunmamaktadır (4,33,35,36).

c) Emzirme: Emzirme riskin azaltılması açısından önemlidir. Emzirme süresi olarak 18 – 24 ay arasında çocuklarını emziren kadınlarda meme kanseri riski azalmaktadır. Nedeni ise yaşamı boyunca toplam menstural döngüyü azaltmasıdır (4).

d) Alkol: Alkol kullanım miktarı meme kanseri açısından önemlidir (37). Erken yaşlarda alkol kullanımına başlama risk açısından daha da önemli bir etkidir. Günlük alınan miktar 2 ila 5 arasında olduğu takdirde meme kanseri riski yaklaşık olarak 1,5 kat artmaktadır.

e) **Beslenme:** Postmenopozal dönemde beslenme (yağlı besinler) ve obezite meme kanseri riskini artırır. Obezite isesalınan insülin düzeyini yükseltir. Yağ dokuları, östrojeni tutarak ve fazlaca endojen östrojen salınımına neden olur. D vitamini eksikliği de kadınlar da meme kanseri riskini arttıran bir diğer faktördür (33,35,36).

f) **Aktivite:** Mutlaka her gün düzenli 60 dk'ya yakın egzersiz yapmak gerekmektedir (33).

3. İhtimaldahiinde olan Risk Faktörleri;

a) **Çevre Kirliliği:** Çevrenin meme kanseri üzerinde herhangi bir etksinin olup olmadığı konusunda çalışmalar yapılmaktadır. Henüz meme kanseri üzerinde etkisi olduğunu kanıtlayan bir çalışma bulunmamaktadır (37).

b) **Tütün Ürünleri Kullanımı:** Sigara kullanımıyla, meme kanserinin ilişkili olmadığı konusunda çalışmalar bulunmasına rağmen, pasif içiciliğin meme kanseri riskini arttırdığını gösteren çalışmalar bulunabilmektedir (33).

4. Diğer Çelişkili Risk Faktörleri;

Gece vardiyasında çalışmak. Mesleki olarak elektromanyetik alana maruz kalmak, ter önleyici losyonlar, kürtaj ve göğüse konulan silikonların meme kanseri riskini arttırdığı bazı kaynaklarda geçmektedir (33).

2.2.4. Meme Kanserinin Evreleri

Meme kanserinin evrelerini tümör boyutu ve kanserin yayılıp yayılmadığı belirlemektedir.

Evre-1; Tümör boyutu 2 cm.'den küçüktür. Yayılma olmamıştır.

Evre-2; Tümör boyutu 2-5 cm. arasındadır. Tümör hücreleri koltuk altı bezlerine çok olmamakla beraber yayılmış olabilir.

Evre-3; Tümör 5 cm.'den büyüktür veya 5 cm.'den küçüktür fakat koltuk altı bezlerine göğüs kaslarına, meme başına veya boyun lenf nodlarına yayılmıştır. Bu evre-3 olarak tanımlanmaktadır.

Evre-4'te ise meme kanserinin metastaz yapmasıdır.

2.2.5. Meme Kanseri Hücre Hatları

1. MDA-MB-231 Hücre Hattı
2. MCF-7 Hücre Hattı

1. MDA-MB-231 Hücre Hattı: Kanser hücre tiplerinden olan MDA-MB-231 hücreleri 51 yaşında olan meme adenokarsinoma bulunan bir bayanın plevral efüzyonundan izolasyonu yapılmıştır (5). Normal olmayan karyotipe sahip olan hücre çizgisinde kromozom sayıları normal yapıda değildir. Karyotip analiz içerisinde kromozom miktarlarının triploide yakın değerler içinde (6).Bulunduğu gözlemlenmiş, az sayıda normal ve çok az sayıda da kromozoma sahiptir N8 ve N15 kromozomları yoktur. Bahsi geçen kromozomlar sitogenetik analizler kapsamında markır olarak kullanılmaktadır. Yapılan karyotip analizler, hücre populasyonlarının kromozom sayıları ve yapıları açısından homojen olmadıklarını göstermişlerdir (7).Meme kanseri hücrelerinin belli özelliklerini modelleyen bu hücre hattı, invaziv kanseri in vitro koşullarda çalışılmak için oldukça uygun bir modeldir (38). ER negatif olan MDA-MB-231 hücreleri normal meme hücrelerinin gösterdiği özelliklerini kaybetmiştir (39). MDA-MB-231 hücrelerinde oluşan söz konusu değişimler, tümörün ilerlemeleri, metastaz oluşumları ve programlı hücre ölümlerine direnç kazanmasıyla alakalıdır (5).

2. MCF-7 Hücre Hattı Özellikleri: MCF-7 hücresi, ilk defa 63 yaşındaki 4.seviye meme kanseri süt kanallarında ortaya çıkan (duktal karsinomalı) kadından 1970 senesinde elde edilmiştir. Bu yıldan sonra, ER+ (östrojen reseptörü pozitif) MCF-7 hücre çizgisiyle ilgili 12.000'e yakın çalışma ortaya konmuştur.

Epitelyal yapı içerisindedir ve çoğalma unsuru bağlanma proteinlerini üretmektedir (8).MCF-7 hücrelerinin hücresel analizlerinde; kromozom sayılarında

anormal bir şekilde farklılık (artış ile azalış) gözlemlenmiştir (9). Yanlış eşleşmesi yapılmış olan bazların tamir edilme sürecinde görevli olan onarım proteinleri MCF-7 hücreleri içerisinde mutasyonlara uğramış olduğundan, hücreler antikanser ilaçlarına karşı dirençler geliştirmişlerdir (10). Kısacası DNA onarım hücrelerinde yaşanan bu mutasyonlar ya da tamir proteinlerinin az veya aşırı ifadesi, direnç gelişimlerinde birer etkidir (11). Meme kanseri ve diğer kanserlerin meydana gelmesi sürecinde, hücre döngüsü kontrol noktalarından siklin D1’de meydana gelen mutasyonlar MCF-7 hücrelerinde de bulunmaktadır (12).

2.2.6. Meme Kanserinin Tanısı

Meme kanserinin tanılama sürecinde kullanılmakta olan birtakım tekniklerden altı tanesini şunlardır;

1.El Yordamıyla Kendi Kendine Meme Kontrolü: Memelerde elle yapılan muayenelerin meme kanseri teşhis aşamasında ciddi önemi bulunmaktadır. Her bayan kendi kendisine meme kontrollerini belli aralıklarla yapması önerilmektedir çünkü erken teşhis kanser tedavisinde hayat kurtarmaktadır. Meme bölgeleri içerisinde meydana gelen kitleler çoğunlukla kadınlar tarafından anlaşılmaktadır. Tesadüfen farkedilen kitleler genellikle büyük kitleleri meydana getirmektedir (12).



Şekil2.1.KKMM(Elle meme muayenesi prosedürü) (12).

2. Doktor kontrolü: Meme kanserinin erken evrede fark edilmesi ve teşhisi için düzenli doktor takibi çok önemlidir. Hiçbir şikayeti olmasa bile 40 yaşından sonra tüm kadınların doktora başvurarak muayene olması gerekmektedir

3. Ultrasonografi: Ultrasonografik muayene meme kanseri şüpheleri arttığında başvurulmuş bir teşhis yöntemi olarak bilinmektedir. Mammografik bulgular kapsamında birads kategorisi ismi verilen bir sınıflandırma yapılmaktadır. BI-RADS, radyoloji uzmanlarının mamografi bulgularının tümünü yorumlarken kullanmış oldukları terminolojiye göre bir sınıflandırmadır. Mamografide görülmekte olan bulgular, iyi ya da kötü özelliklerine göre 0'dan 6'ya kadar bir sınıfa dahil edilmektedir. Bu hastalığın boyutlarını ve hangi evre içinde olduğunu anlama noktasında önemlidir (40,41).

4. Mamografi: Her insan esasında belirli aralıklarsa sağlık muayenesine girmeli ve özellikle son dönemlerde bir hayli artan meme kanseri vakalarından ötürü bayanlar belirlenmiş aralıklarla mammografi çektirmelidir. Meme kanseri erken evre de tanıya olanak sunmaktadır.

50-64 yaş arası var 3 yılda 1

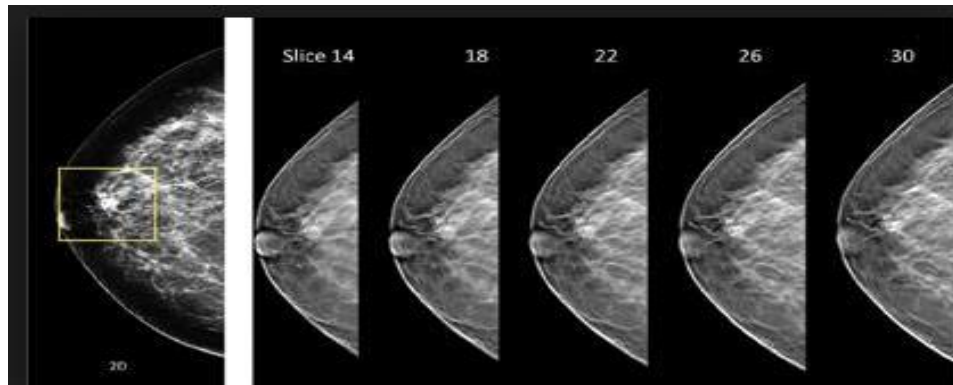
50 yaş altı yok

64 yaş üstü yok (UK)

35-39 yaş arasında ilk mammografi

50 yaşına kadar 2 yılda 1

50 yaş sonrası her yıl (USA) (12).



Şekil2.2.Mamografide meme kitle görüntüsü (38).

5. MR: Bir tanı yöntemi de MR yöntemidir. Meme dokusundaki kitlenin ayrıntılı görüntülenmesini sağlar.

6. Biopsi: Biyopsi, şüpheli bölgelerden doku örneklerinin alınıp patoloji incelemelerine yollanması durumudur. Biyopsi **kesin tanı** için yapılmaktadır. Memedeki şüpheli bir bölgenin ya da dokunun kanser olup olmadığını kesin şekilde anlamak ve belgelemek için gerçekleşen işlemdir. Biyopsi haricinde tanıyı kesinleştiren ve belgeleyen bir diğer teşhis yöntemi bulunmamaktadır. Mamografi ve ultrasonografi benzeri radyoloji incelemeleriyle sadece şüpheleri kuvvetlendirmek ve biyopsi kararı almak mümkündür. Son sözü patoloji raporu gösterir ve belgelemektedir.

Biyopsinin ne şekilde yapılacağına doktor karar verir. Şüpheli alanın neye benzediği, büyüklüğü ve lokalizasyonu yöntemin seçiminde önemli kriterlerdir.

2.2.7. Meme Kanserinin Tedavisi

Son dönemlerde, meme kanserinin tedavi sürecinde kaydedilmiş olan önemli iyileşmeler ve yeni tedavi imkanları bulunmakta ayrıca hastalığın erken teşhis durumu ve tedaviyle tam manasıyla yok edilebilmesi sağlanmaktadır.

Günümüzde meme kanseri tedavilerinde kaydedilmiş olan önemli gelişmeler ve yeni tedavi imkanlarıyla hastalığın teşhisleri ve tedavileri çok daha kolay ve başarılı durumu gelmiş görünmektedir. Meme kanseri tedavilerinde ilk olarak memenin korunmasına dair tedavisi ve uygulamalarıdır. Erken dönemde ortaya çıkan meme kanserlerinde meme kaybı olmadan, gelişmiş yöntemlerle hastalık yayılımları önceden tespit edilerek önlem alınabilmekte ve tümöre direk olarak müdahale edilmektedir. İleriki aşama meme kanserlerinde memenin cerrahiyle alınması söz konusu olmasından ötürü durumlarda plastik cerrahi yaklaşımlarıyla meme rekonstrüksiyonu operasyonu yapılabilmektedir.

Meme kanseri tedavileri hastaların hangi aşamada olduğuna bağlı olarak değişim göstermektedir. Evre 0'da ameliyat sonrasında kemoterapi tedavisine ihtiyaç duyulmamaktadır. Çoğu kez radyoterapi de tedaviye ilave edilmektedir. Evre I ve II 'de kitle küçük olduğu için önce ameliyat ardından kemoterapi uygulanıp uygulanmayacağına karar kılınır. Evre III'te ilk olarak kemoterapi tedavisi

uygulanmakta hemen akabinde de hasta ameliyata alınmaktadır. Evre IV'te ise eğer kanser vücudun çok fazla bölgesine yayılmadıysa cerrahi düşünülebilir. Fakat kanser yayılımı fazla durumdaysa yalnızca ameliyat kesinlikle önerilmez. Sadece kemoterapi ve bazen radyoterapi tedavisi uygulanır.

2.3. Biyobelirteç Olarak Organik Asitler

Organik asitler vücutta çok önemli rollere sahip bileşiklerdir. Enzim eksiklikleri nedeniyle vücudun bazı amino asitleri ya da organik asitleri metabolize edememesi sebebiyle toksik organik ara maddelerin birikimine bağlı ortaya çıkan bir grup hastalık organik asit bozuklukları olarak tanımlanır. Biriken toksik maddelerden dolayı sorun yaşayan organizma aynı zamanda sorun yaşanan yoldan sentezlenecek bazı amino asitleri de sentezleyemediğinden bunların yokluğunda yaşar.

Metabonomik (veya Metabolomik) “omik” teknolojileri arasında yeni ve umut vericidir. Hücre, doku ya da organizmayı meydana getiren metabolitlere bütünsel bir yaklaşımı temsil etmektedir (42).

Genellikle metabolomik çalışmalar için gerekli örnekler, plazma, idrar, vajinal sıvılar, süt (anne), amniyotik sıvı, göbek kordon kanı (fetüs) ve plazma, idrar, plasenta, tükürük, diğer sıvılar (yenidoğan) ile yapılabilmektedir. Birçok hastalıklar, doğum öncesi (prenatal) tanı, fetal'de oluşabilecek bozukluklar ile bebek (yenidoğan) rahatsızlıklarının belirlenebilmesi için, belirtilen numunelerden faydalanılarak yapılabilmektedir (43).

İnsan kanında ve idrarında ölçülen Org.asit, a.asitler, nörotransmitter, bağırsak bakterileri, besinle alınan lipitler ve k.hidrat metabolizması ile ilgili ipuçları vermektedir (44).

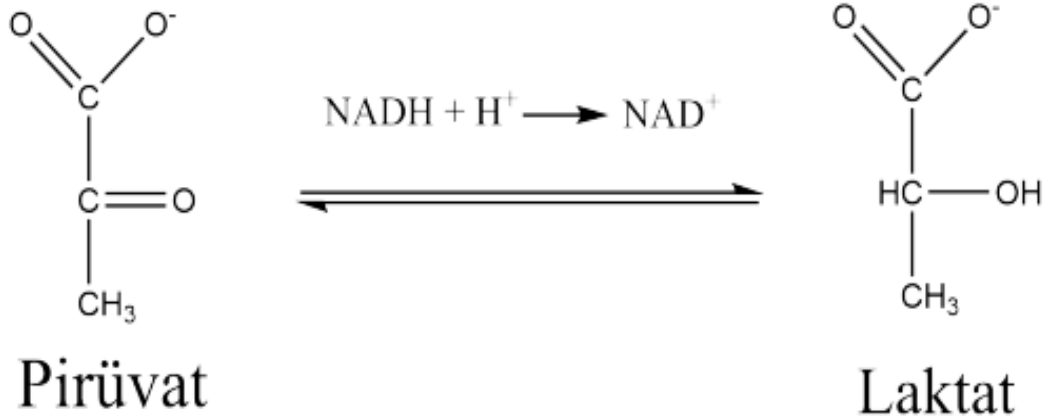
2.3.1. 3-Hidroksipropiyonik asit

C₃H₆O₃ (3-hidroksipropiyonik asit) ile gösterilen karboksilik asittir. BTD (biotidinaz) eksikliği ve aminoasit metabolizmasının nadir bir genetik hastalığı olan (propiyonik asidemi) rahatsızlıklarında idrardaki atılımında yükseliş gözlenmiştir (43).

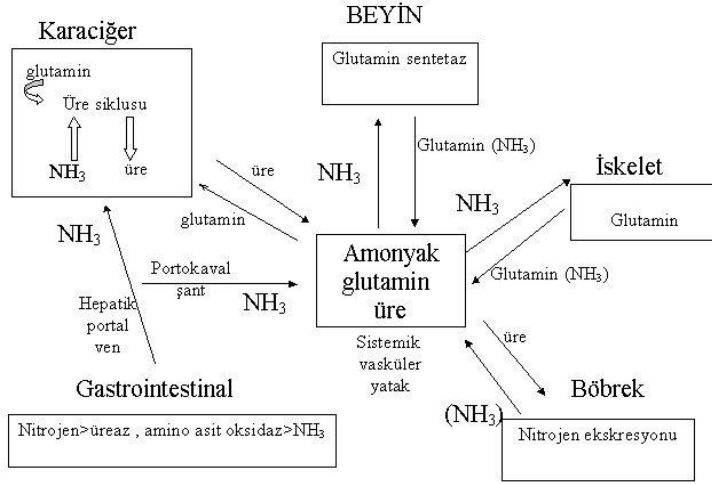
2.3.2. Laktik asit

C₃H₆O₃, (Laktik asit) formülüne sahiptir. iki izomeri vardır. (L- ve D- laktik asit). L-laktik asit hayvanlarda bulunan formudur. Laktik asit, Sitoplazmada glikoliz sonucu ortaya çıkan ara metabolit piruvattan, glikoliz olayında LDH tarafından sentezlenir ve karaciğer ile renal kortekse taşınarak tekrar glukozu dönüştürülür. Vücutta kullanımı için dolaşıma verilir. (Şekil 2.3 ve 2.4)(47). Yorulma, önemli hastalık, korku gibi durumlarında Laktik asit yüselbilmektedir (46).

Laktat Dehidrogenaz



Şekil2.3. Glikoliz sonucunda piruvat'tan laktat'ın meydana gelmesi (47).



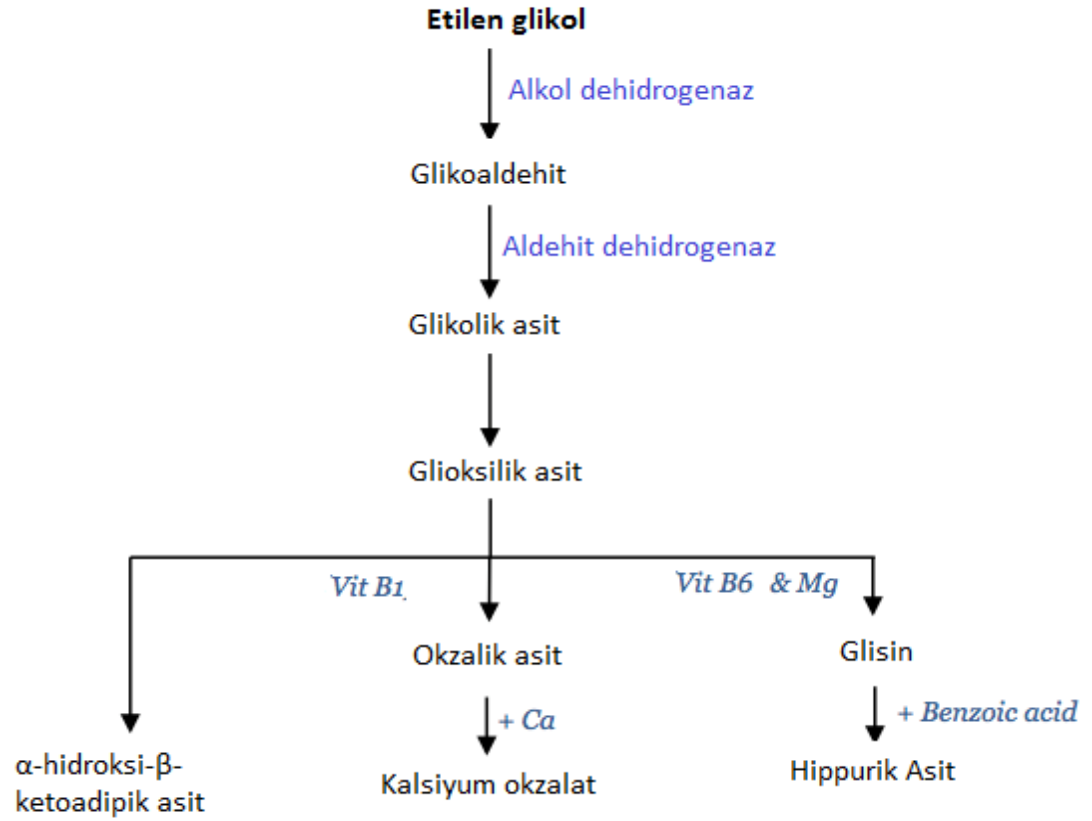
Şekil2.4.Glikoliz sonucunda piruvat'tan laktat'ın meydana gelmesi (47).

2.3.3. Pirüvik asit oksim

$C_9H_{21}NO_3Si_2$ (Pirüvik asit oksim) en basit keton asitidir.Keto asidi veya karbonsilik asit grupları içerisinde pirüvik asit önemli bir metabolik asittir. Pirüvat, oksijenin yeterli olmadığı durumlarda, glukozun,glikolizis reaksiyonları sonucunda birglukoz molekülünden iki Pirüvat asit molekülü meydana gelir. Metabolik hastalık durumlarında pirüvik asit, Laktik asit ile beraber olarak değerlendirilir (45).

2.3.4. Glikolik asit

$C_2H_4O_3$ (Glikolik asit) Farklı tür meyvelerde doğal olarak bulunan ve meyve asitleri olarak bilinen Alfa HidroksiAsit'lerinin üyesinden bir tanesidir.HOCH₂CH₂OH "Etilen glikol"denokzalit üretimi esnasında ara basamakta üretilir (Şekil-5) (48)

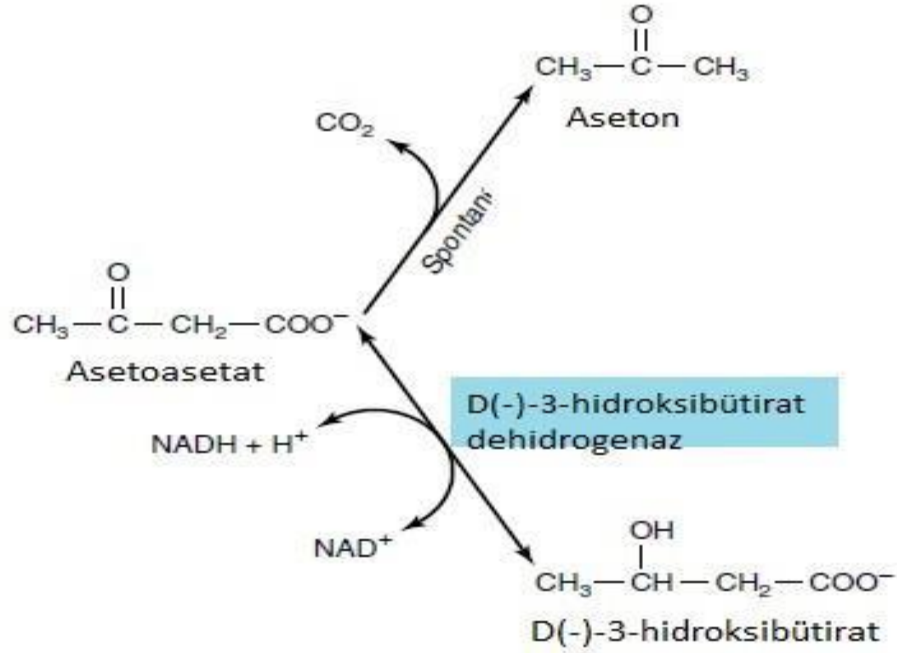


Şekil2.5. Glikolik asit'ten okzalat taşının oluşumu (48).

2.3.5. 3-hidroksibütirik asit

$C_4H_8O_3$ (3-hidroksibütirik asit) keton cismidir. Aç karnına iken asetoasetattan üretilir. Karaciğerde asetoasetil-KoA'dan asetoasetat sentezlendikten sonra sadece sitozolde kolesterol sentezi için kullanılabilir. Karaciğer dışı dokularda ise asetoasetil-CoA'ya dönüştürülebilir. Ketojeniz üç aşamadan oluşmaktadır.

1. Yağ dokusundan serbest yağ asitlerinin aktif olarak kodifikasyonu
2. FFA (Serbest yağ asidi)'nin karaciğerde esterleşmesi ya da beta-oksidasyona uğramasının kodifikasyonu
3. Beta-oksidasyonda oluşan AsetilKoenzim-A'nın sitrik asit döngüsü (TCA)'ndeyada ketojeneze gidişinin kodifikasyonu (45).



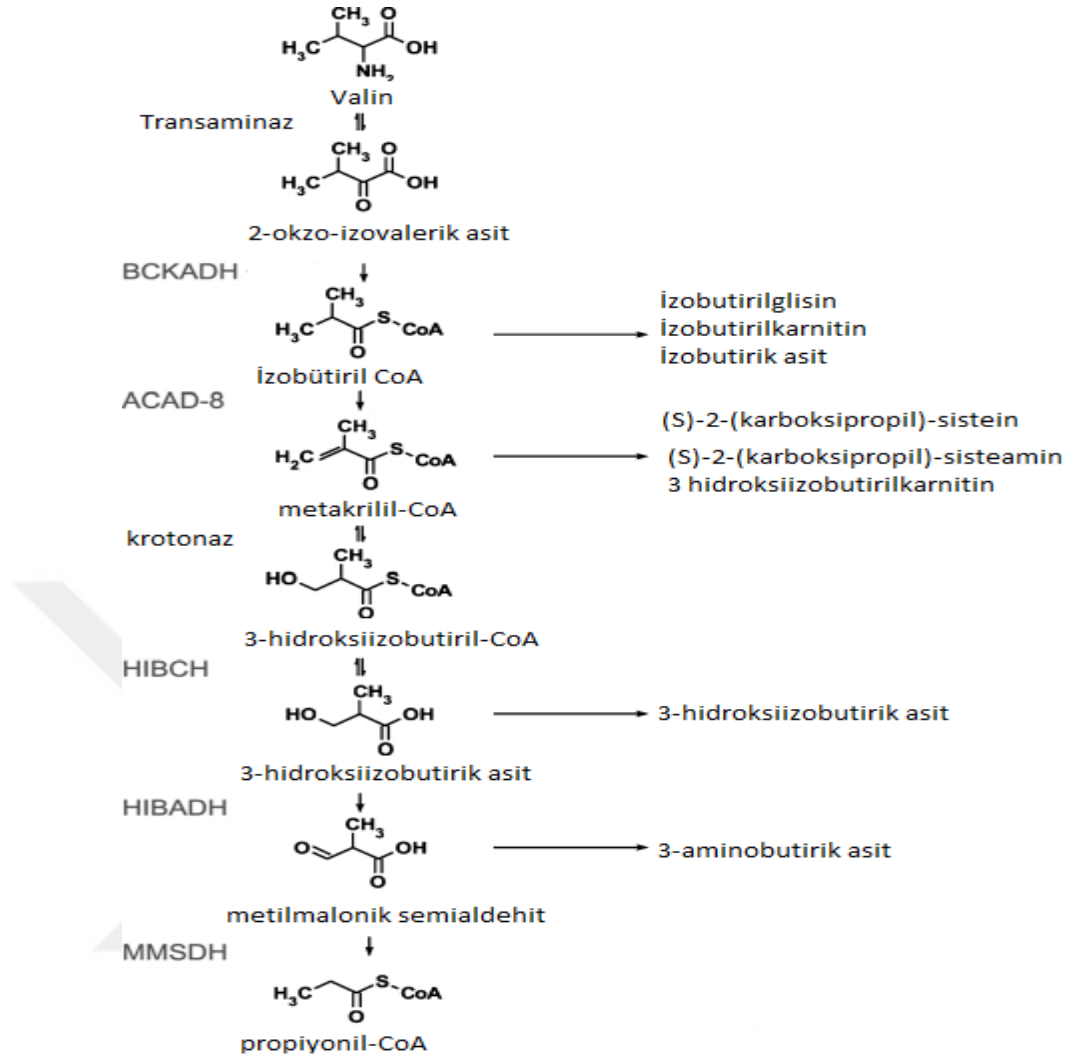
Şekil2.6.AA (Asetoasetat)'tan keton cisimlerinin oluşumu (45).

2.3.6. 2-hidroksiizovalerik asit

C₅H₁₀O₃ (2-hidroksiizovalerik asit), valin katabolizmasında oluşan üründür ve bu katabolizma işlevini kaybettiğinde C₅H₁₀O₃ vücuttan idrarla uzaklaştırılır. Akçağaç şurubu olarak bilinen hastalık durumunda C₅H₁₀O₃ idrarda artar (49).

2.3.7.3-hidroksiizobütirik asit

C₄H₈O₃ (3-hidroksiizobütirik asit), V (valin) metabolizmasında ara üründür (Şekil 2.7). C₄H₈O₃ ve MMSDH(metilmaloniksemialdehitdehidrogenaz) eksikliğinde idrarda artar (50,51).



Şekil2.7. Valin katabolizması. (BCKADH: dallı zincirli 2-okzoasit dehidrogenaz, ACAD-8: açıl-CoAdehidrogenaz, HIBCH: 3-hidroksiizobütiril-CoA hidroksilaz, HIBADH: 3-hidroksizobütirik asit dehidrogenaz, MMSDH: metilmaloniksemialdehitdehidrogenaz) (52).

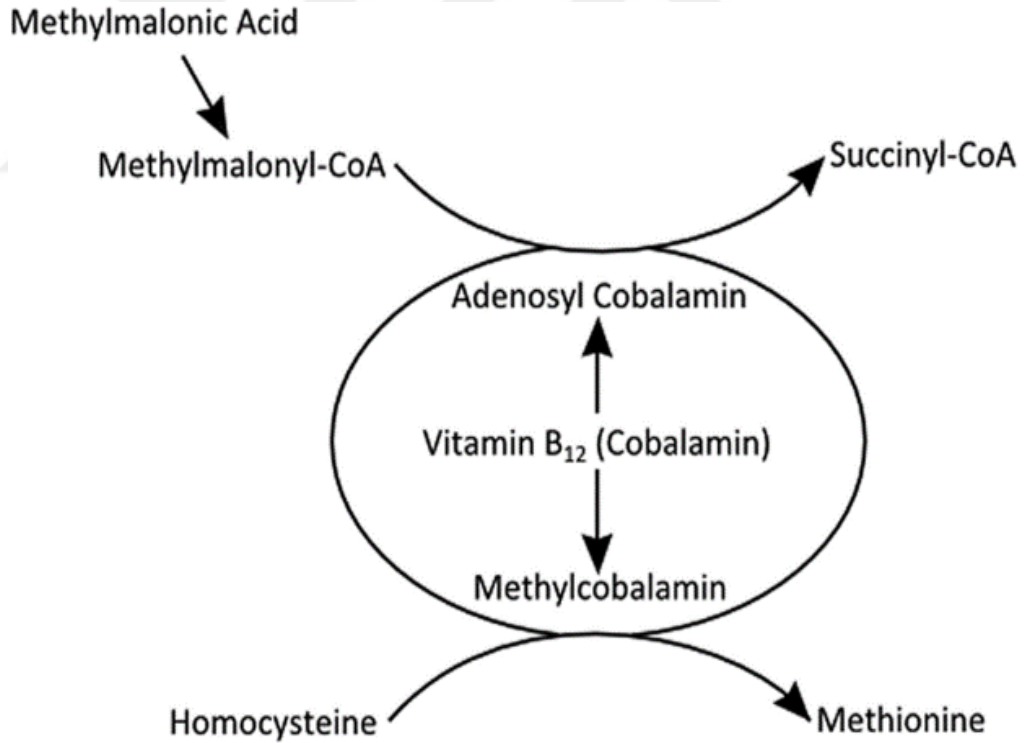
2.3.8. 3-hidroksiizovalerik asit

C₅H₁₀O₃ (3-hidroksiizovalerik asit) lözinmetabolitidir (53). 3-OH-3-methylglutaryl-CoA lyase enzim eksikliği (3-OH-3-metil glutarikasidüri), (53). Lösin kaynaklı konjinetal bir metabolik hastalıktır.

Klinik buluları ise çoğunlukla biyotin noksanlığı olan hastaların idrarlarında yüksek çıkmıştır (54).

2.3.9. Metilmalonik asit

$C_4H_6O_4$ (Metilmalonik asit) malonatın C-türevi asittir. Vitamin B12 eksikliği durumlarında MMA (metilmalonik asit) testine de bakmak gerekebilir (53,55). MMA süksinilKoenzim-A oluşturmak üzere vitamin B12 ile reaksiyona girer. Vitamin B12 vücuda dışardan alınması zorunlu bir vitamin olup, kırmızı kan hücrelerinin üretimi nörolojik fonksiyonların devamı ile, DNA sentezinde yardımcıdır. Çünkü vitamin B12 eksikliğinde idrarda yada kanda MMA düzeyi artmaktadır. Bu konuda özellikle metilmalonik asit (MMA) testi kullanılabilir (51). MMA'ya süksinil-Koenzim-A mutaz veya MMA-Koenzim-A epimeraz (metiyonin, treonin, izolösin ve valin yıkımında görevli) enzimlerinde yetersizlik bulunmaktadır. Bundan dolayı da MMA-Koenzim-A, süksinil-Koenzim-A'ya çevrilemediğinden dolayı MMA olarak birikir (43).

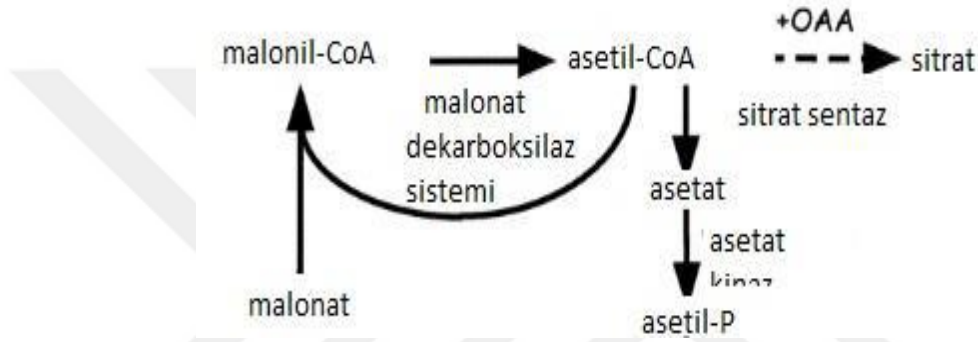


Şekil 2.8. Metilmalonik asit metabolizmasında vitamin B12'nin yeri (55).

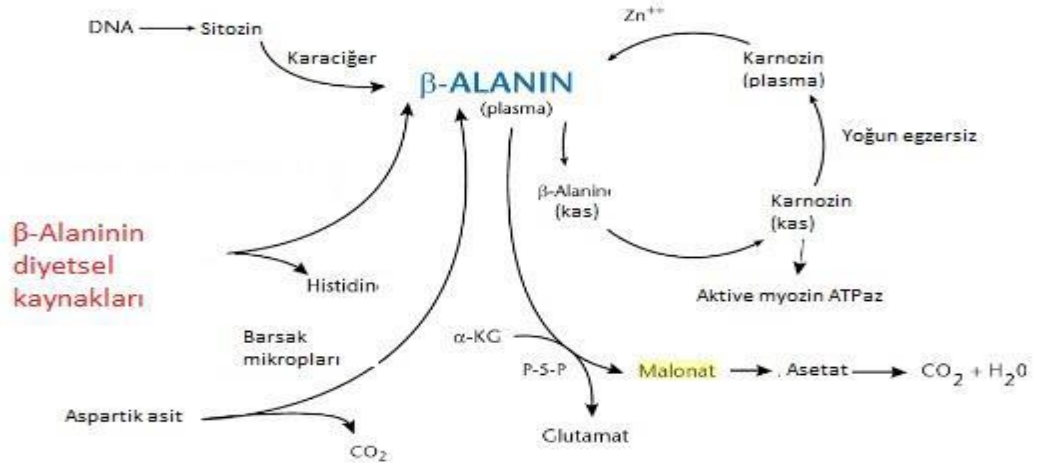
2.3.10. Malonik asit

$C_3H_4O_4$ (Malonik asit) bir dikarboksilik asit'tir. Malonil-Koenzim-A dekarboksilaz noksanlığında görülen malonik asit üründe, MMA (metilmalonik asit) birlikte idrardaki atılma miktarı artar (53).

Hücre ölümlerinde Deoksiribonükleik asit (DNA) katabolizması vasıtasıyla alanin salınmaya başlar, hücre fazlalaşan alanin sırasıyla malonat ve asetata dönüştürülerek atılır (43).



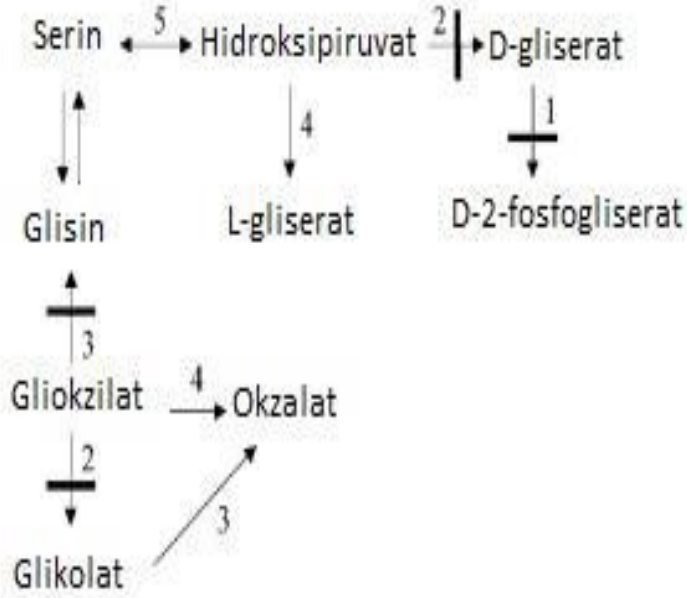
Şekil 2.9. Malonattan malonil-CoA oluşumu ile yağ asit sentezinin başlaması (56).



Şekil 2.10. Hücre ölümü sırasında alanin malonat ve asetata çevrilmesi. beta-alanin diyetle karnozin olarak alınır ve egzersiz sırasında kasta salınır. Urasil ve sitozin de beta-alanine yıkılır (43).

2.3.11. Gliserik asit

$C_3H_6O_4$ (Gliserik asit) serin metabolittir (Şekil-11)(57). gliserol'ün oksidasyonundan elde edilen renksiz bir şurup asididir.



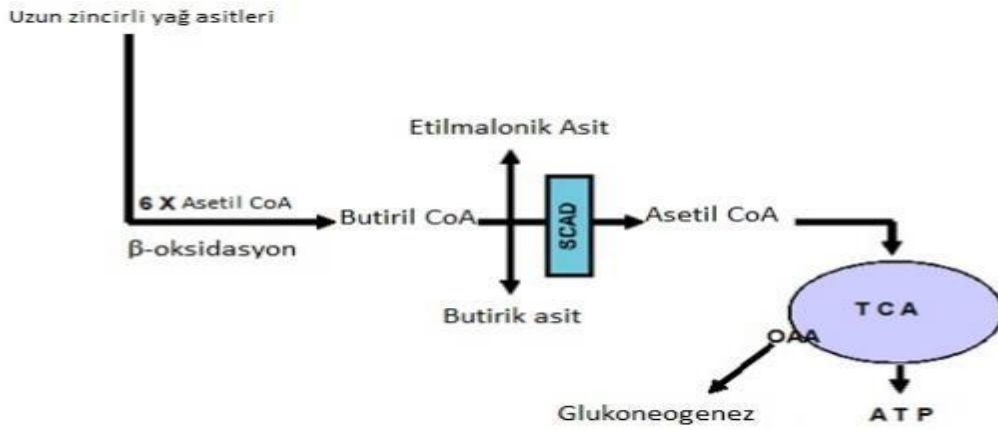
Şekil2.11. D-gliserikasidüri, primerhiperokzaluri Tip 2 ve primerhiperokzaluri Tip 1'in metabolik yolları.(1) D-gliseratkinaz,(2)Gliseratdehidrogenaz/glikozilatredüktaz, (3) Alaninglikozilattransaminaz, (4) Gliseratdehidrogenaz/Laktatdehidrogenaz, (5) Serin-piruvattransaminaz (57).

D-gliserikasidüri, doğuştan gelen metabolizma sorunu ile D-gliserat anemisi bulunan kişilerin idrarlarında fazla selenyum bulunur. gliserat kinaz eksikliği, D-gliserikasidüriye neden olur. Hastalığın belirtileri ise ileri derecede nörolojik rahatsızlık, gevşek bebek sendromu (hipotoni), nöbet, bileşik asit-baz dengesi (metabolik asidoz) bozuklukları yer almaktadır (58).

2.3.12. Etilmalonik asit

$C_5H_8O_4$ (Etilmalonik asit), SCADH (kısa zincir açıl-koenzim A dehidrogenaz) noksanlığında idrardaki yağ asiti metabolizmasının ürünüdür. Yağ asitleri β -oksidasyon yardımıyla parçalanması sonucu B-CoA (bütiril-CoA)'nın TCA

döngüsüne katılması SCADHyardımıyla A-CoA (asetil-CoA)'ya dönüştürülmesiyle olmaktadır (Şekil 2.12). SCADH eksikliğinde ise B-CoA, P-CoA (propiyonil-CoA)karboksilaz ile EMA (etilmalonik asit)'edönüştürülerekidrarlauzaklaştırılır (58). SCADH aktivitesi için FAD (flavinadenindinükleotid) olmalıdır. Bundan dolayıriboflavineksikliklerinde idrarla EMA'nın atılımınarastlanabilmektedir (59,60).

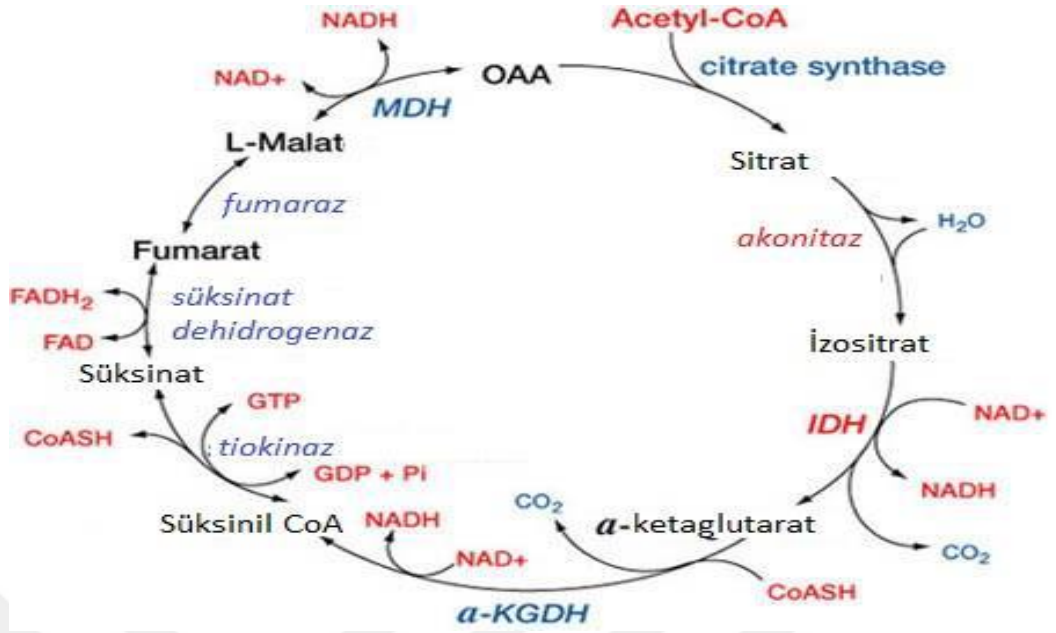


Şekil2.12. SCAD eksikliğinde etilmalonik asit atılımı (61).

2.3.13. Süksinik asit

$C_4H_6O_4$ (Süksinik asit) kimyasal formülüyle gösterilen dikarboksilik asittir. TCA döngüsüyle üretilmektedir.En önemli göreviyüksek enerjili elektronları *ETS*'ye aktarmak. (Şekil 2.13).

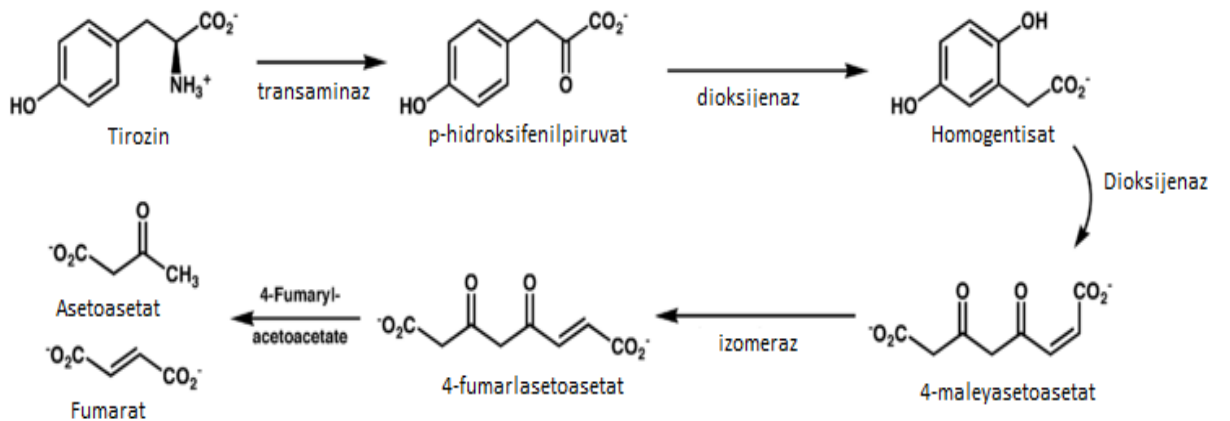
Süksinat sentezinde bozulma veya düzensizlik oluşması kanser gibi hastalıklara yol açabilmektedir (45).



Şekil 2.13. TCA döngüsü (62).

2.3.14. Fumarik asit

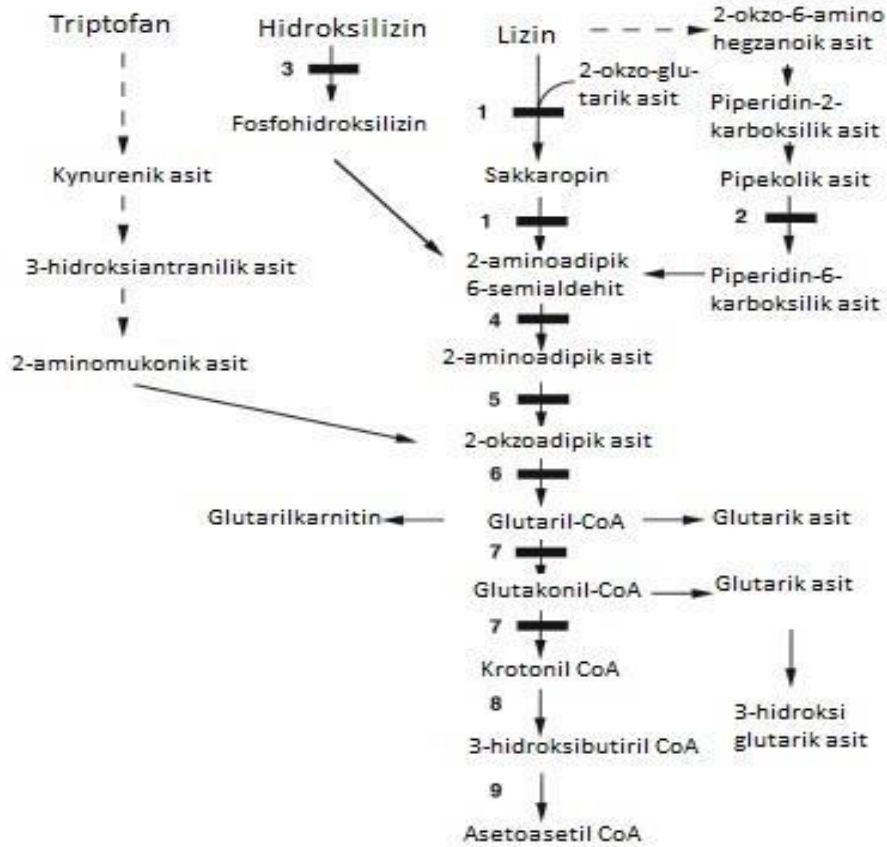
$C_4H_4O_4$ (Fumarik asit) formülüne sahip dikarboksilik asittir. TCA döngüsünde L-malatın öncülüdür. süksinat DH ile süksinik asitin oksidasyonu ile oluşmaktadır. Ve malatın öncülüdür. fumarat bir de üre döngüsü olarak da karşımıza çıkmaktadır (45). Onkogenik bir metabolit olarak bilinmektedir. O nkojenik etkisi ise proksilhidroksilaz içeren enzimleri inhibe etmesidir(43).



Şekil 2.14. Tirozin katabolizması ile fumarat ve asetoasetat'ın oluşumu (63).

2.3.15. Glutarik asit

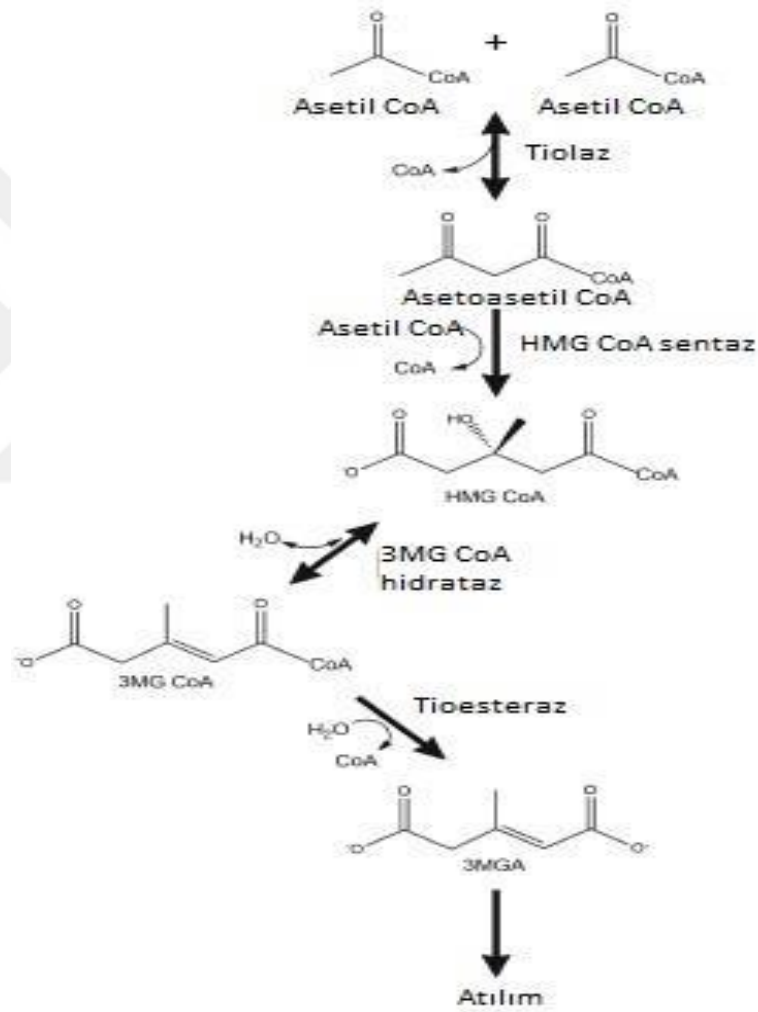
$C_5H_8O_4$ (Glutarik asit) doğrusaldikarboksilik asittir. Glutarikasidüridurumlarında İdrarda yüksek seviyede bulunur. Triptofan, hidroksilizin ile lizin, metabolizmasından görevli mitokondriyel GCoA DH (glutaril-CoA dehidrogenaz) noksanlıklarında GAT1 (Glutarikasidüri Tip 1), görülür (Şekil-15) (43). GCoA DH enzimi aktivitesinde FAD (flavinadenin dinükleotid) kullanıldığından dolayı, riboflavin noksanlıklarında glutarikasit'e idrarda yüksek seviyede rastlanabilir. Sıçanlara 2 hafta boyunca riboflavin içermeyen besinler verildiğinde idrardaki glutarik asit miktarında oldukça farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir (64).



Şekil 2.15. Triptofan, hidroksilizin ve lizin katabolizma yolları (1) 2-aminoadipik-6-semialdehit sentaz (2) pipekolik asit oksidaz (3) hidroksilizinkinaz (4) 2-aminoadipat aminotransferaz (5) 2-aminoadipik-6-semialdehit dehidrogenaz (6) 2-okzoglutarat dehidrogenaz (7) glutaril-CoA dehidrogenaz (8) enoilCoA hidrataz (9) 3-hidroksiaçil-CoA dehidrogenaz. Enzim eksikliğinde görülen patolojiler bar ile belirtilmiştir (53).

2.3.16. 3-Metilglutakonik asit

C₆H₁₀O₄ (3-metilglutakonik asit) lösinykımı sonucu meydana gelen bir maddedir. 3-MGCoA DHnoksanlığında idrar yoluyla fazla atılır. 3-OH-3-metil glutarikasidüri, erken tanı sayesinde hastalığın seyri hakkında bilgi verebilmektedir (57). Ancak asidozyada aşırı sıvı kaybı ile hastaneye başvuran hasta kaybedilebilmektedir(65).



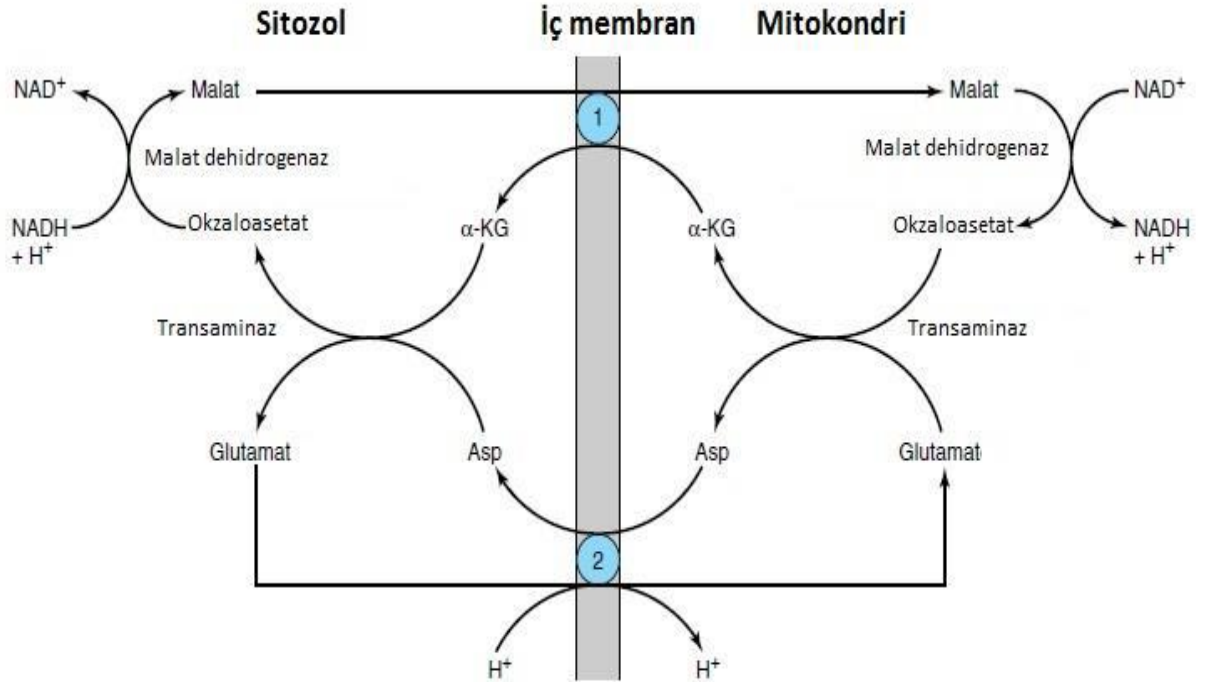
Şekil 2.16.3-metilglutakonik asitinde novosentezi. 3-metilglutarik-CoA hidrataz hem lösın katabolizması hem de 3-metilglutakonik asit anabolizmasında görevli bir enzimdir(65).

2.3.17. 3-Metilglutarik asit

3-hidroksi-3-metil glutarilCoAliyaz, losin yıkımının son safhasında oluşan, keton cisimlerin sentezlenmesinde fonksiyonu olan enzimdir (66).

2.3.18. Malik asit

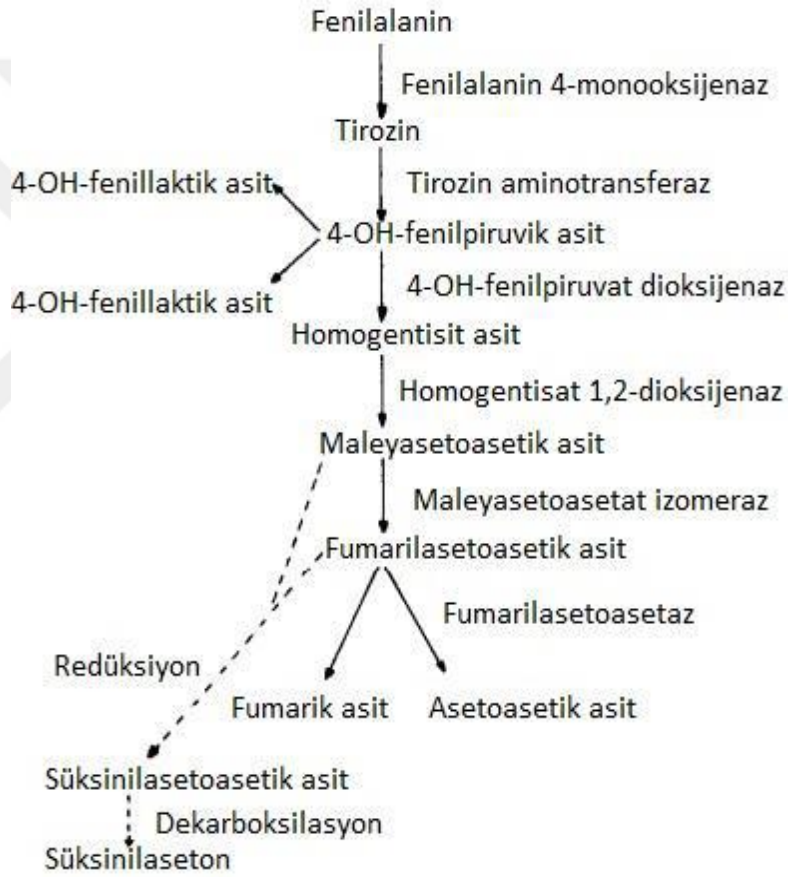
C₄H₆O₅ (Malik asit)'in iyonize hali, TCA (sitrik asit) döngüsünde malat şeklinde bulunur. İnsanlarda malat, besinle alınabildiği gibi TCA döngüsüyle de edinilebilmektedir. **Malik asit**, aynı zaman da meyve asiti olarak da bilinmekte olup, birçok meyve ile sebze dolgal olarak bulunmaktadır. Aynı zamanda mitokondrielerde ki krebs döngüsü için mühim olan basamaktır. NADH Mitokondriye geçemediğinden, MDH (MalatDehidrogenaz) enizimiyle TCA'DA üretilen NADH(nikotinamidadeninükleotid) ve FADH₂ (flavinadeninedinükleotid), elektronlarını ETS (elektron transport zincirine) verir. (Şekil-17) (45).



Şekil 2.17.Malat mekiği ile sitozolden mitokondriye ekivalan taşınması. (1) ketoglutarattransporter (2) glutamat/aspartattransporter (45).

2.3.19. Süksinil Aseton Oksim

C₇H₁₀O₇(Süksinil aseton) tirozin metabolizması ürünüdür.Tirozinemi;kalıtsal protein metabolizma hastalığıdır, idrarda yüksek seviyede görülür. Fumarilasetoasetikasithidroksilaz enzim eksikliğinden dolayı, beslenmeyle alınan tirozin aminoasidi karaciğerde metabolizeolamayarak dokularda birikir. Merkezi sinir sistemi karaciğer, böbrek sorunlarıyla beraber gelişme geriliği v.b sorunlar meydana gelmektedir (67).

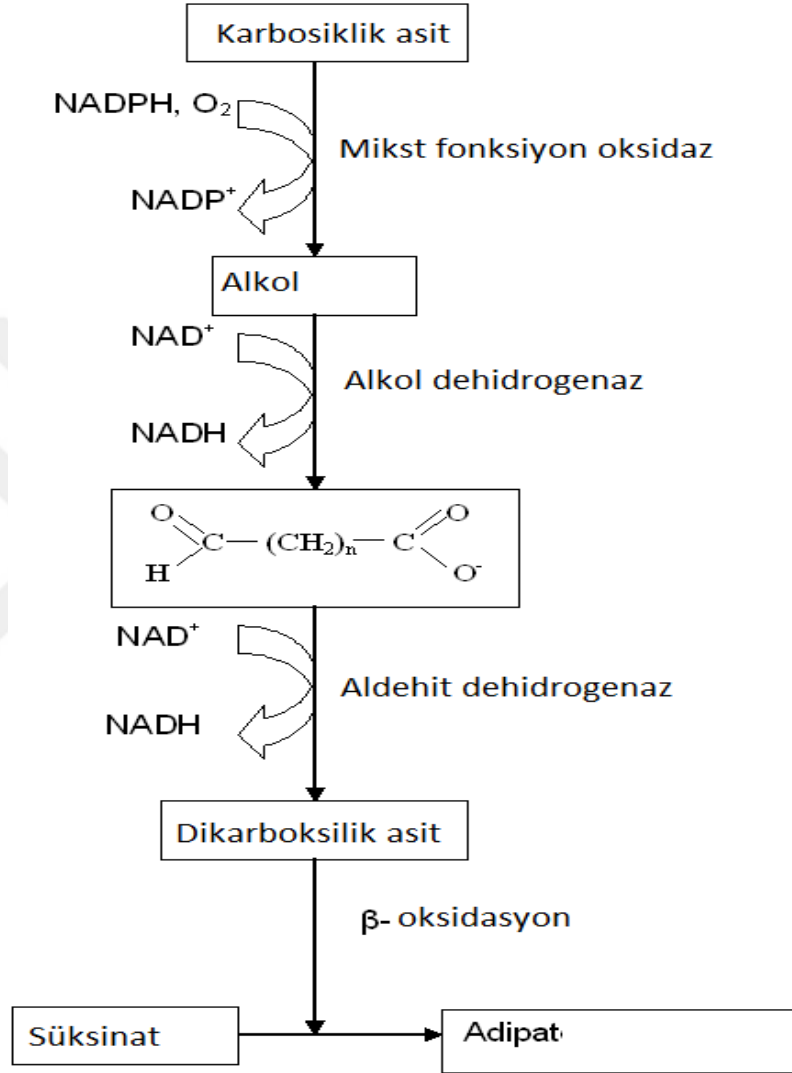


Şekil 2.18.Fenilalanin ve tirozin katabolizması ile süksinilaseton üretimi (67).

2.3.20. Adipik Asit

C₆H₁₀O₄ (Adipik asit) kimyasal formüle sahip düz zincirli dikarboksilik asittir. Yağasitlerinin yıkımı sonucunda omega oksidasyonundan oluşur. (Şekil-19) (53).

Karnitin noksanlığının olduğu durumlarda, yağ asitleri omega oksidasyonu sonucu dikarboksilikasite dönüşür. Sonradanda beta oksidasyonuyla süksinat ile adipik asit meydana gelir (43).



Şekil 2.19. Yağ asitlerinden omegaoksidasyonu ile adipat oluşumu (68).

İdrardaki değerlere bakıldığında;

adipik asit>sebasik asit ise ketoz veya β-oksidasyon sorunu,

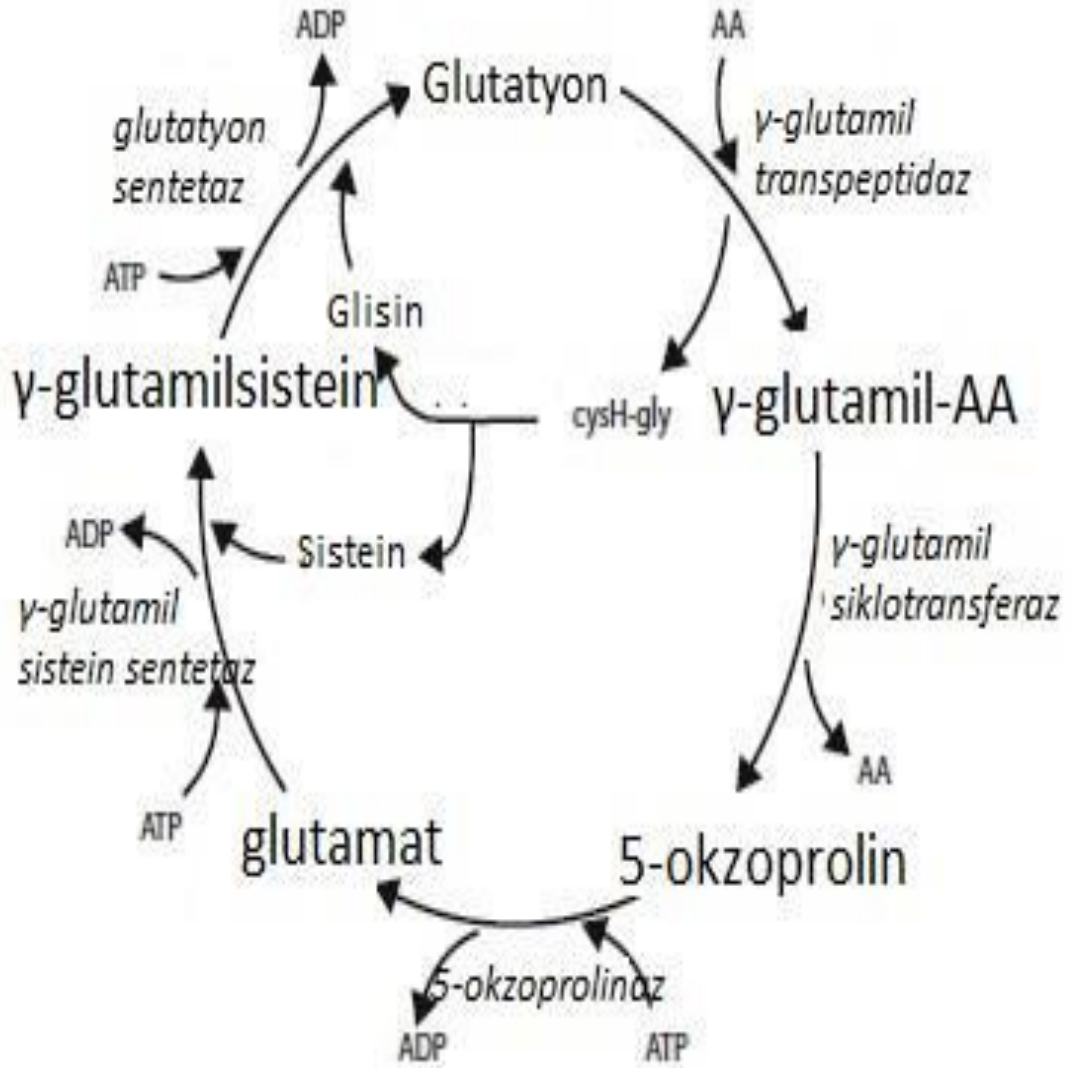
sebasik asit>adipik asit ise MCFAS (orta zincirli yağ asit supplement) kullanımı

düşünülür (53).

2.3.21. 5-Okzoprolin

$C_5H_7NO_3$ piroglutamik asit (5-okzoprolin) a. atüredir. Glutasyon döngüsünde görevlidir. (Şekil 2.20) (53). Glutasyon, glutamat, sistein ve glisin içeren bir tripeptittir. Serbest radikallerin yakalanması, DNA biyosentezi ve protein ve amino asit transportunda görevli bir antioksidandır. GS (Glutatyonsentetaz) eksikliğinde vücutta 5-okzoprolin düzeyi artar. Yalnızca, bunada ağır vakalarda rastlanır (69).

Yine 5-okzoprolinaz noksanlığında 5-okzoprolinin glutamata çevirilemediğinden dolayı 5-okzoprolin artar (70).

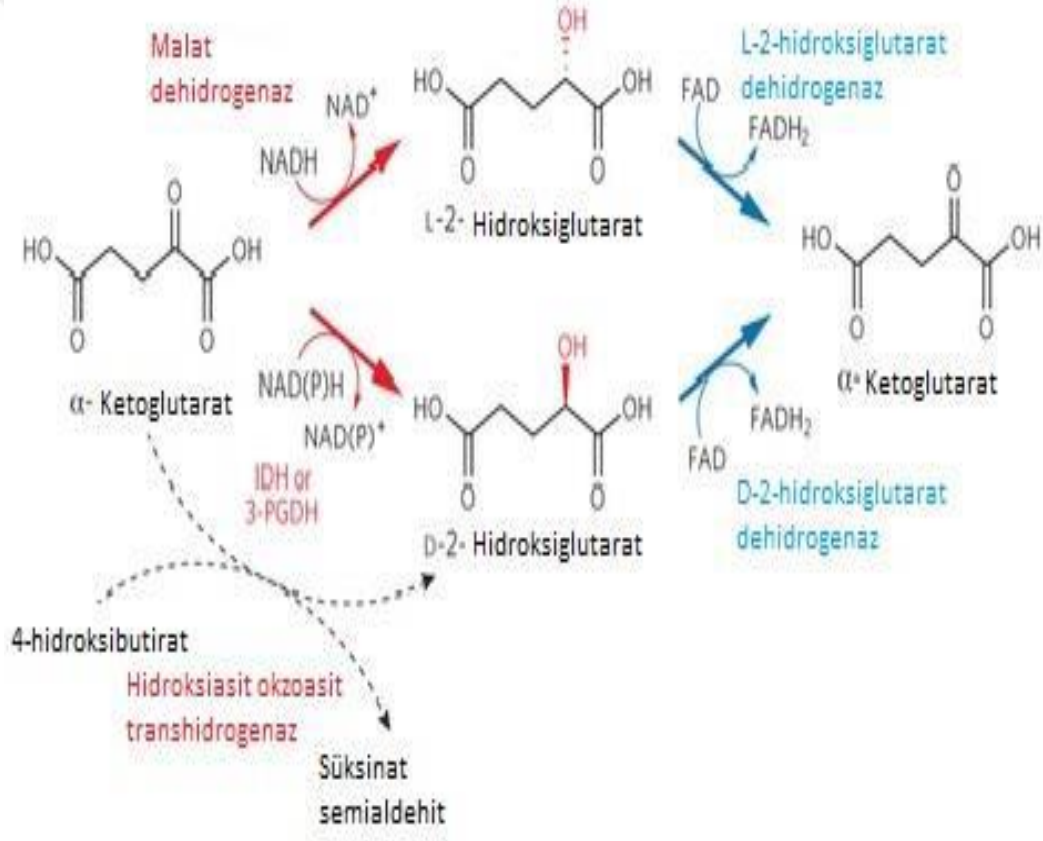


Şekil 2.20. Glutasyon döngüsü (53).

2.3.22. 2-Hidroksiglutarik asit

2-hidroksiglutarik asit (C₅H₈O₅) bir alfa hidroksi asittir. L-2 HGA(L-2-hidroksiglutarik asidüri) ile D-2 DGA (D-2-hidroksiglutarik asidüri) rahatsızlıklarında idrarda yüksek seviyeye çıkmıştır. Mitokondriyel flavin adenin dinükleotid (FAD) bağımlı 2-hidroksiglutarat dehidrogenaz noksanlığında L-2 HGA'in arttığı görülmektedir. (Şekil-21) (71).

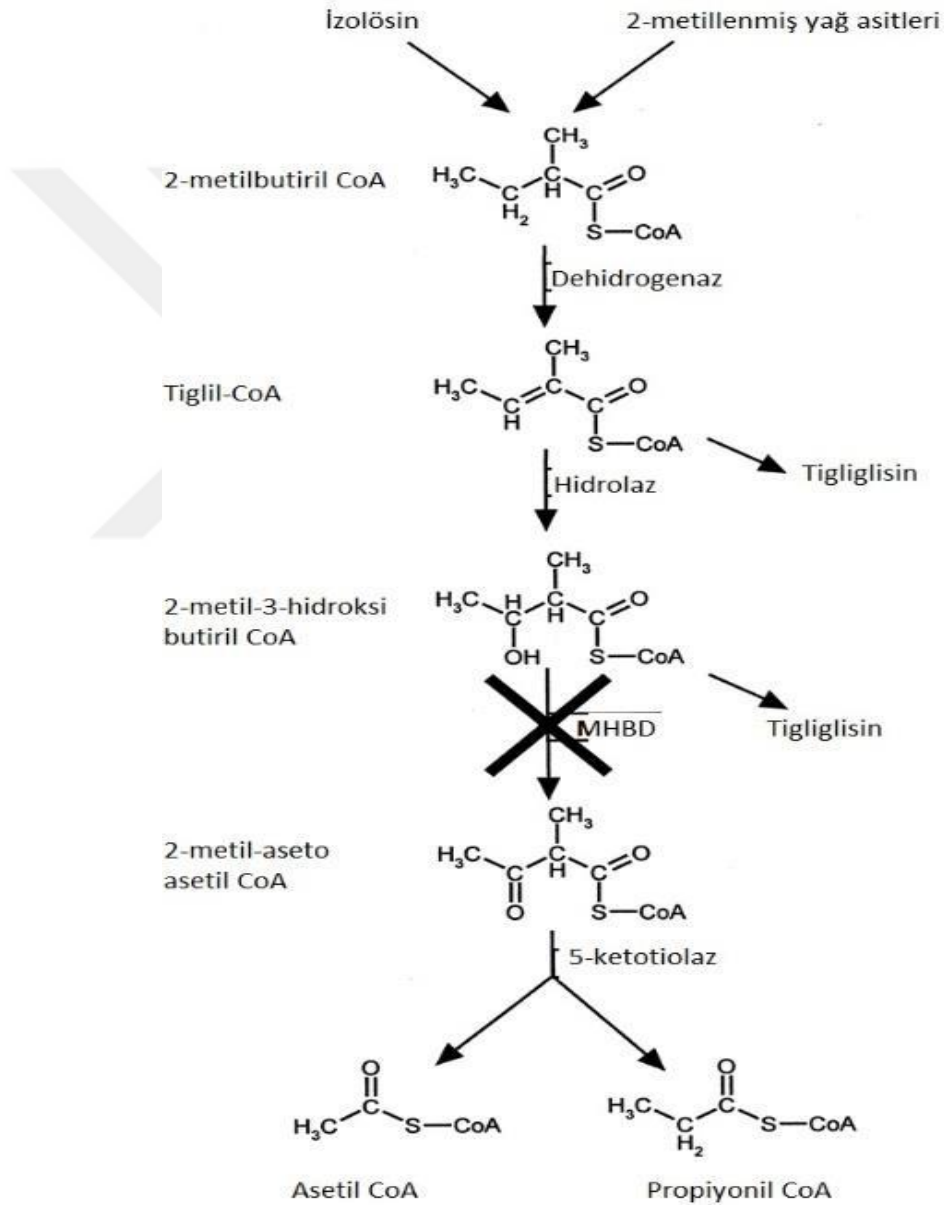
D-2 DGA rahatsızlığı olan insanların yüzde ellisinde D-hidroksi glutaratdehidrogenaz bulunurken geriye kalan kısmında ise mitokondriyal izositrat dehidrogenaz 2 noksanlığına rastlanmıştır. (72).



Şekil 2.21. NADPH bağımlı redüksiyon ile L-2-hidroksiglutarat ve D-2-hidroksiglutarat oluşumu. IDH(izositratdehidrogenaz), 3-PGDH(3-fosfogliserat dehidrogenaz) (71).

2.3.23. Tiglilisin

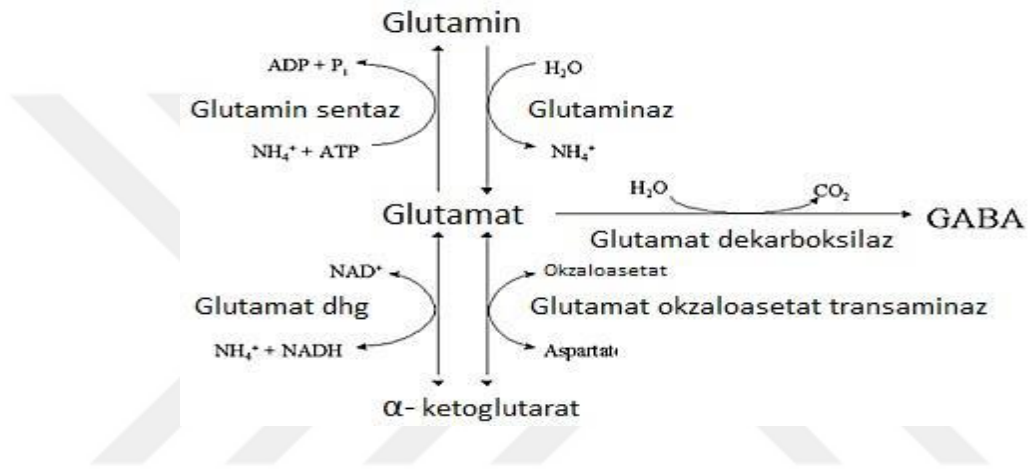
C₇H₁₁NO₃ (Tiglilisin) izolösin ve metillenmiş yağ asitlerinin yıkımı sonucunda oluşan, açığışındır (Şekil-22).MHBD (2-metil-3-hidroksibütiril-CoAdehidrogenaz) noksanlığındaizolösinyıkımının engellenmesi sebebiyle idrardatiglilisin miktarı artmaktadır (58).



Şekil 2.22.İzolösin ve metillenmiş yağ asitlerinin yıkımı. MHBD (2-metil-3-hidroksibütiril CoAdehidrogenaz) (58).

2.3.24. 2-Okzoglutarik Asitoksim

C5H6O5, alfa ketoglutarik asit (2-okzoglutarik asit), glutarikasitin keton türevidir. Negatif yüklü α -ketoglutaratsiklik asit döngüsünde yer alır. Veizositrattanizositratdehidrogenaz ile çevrilir. Ayrıca GDH (glutamatdehidrogenaz) vasıtasıyla glutamattan'da sentezlenebilmektedir (Şekil-23) (45).



Şekil 2.23. 2-okzoglutarat (α -ketoglutarat) ile glutamat ilişkisi (73).

Glutaminesansiyel olmayan bir a.a'tir. Fakat katabolik olaylarla stres durumlarında gastrointestinal hücreler, lökosit ve makrofajlara çısından gerekli bir diyet kaynağıdır (80).

2.3.25. Homogentisik Asit

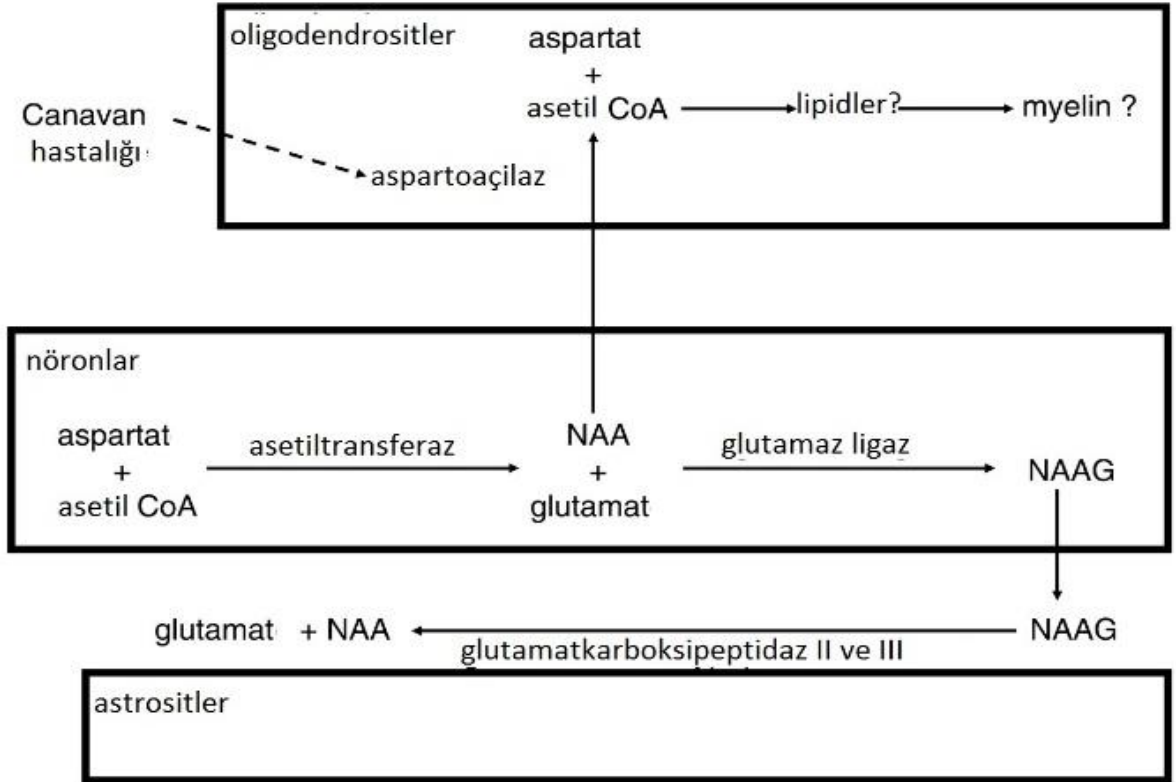
C8H8O4 (Homogentisik asit) fenilalanin ve tirozin metabolizmasının sonucunda oluşan bir üründür. HGO (Homogentisatoksijenaz) noksanlığında homogentisik asit ve oksidi olan alkaptonid rarda yüksek seviyede bulunur (74).

2.3.26. Hegzanoilglisin

C₈H₁₅NO₃ (Hegzanoilglisin) yağ asitlerinin metabolizmasından oluşur. MCAD(Orta zincirli açıl-CoAdehidrogenaz)noksanlığı olan kişilerin idrarlarında yüksek seviyede bulunur (53).

2.3.27. N-asetilaspartik asit

C₆H₉NO₅, NAA (N-asetilaspartik asit) çoğunlukla beyinde ve nöronlarda yer alan moleküldür. aspartoasilaz enzimi beyinde N-asetilaspartatın parçalanmasını sağlayan enzimdir. Bu enzimin bir takım mutasyonlara uğraması sonucu beyinde NAA miktarı arttığından canavan hastalığı denen bir tür hastalık meydana gelmektedir. (Şekil-24) (75).



Şekil 2.24. Nöronlarda NAA oluşumu ve Canavan hastalığı patogenezi (76).

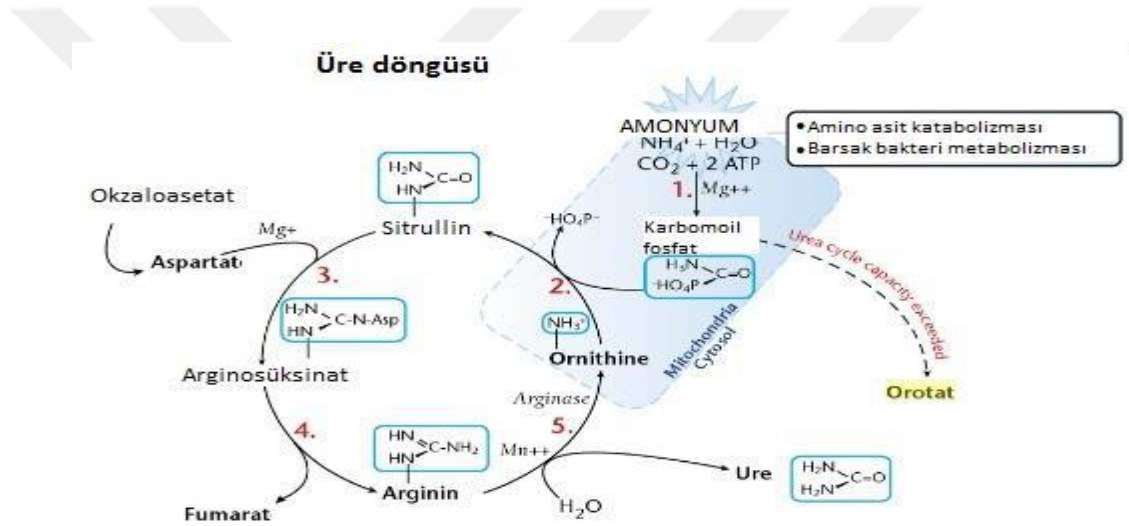
2.3.28. Suberik asit

Suberik asit (C₈H₁₄O₄) MCACoA (orta zincirli açıl-CoAkarboksilaz)noksanlığı durumunda idrarda yüksek seviyede bulunmaktadır. 18

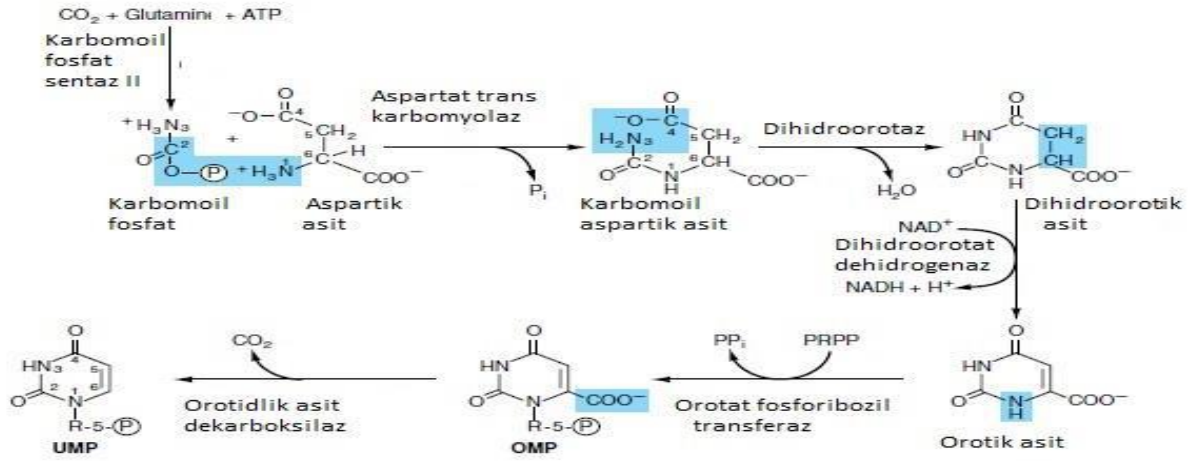
karbonlu oleik asitinkatabolizmasında oluşur. ACoaC (Açil-CoAkarboksilaz) enziminin fonksiyonlarında FAD gerekmektedir (53).

2.3.29. Orotik asit

C₅H₄N₂O₄ (Orotik asit), vücutta pirimidinlerin üretimi sırasında meydana gelen bir ara metabolittir. OFRT (orotatfosforiboziltransferaz) enziminde oluşabilecek sorun neticesinde idrarda orotik asit yüksek seviyede görülür (şekil-25) (43).



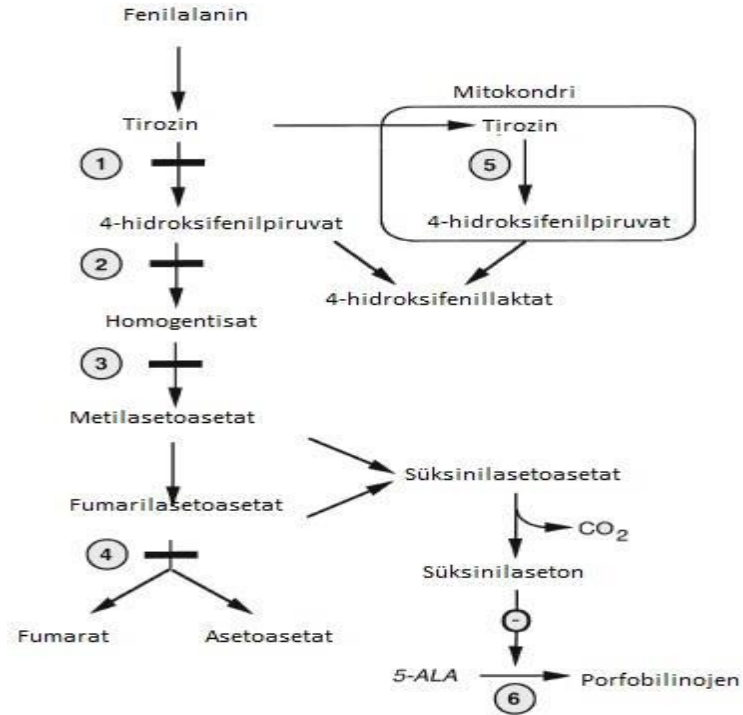
Şekil 2.25. Üre siklusu. (1) Karbomoil fosfat sentaz I (2) ornitintranskarbamyolaz (3) argininosüksinat sentaz (4) argininosüksinatliyaz (5) arjinaz (43).



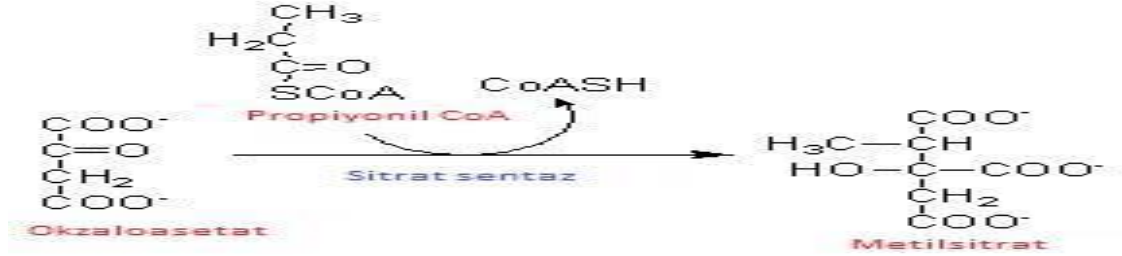
Şekil 2.26. Pirimidin sentezi sırasında orotik asit oluşumu (45).

2.3.30. 2-Metilsitrik Asit

C7H10O7 (2-metilsitrik asit), propiyonil-CoA ve okzalatin, sitratsentaz enzimlerinin reaksiyona girmesiyle oluşmaktadır (Şekil 2.27) (53). Vit-B12 eksikliği olan kişilerin de idrarında C7H10O7 (2-metilsitrik asit)'in yüksek olduğu görülmüştür (77).



Şekil 2.27. Fenilalanin ve tirozin metabolizması. (1) tirozinaminotransferaz (2) 4-hidroksifenilpiruvat dioksijenaz (3) homogentisatdioksijenaz (4) fumarilasetoasetaz (5) aspartataminotransferaz (6) 5-aminolevulinik asit (5-ALA) dehidrataz. Enzim defektleri barlar ile gösterilmiştir (53).



Şekil 2.28.Metilsitrat oluşumu (78).

2.3.31. Sebasik Asit

C₁₀H₁₈O₄ (Sebasik asit) MA-CoA DH (multiplaçil-CoAdehidrogenaz) ile glutarikasidüri Tip 2 hastaların idrardaki seviyeleri yüksektir (79,80).OGTT (Oral glukoz tolerans testi) yaptırılan kişilerin plazmasındaki sebasat değerleri test'ten sonra azaldığı tespit edilmiştir (59).

2.4. Genomik, Proteomik Ve Metabolomik

Genetiğin (Kalıtımın) esas yapı taşı olan gen, genom dizisi üzerinde belirli bir yeri olan, yazılımı (transkripsiyonu) yapılabilen, regülatör yada işlevsel kısımları bulunan bölgedir (81).

Genom; bir organizmanın içerdiği genetik bilgilerin hepsi demektir. Kelime olarak Genom ilk defa 1920 senesinde Alman bilim adamı Hans Winkler tarafından kullanılmıştır (82). Fakat genom ifadesi 1986 yılına kadar kullanılmamıştır. Daha sonraları genetikçi Thomas Roderick DNA dizileme (sekanslanma)'sını ifade etmek amacıyla önermiştir (83).

Bir canlıdaki tüm genlerin ayrı ayrı tanımlanmasına, Genlerin birbirleri ve çevre ile etkileşimlerinin araştırılmasına, Genlerin zaman-yer-miktar olarak üretim ve aktivasyonlarının incelenmesine yardımcı olur (83).

Genomik; Bir organizmadaki genlerin ayrı ayrı tanımlanması, genlerin, kendi aralarında ve çevreyle olan etkileşimlerini, mekan-zaman-miktar bakımından üretim ile aktivasyonlarının incelenmesi sonucunda ortaya çıkan bilgilerin bilişim teknolojileri kullanılarak saklanmasıdır (84).

Proteomik ise Canlıda bulunan tüm proteinlerin tanımlanması işlemidir (85,86).

Proteomik, farklı ortamlardaki hücre- doku yada vücut sıvısında bulunan proteinlerin nicel analizidir. Karşılaştırmalı proteomik ise normal-hastalık, yaşlı-geç gibi farklı durumlardaki proteinin karşılaştırılmasıdır (87).

2.4.1 Metabolomik

2003 senesinde sonlanan İGP (İnsan Genom Projesi) bir organizmada yaklaşık olarak 30.000 gen olduğunu, bu genlerin ise bütün bireylerde % 99.9'unun benzer, % 0.1'lik kısmının ise farklı olduğunu bildirmiştir (40).%0.1 farklılığın ise niçin kimi bireylerde hastalık riski oluşturduğu, hastalıkların derecesinin ise niçin bireyler arasında farklı olduğunu, niçin kimi bireylerin ilaçlara verdiği cevabın izahı açısından önem arz etmektedir.Genlerin tanımlanmasıyla bilinmeyenler çözümlenmemiş, sonra da genlerin işlevleri-proteomik-transkriptomik çalışmaları da tamamlanmıştır. Çalışmalar sonucunda da klinik fenotipleri izahı için yeterli olmamıştır. Nedeni ise, klinik fenotip ile ilgili bilgiler hücre içerisindeki metabolit'lerde gizlidir (41).

Metabolit; organizmalarda birçok tepkime sonucunda meydana gelen vücutta depolanmadan farklı bileşikleri oluşturan kimyasal bileşiklerdir.

Metabolomik; belirli bir sürede, hücre ile vücut sıvısında, lipid-k.hidratlar-vitaminler-hormonlar gibi hücre bileşenlerinden meydana gelen küçük boyuttaki metabolitlerin ileri teknolojiler sayesinde tespit edilerek, nicelik olarak tanımlanmasıdır. Küçük moleküllü metabolitler,(ilaçlar-organikasitler-nükleozidler-oligonükleotidler-peptitler-şekerler-nükleozidler-keetonlar, aldehitler-aminler-amino asitler-lipitler-steroitlervb) örnek olarak sayılabilir. MA(molekül ağırlıkları) 1.500 Dalton'dan küçüktür (94).

Genomik ve proteomik “ne olabileceğinin” metabolomik ise “gerçekte ne olduğunun” bilgisini verir. Bundan dolayı, bütün metabolitlerin detayları ile miktarlarının belirlenmesi (metabolomik) hastalık teşhisi yada toksik ajanların fenotip üzerindeki etkilerini araştırmada uygun olan yöntemdir (88).

İnsandaki metabolitler sayı açısından net bilinmesede, tahminlerin 2 ile 20.000 arasında olduğudur. Metabolik testler, vücut sıvıları (Serum, Bos, plazma, idrar ve tükürük v.b.)'yla çalışılmaktadır. Metabolomik, toksikoloji, organ naklinin izlenmesi, YDT (yenidoğan takibi), klinik kimya, mikrobiyoloji, farmakoloji, gibi değişik alanlarda, hızla artarak kullanılmaktadır (41).

Hedef bileşik analizleri ve metabolik profilleri için;

GS (Gaz Kromatografisi)

HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)

NMR (Nükleer Magnetik Rezonans) ile kromatografik ayırma teknikleri kullanılmaktadır.

Metabolomik parmakizi'nde, örnek sayıları arttığında, başka ayırma yöntemi kullanılmadan ham olarak,

- NMR
- MS (Kütle spektrometrisi)
- FT-IR (Fourier transform infrared) Spektroskopisi

Parmakizi teknikleri, farklı analiz yöntemleriyle kombine edilebilmektedir (95). İnsan genom projesiyle birlikte hedeflenen amaçlardan bazıları, işlenen cinayetler sonrasında, olay yerinde, her bireyin kendine özgü olan DNA hücrelerini toplayarak suçlunun tespit edilmesi. velayet olaylarının çözümlenmesi açısından önemli olacaktır.

2.5. LC/MS/MS (Kütle Spektrometresi)

LC/MS, HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) ve MS (Kütle Spektrometresi) ünitelerinin birlikte çalıştırılarak yapı aydınlatması ve miktar tayininde kullanılan bir cihazdır.

2.5.1. HPLC Ünitesi

Pompa, autosampler ve dedektör olmak üzere başlıca üç kısımdan oluşmaktadır.

a. LC Pompası: Pistonların ileri geri hareketleriyle mobil fazların istenilen oranlarda pompalanmasını sağlar.

b. Autosampler: Numunelerin otomatik olarak enjekte edilmesini sağlar. Kolon fırınının ve örnek sıcaklığının kontrolü mümkündür.

c. PDA Dedektör: Ultraviyole ve görünür alanda çalışır. Dalga boyu aralığı 190-800 nm'dir.

2.5.2. Kütle Spektrometresi

İyon kaynağı, kütle analizörü ve iyon dedektör sistemi olmak üzere başlıca üç kısımda incelenebilir.

a. Ion Max API Kaynağı: Analiz yapılacak numuneye bağlı olarak ESI (Electrospray İyonizasyon) veya APCI (Atmosferik Basınç İyonizasyon Kaynağı) iyonizasyon teknikleri kullanılabilir. Genel olarak aminler, peptidler ve proteinler gibi polar bileşikler ESI tekniği ile steroidler gibi apolar bileşikler ise APCI tekniği ile analiz edilir.

b. Kütle Analizörü: İyon kaynağından gelen iyonlar, kütle analizöründe değişen elektrik alana tabi tutularak m/z (kütle/yük) oranlarına göre ayrılırlar. Cihazda Ion-Trap kütle analizörü mevcuttur.

c. MS İyon Dedektör Sistemi: MS dedektörü yüksek duyarlılığa sahip, pozitif ve negatif iyon modlarında çalışan bir iyon dedektör sistemidir.

2.5.3. Çalışma Prensibi

LC-MS/MS tekniğinde UPLC cihazı sayesinde fizikokimyasal özelliklerine göre ayrılan örnek moleküller kütle dedektorü ile analiz edilmektedir. Kütle spektrometreleri molekülleri iyonizasyon işlemi ile uyararak yüklü iyonize moleküller haline dönüştürürler. Birinci kuadrupol filtrede m/z (kütle/yük) oranına göre ayrılan moleküller collision gaz adı verilen yüksek saflıkta özel bir gaz ile (Azot) parçalanmaya tabi tutulmaktadır. İkinci kuadrupol filtrede parçalanma sonucu oluşan iyonların (daughter veya product ion) üzerinden teşhis ve miktar tayini yapılmaktadır.

Örnekte bulunan bileşenlerin miktarı, yapısı ve molekül ağırlığı hakkında bilgi verir. Küçük bileşiklerden büyük proteinlerin tayinine kadar, polar iyonik, termal kararsız ve uçucu olmayan bileşiklerin analizleri yüksek hassasiyetle ve hızlı bir şekilde yapılabilmektedir. LC- MS/MS çok düşük konsantrasyonlarda (ng/pg) maddenin miktar tayininin yapılabilmesini mümkün kılmaktadır. Ayrıca sonuçların doğrulanmasına da gerek duyulmaktadır.

2.5.4. Uygulama Alanları

- **Gıda Uygulamaları;** Pestisitler, Mycotoxinler ve Zearalenone, SudanBoyalari, Veteriner Antibiyotikleri,Chloramphenicol,Nitrofura,Metabolitleri,Biotoxinler, Azoboyarmaddeler...
- _ **Çevre Uygulamaları:** Suda Pestisitler, Akrilamid, İlaç kalıntıları...
- _ **Tekstil Uygulamaları:** Alerjenik ve Kanserojenik Boyar maddeler...
- **Adli Toksikoloji Uygulamaları;** Uyusturucular, Doping maddeler,Patlayıcılar, Zehirli Maddeler...
- _ **Klinik Uygulamalar;** Yeni Dogan Taraması, Immunosuprasantlar, VitaminD, Metil Malonic acid, Aminoasitler,Organik asitler...

3.GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Tablo 3.1.Çalışmada kullanılan kit bileşenleri

Sıra No	Bileşenler	Miktar	Adet
1	Mobil Faz A	2500 ml	1
2	Mobil Faz B	600 rnL	1
3	Reaktif-1	500 mL	1
4	Jasem-Kalibratör seti- 2 Panel	6x1x1 ml-	1
5	Jasem-Liyofilize-Kontrol Standard	10 rnL	1
6	Jasem- İç standart karışımı	20 mL	1
7	Organic Asit-HPLC Sütun		1

Çalışmalarda Jasem organik asit kiti kullanıldı.Geniş bileşik sınıfı organik asitler, aminoasit metabolizması gibi primer metabolik yollarda, yağ asidi oksidasyonu,

lipit metabolizması, Krebs döngüsü vb. fizyolojik ara maddeler olarak ortaya çıkar. Organik asitler, bu yolların bir veya daha fazlasının kilitlendiği, organik asitlerin anormal birikimini sağlayan kalıtsal bozukluklardır. Kronik hastalıkları ve nörolojik bozuklukları olan birçok kişi, plazmalarında sıklıkla birkaç anormal organik asit salgılar. Organik asit analizleri genel olarak amino asit ve organik asit metabolizması bu bozukluklarının erken tespiti veya izlenmesinde kullanılır.

Jasem yöntemi plazmadaki 54 plazma organik asitinin, LC-MS / MS ile basit numune hazırlama prosedürü ile analizini sağlar. Panel-I metodu kullanılarak 28 organik asit, gradyan elüsyonu ile 12 dakikada analiz edildi. Aynı şekilde, Panel-2 yöntemi kullanılarak 26 organik asit, gradyan elüsyonu ile 12 dakikada analiz edildi.

3.2. Analitik Prosedür

3.2.1. Organik Asit Kalibratör Setinin Hazırlanması (Seviye 1-6)

Numune hazırlama prosedürüne göre Panel-1 ve 2 için Jasem standart stok çözeltilerinden kalibrasyon standartlarını hazırlandı. Kalibrasyon partisini hazırlarken "Jasem Calibrator Set" veri sayfasında yazılı kalibratörlerin konsantrasyon değerlerine dikkat edildi.

Depolama ve stabilite: Calibratör setleri hazırlandıktan sonra -80°C' de muhafaza edildi.(tekrarlanan donma ve çözülme durumlarından kaçınıldı)

3.2.2. Organik Asitlerin Plazma Kontrol Standardının Hazırlanması

Sulandırma:Şişeye tam olarak 10.0 µl HPLC dereceli su ilave edilir ve 15 dakika boyunca karıştırılır.Tüm materyaller çözündüğünde, çözelti kullanıma hazırdır.Numune hazırlama prosedürüne göre kontrol standartları hazırlandı.

Depolama ve stabilite:Orijinal olarak kapalı ve karanlıkta -18°C 'nin altında depolanan liyofilize plazma kalibratörleri 36 ay boyunca stabildir.

3.3.3. Örnek Hazırlama

İlk olarak plazma örneği R-1 kullanılarak on kat seyreltilmelidir. Ancak kalibratörler ve kontroller seyreltme olmadan önce aşağıdaki adımlar izlenmelidir.

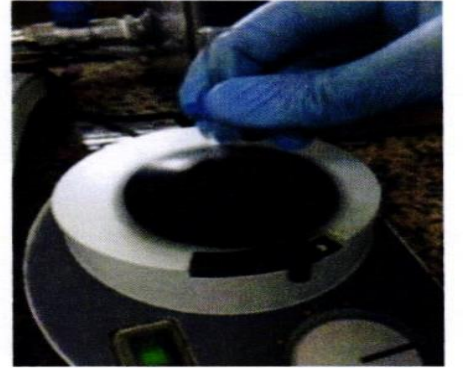
Bir cam santrifüj tüpüne 100 µl seyreltilmiş plazma örneğini (kalibratör / kontrol) pipetlendir ve 850 VIL Reagent-I eklenir, 5 saniye vortekslenir. 50 µl iç standart solüsyon eklenir ve ayrıca 5 saniye daha vortekslenir. Gerekirse, 2 mikron naylon filtre ve LC-MS / MS sistemine enjekte edilir.

Dilüsyon Faktörü: 10

3.3.4. Numune Hazırlama Adımları

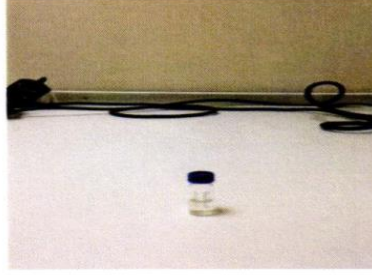
1. AŞAMA: Bir santrifüj tüpüne 100 µl plazma numunesini aktarın ve 900 µl R-1 ekleyin ve 5 saniye vorteksleyin (Dilüsyon Basamağı).

2. AŞAMA: Bir cam santrifüj tüpüne 100 µl seyreltilmiş plazma numunesi (kalibratör / kontrol) pipetleyin ve 850 µl Reagent-I ekleyin, 5 saniye vorteksleyin.



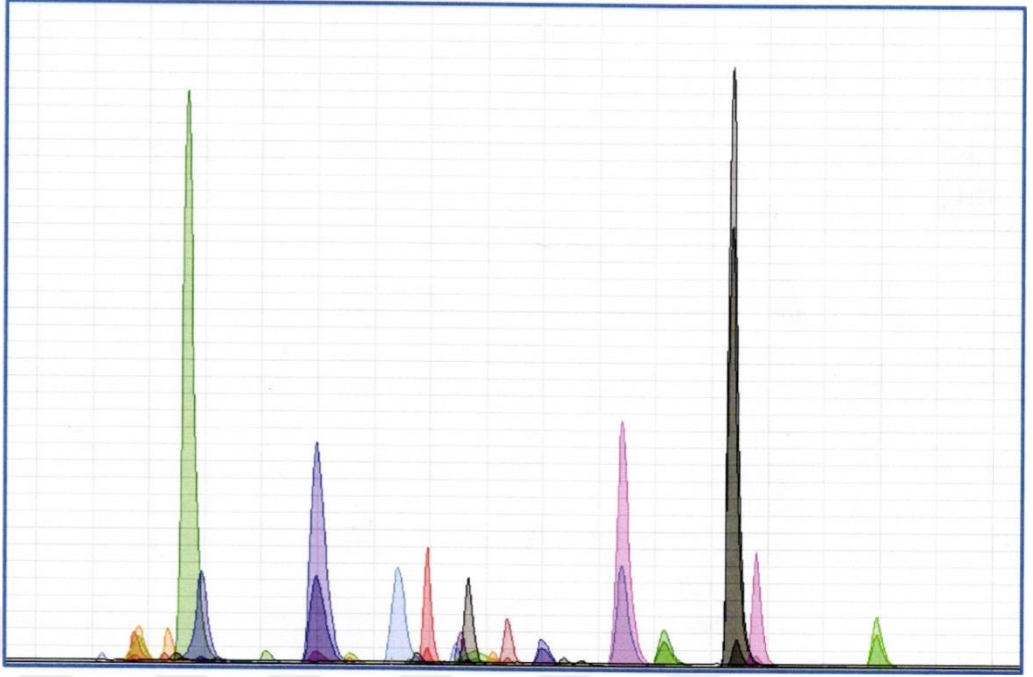
3. AŞAMA: 50 mikrolitre iç standart solüsyon eklenir ve ayrıca 5 saniye vortekslenir.

4. AŞAMA: Gerekirse, 2 mikron naylon filtreden filtre edin ve LC-MS / MS sistemine enjekte edilir.

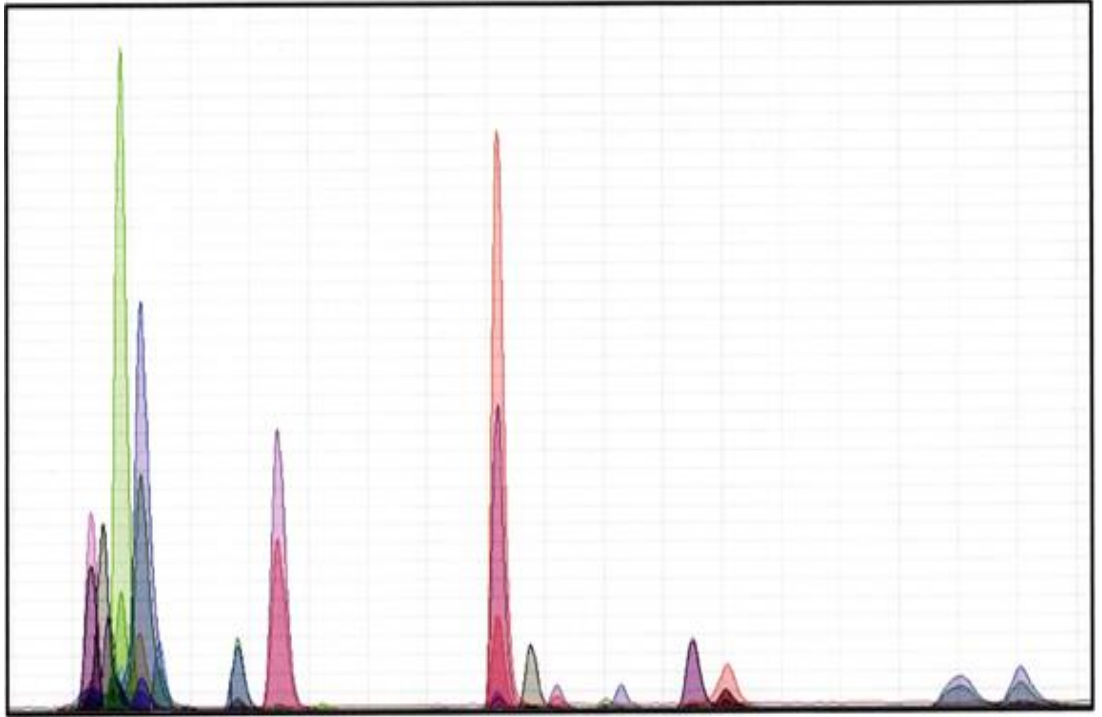


Tablo 3.2. Panel 1 ve 2'nin Örnek Kromatogramları

Glutaconik asid	128,9	84,9	10	60	2	7	Negative
D3-Metil malonik asid	120	76	10	70	4	7	Negative
D3-Metil malonik asid	120	58	10	70	26	7	Negative
3-oh-2Metil butanik asid	117	73	10	140	4	7	Negative
2-Hidroksi isovalerik asid	117	71	10	100	8	7	Negative
3-oh-Pentanoik asid	117	58,9	10	60	4	7	Negative
3-oh- 2Metil butanoik asid	117	54,9	10	140	24	7	Negative
2-Hidroksi isovalerik asid	117	44,9	10	100	8	7	Negative
3-oh-Pentanoik asid	117	40,9	10	60	24	7	Negative
Suksinik asid	116,9	98,9	10	80	8	7	Negative
Suksinik asid	116,9	72,9	10	80	8	7	Negative
Metil malonik asid	116,9	72,9	10	70	4	7	Negative
3-Hidroksiisovalerik asid	116,9	58,9	10	100	6	7	Negative
Metil malonik asid	116,9	55	10	70	26	7	Negative
Sodyum L-Laktat asid	92	45	10	50	6	7	Negative
3-Hidroksiipropanoik asid	89	58,9	10	110	4	7	Negative
Laktik asid	89	45	10	110	7	7	Negative
Laktik asid	89	43,1	10	110	7	7	Negative
Pirüvik asid	86,9	43	10	100	2	7	Negative
Sitrik asid	191	86,9	10	90	14	7	Negative



Şekil3.1.Panel-I'in toplam İyon kromatogramı



Şekil3.2.Panel-2'nin toplam iyon kromatogramı

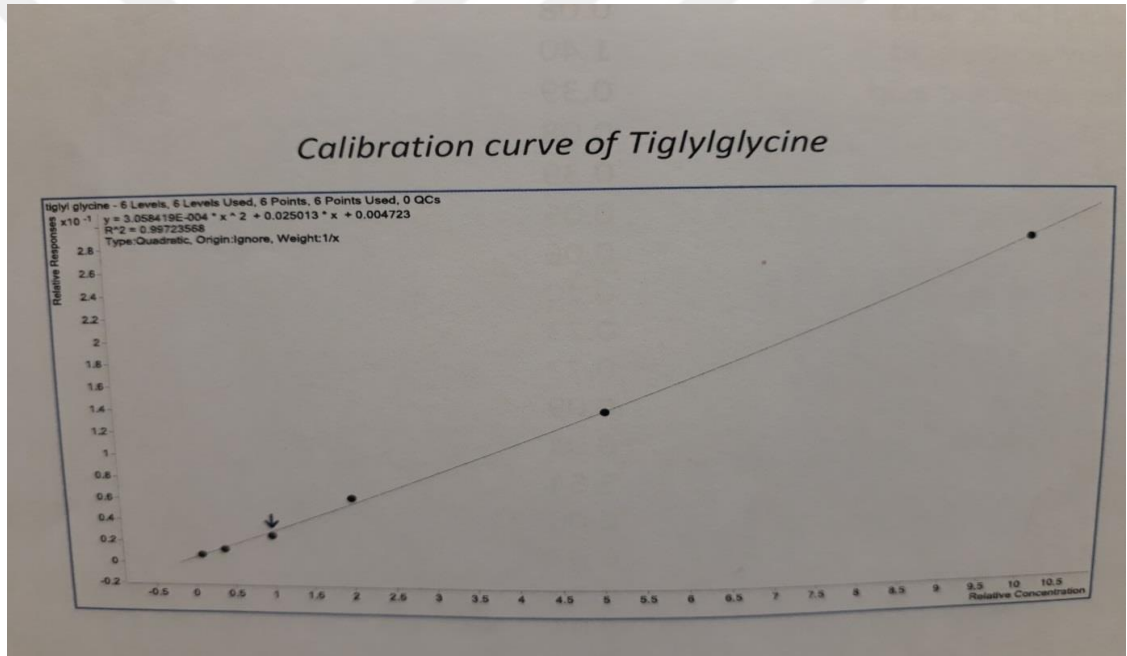
3.3. Yöntemperformansı

Tablo 3.3.CRL-4010, MCF7 ve MDA-MB-231 gruplarında karşılaştırılan Organik asit türleri

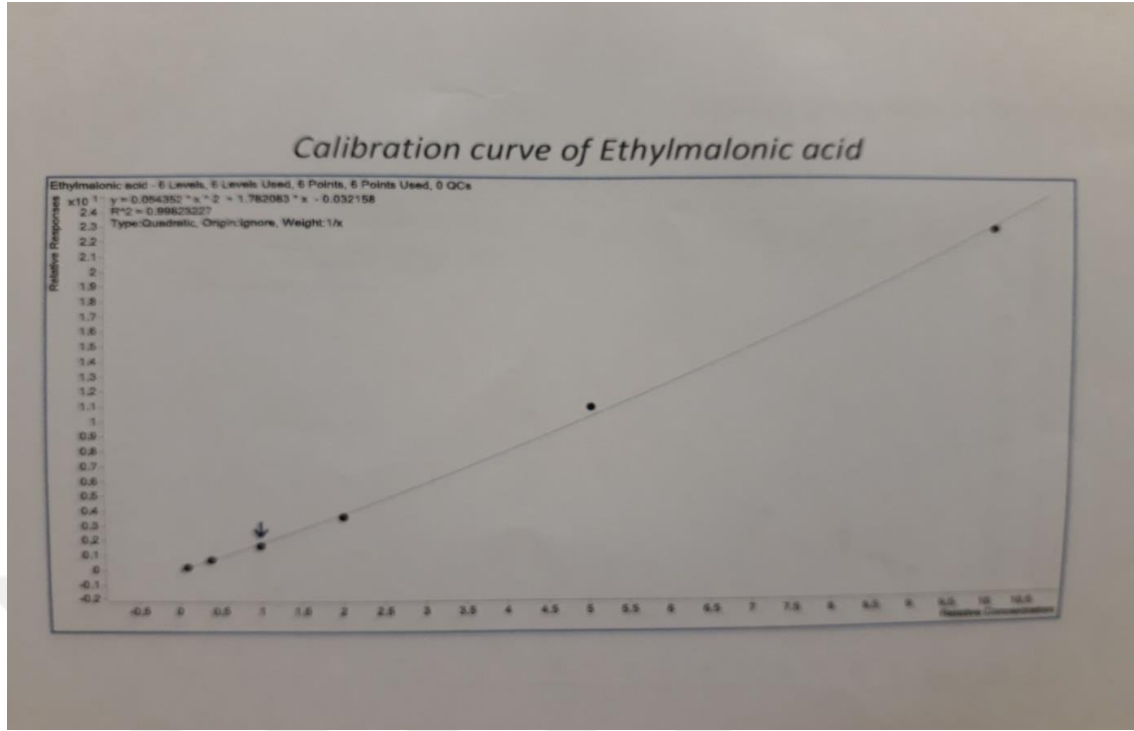
NO	BİLEŞİKLER	LOQ(ppm)	KURTARMA%	RDS%
1	2-Ketoglutarik asid	0.61	118	1.74
2	2-Metil sitrat	0.72	95.7	16.03
3	2-OH-3-Metilpentanoik asid	0.08	104.2	6.98
4	2-OH-Butirik asid	0.06	120.0	4.97
5	2-OH-Glutarik asid	0.37	106.6	1.97
6	2-OH-İsokaproik asid	0.07	108.4	5.66
7	2-OH-İsovalerik asid	0.07	90.7	2.59
8	2-OH-Fenilasetik asid	0.07	105.8	1.59
9	2-Oxoadipik asid	0.06	111.8	7.78
10	3-Meti -2-oxovalerik asid	0.13	91.7	6.13
11	3-Metilkrotonilglisin asid	0.10	96.9	2.99
12	3-Metilglutakonik asid	0.05	104.2	2.80
13	3-Metilglutarik asid	0.08	87.1	3.38
14	3-OH-2-Metilbutanoik asid	0.09	99.4	13.27
15	3-OH-3- Metilglutarik asid	0.18	82.5	1.85
16	3-OH-Butirik asid	0.26	113.5	8.84
17	3-OH-Glutarik asid	0.05	115.0	2.70
18	3-OH-Isobutrat	0.55	94.4	1.74
19	3-OH-İsovalerik asid	0.11	101.8	3.24
20	3-OH-Pentanoik asid	0.16	94.14	6.95
21	3-OH-Propanoik asid	1.49	88.4	4.55
22	3-Fenillaktik asid	0.06	115.9	6.34
23	4-Metil-2-oxovalerik asid	0.15	111.3	6.46
24	4-OH-Fenil laktik asid	0.08	77.3	10.34
25	4-OH-Fenil asetik asit	1.40	110.1	2.01
26	4-OH-Fenilpirüvik asid	0.39	115.8	6.03
27	Adipik asid	0.08	100.2	6.01
28	Sitrik asid	0.39	101.5	8.85
29	Etilmalonik asid	0.05	86.4	1.98
30	Fumarik asid	0.06	75.9	10.75
31	Glutakonik asid	0.20	101.8	11.58
32	Glutarik asid	0.23	93.6	2.45
33	Glikolik asid	0.72	101.6	11.90
34	Hegzanoilglisin asid	0.09	116.5	3.08
35	Homogentisik asid	0.04	78.7	3.19
36	Laktik asid	3.54	106.4	10.80
37	Malik asid	0.06	115.0	4.04
38	Malonik asid	0.07	115.0	6.15
39	Metilmalonik asid	0.34	87.6	3.27
40	N-(3-Fenil propanoil) glisin	0.05	106.4	2.03
41	N-asetilaspark asid	0.10	119.0	5.89
42	N-asteiltirosin	0.13	86.3	6.03
43	N-izovalerilglisin	0.07	96.0	2.61
44	Orotik asid	0.04	73.1	2.36
45	Oksoprolin asid	0.05	79.5	3.72

46	Fenilpirüvik asid	0.10	98.3	6.30
47	Proponoilglisin	0.18	100.3	3.51
48	Pirüvik asid	0.22	119.0	17.09
49	Sebakik asid	0.07	94.5	2.40
50	Suberik asid	0.08	94.9	1.99
51	Suberilglisin	0.13	111.8	3.14
52	Süksinik asid	0.10	92.9	3.25
53	Süksinilaseton	0.05	102.9	4.24
54	Tigililglisin asid	0.05	93.5	4.74

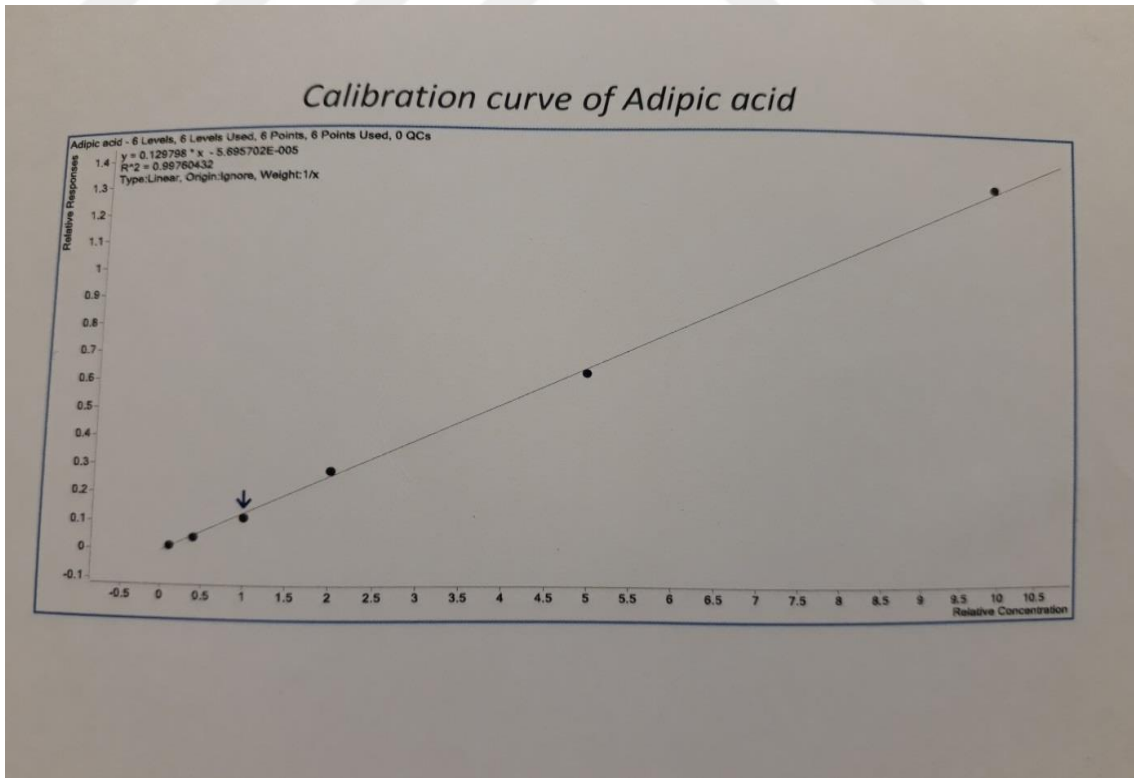
3.3.1.Yöntemin kalibrasyon eğrilerine örnekler



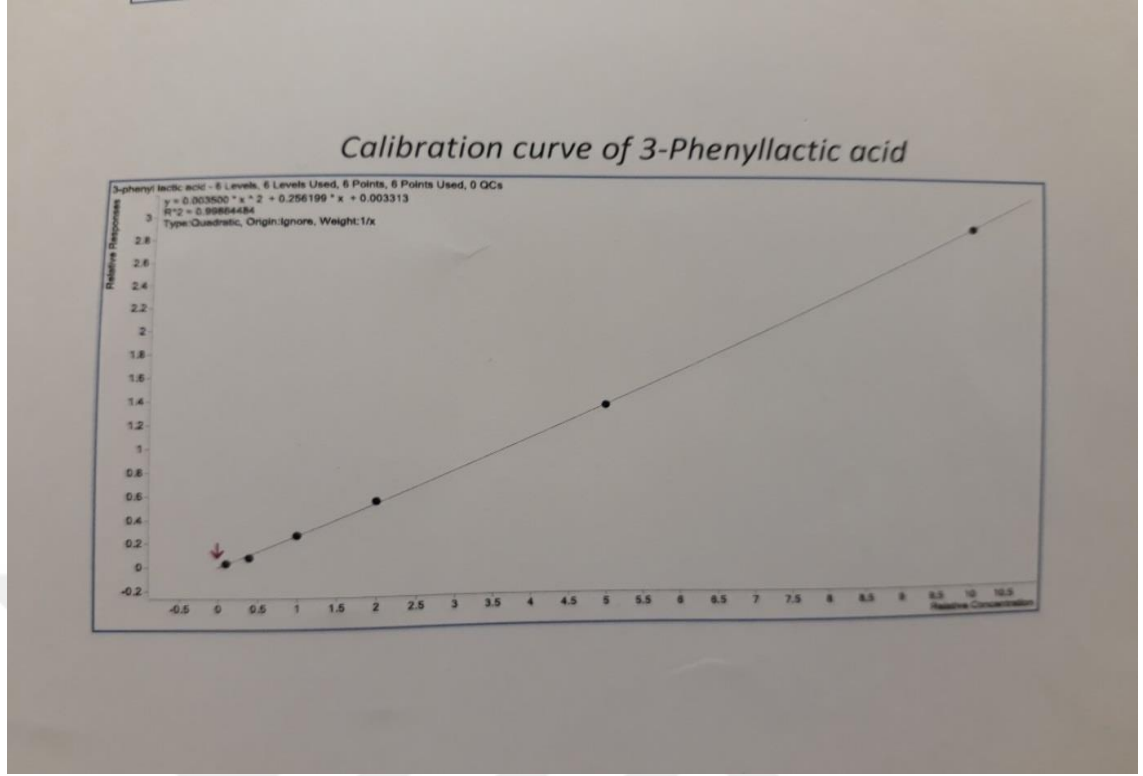
Şekil 3.3. Tiglylglycine'in kalibrasyon eğrisi



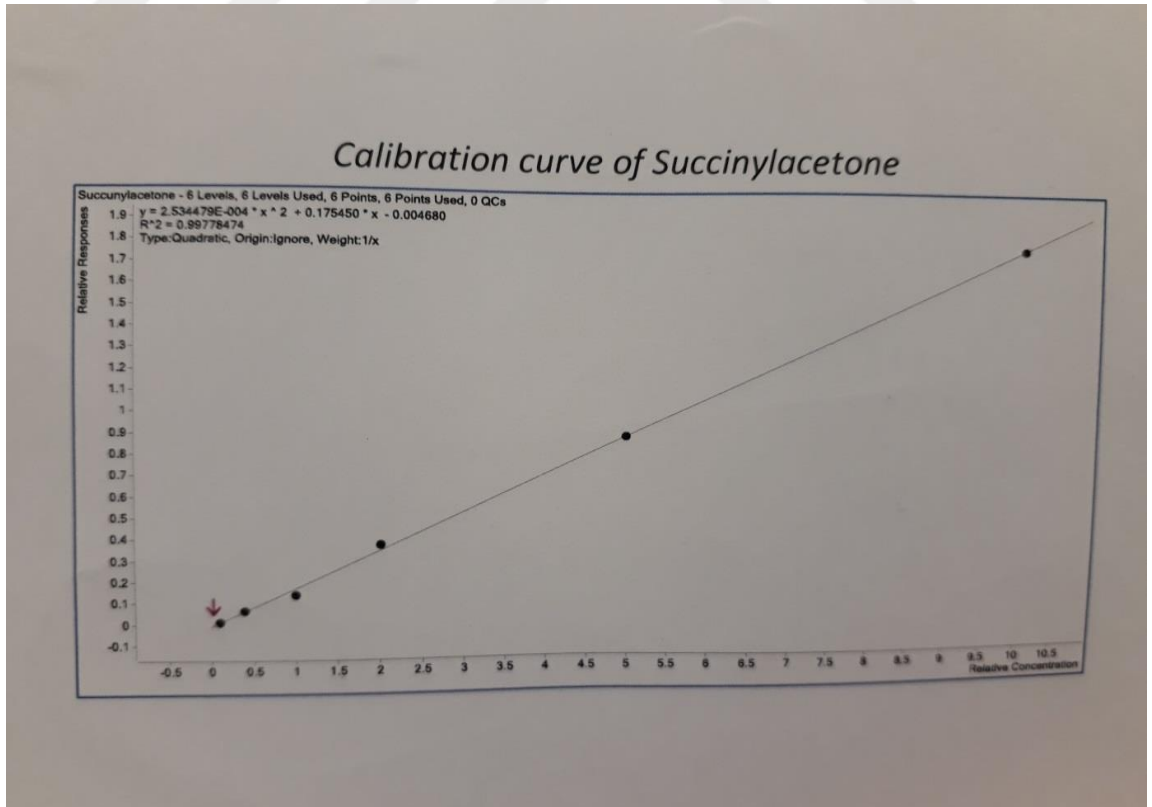
Şekil 3.4. Etilmalonik asit'in kalibrasyon eğrisi



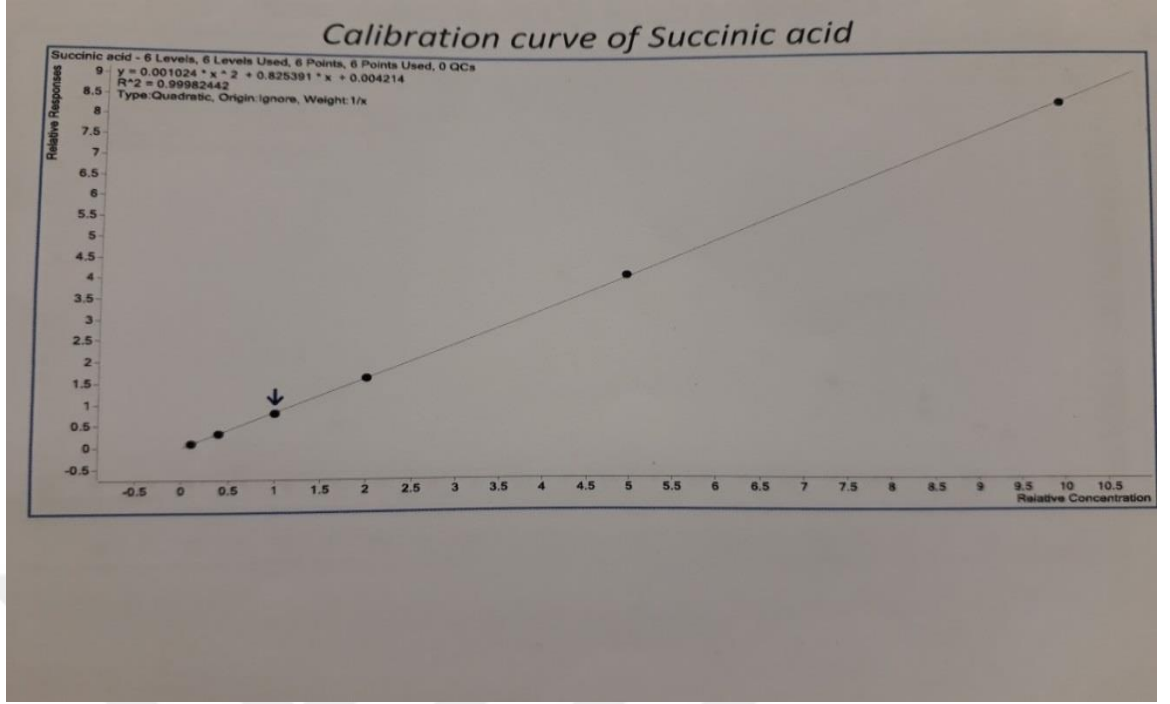
Şekil 3.5. Adipik asit'in kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.6. 3-Fenil laktik asit'in kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.7. Süksinil aseton'un kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.8. Süksinik asit'in kalibrasyon eğrisi

4. BULGULAR

4.1. İstatistiksel Yöntem

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro wilk testi ile test edilmiştir. Sayısal değişkenlerin 2 den fazla bağımsız grupta karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren özellikler için Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve LSD çoklu karşılaştırma testleri, normal dağılmayan özellikler için ise Kruskal Wallis testi ve All pairwise çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistik olarak sayısal değişkenler için ortalama±standart sapma, kategorik değişkenler için ise sayı ve % değerleri verilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS Windows version 24.0 paket programı kullanılmış ve P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

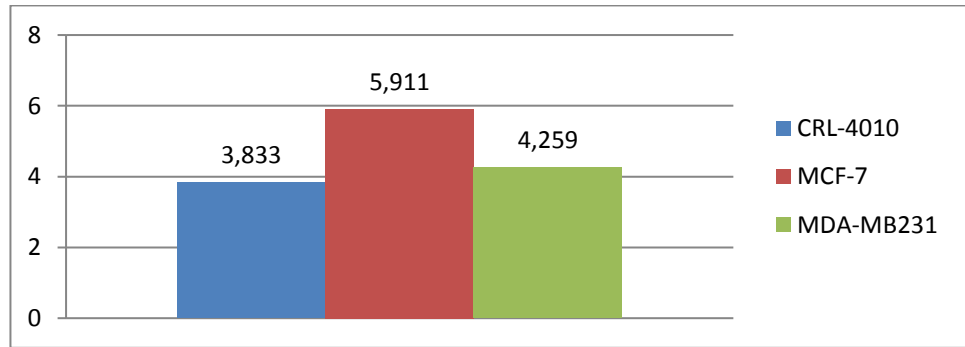
Tablo 4.1. CRL4010, MCF7 ve MDAMB231 gruplarının değişkenlerde farklılık analizleri

	Gruplar						p
	CRL-4010 (n=3)		MCF-7 (n=3)		MDA-MB (n=3)		
	ort	SD	ort	SD	ort	SD	
N-3-Fenilpropanilglisin	,037	,001	,037	,000	,038	,000	0,061
Okzoprolin	3,833 ^a	,068	5,911 ^b	,208	4,259 ^{ab}	,716	0,048
3-Fenil Laktik asit	,029	,001	,030	,001	,029	,001	0,670
4-OH Fenil asetik asit	1,027	,083	1,116	,240	1,005	,032	0,731
Glikolik asit	1,609	1,213	2,171	,585	2,773	,366	0,390
Hekzanonilglisin	,03	,00	,03	,00	,03	,00	1,000
Homogentisit asit	,106	,001	,103	,003	,101	,001	0,141
Malik asit	48,982 ^{ab}	3,844	81,170 ^b	1,406	6,597 ^a	,024	0,027
Malonik asit	,124	,005	,118	,003	,119	,008	0,348
2-OH Fenil asetik asit	,084	,004	,086	,004	,083	,002	0,829
N-İzovalerilglisin	,047	,002	,048	,002	,046	,001	0,459
4-OH Fenil Laktik asit	,135	,026	,294	,056	,037	,020	0,459
Sebasikasit	,040 ^{ab}	,006	,068 ^b	,010	,050 ^a	,009	0,027
Süberik asit	,181 ^a	,015	,231 ^b	,010	,205 ^{ab}	,049	0,035
2-OH Bütirik asit	,310	,009	,329	,028	,321	,016	0,615
3-Metilglutakonik asit	,204 ^{ab}	,022	,241 ^b	,015	,043 ^a	,006	0,026
3-OH-2-Metilbütanoik asit	,044	,003	,040	,008	,029	,002	0,111
3-OH-3-Metilglutarik asit	,410	,000	,411	,002	,410	,000	0,368
3-OH Bütirik asit	,0187	,0221	,0293	,0242	,0083	,0040	0,390
Glutakonik asit	,456 ^{ab}	,029	,735 ^b	,080	,235 ^a	,000	0,024
3-Metil-2-Okzovalerik asit	,638 ^{ab}	,128	,741 ^b	,121	,126 ^a	,000	0,045

4-Metil-2-Okzovalerik asit	,580	,131	,654	,495	,119	,000	0,055
Pirüvik asit	1,892 ^{ab}	,130	5,914 ^b	,449	,506 ^a	,000	0,024
2-OH Glutarik asit	1,333 ^{ab}	,085	2,008 ^b	,125	,122 ^a	,000	0,024
2-OH 3 Metil Pentanoik asit	,156	,001	,157	,002	,158	,000	0,144
2 OH İsookabroik asit	,128 ^{ab}	,001	,128 ^b	,002	,126 ^a	,000	0,049
2 OH İzovalerik asit	,318	,003	,321	,013	,315	,000	0,289
3 OHGlutarik asit	,0723	,0266	,0790	,0246	,0040	,0000	0,055
3 OH İzovalerik asit	,103 ^{ab}	,015	,150 ^b	,033	,047 ^a	,000	0,035
3 OH Pentanoik asit	,079 ^{ab}	,002	,150 ^b	,009	,044 ^a	,000	0,024
2 Keto Glutarik asit	2,299 ^{ab}	,388	26,166 ^b	,803	1,855 ^a	,000	0,024
Sitrik asit	104,676 ^{ab}	3,614	162,648 ^b	6,132	28,071 ^a	,000	0,024
Etil Malonik asit	,0153 ^{ab}	,0085	,8557 ^b	,0262	,0010 ^a	,0000	0,024
Laktik asit	145,700 ^{ab}	4,861	262,834 ^b	4,778	63,949 ^a	,000	0,024
Metil Malonik asit	2,706 ^{ab}	,086	4,947 ^b	,202	1,059 ^a	,000	0,024
Orotik asit	,0093 ^{ab}	,0067	,2350 ^b	,0020	,0030 ^a	,0000	0,024

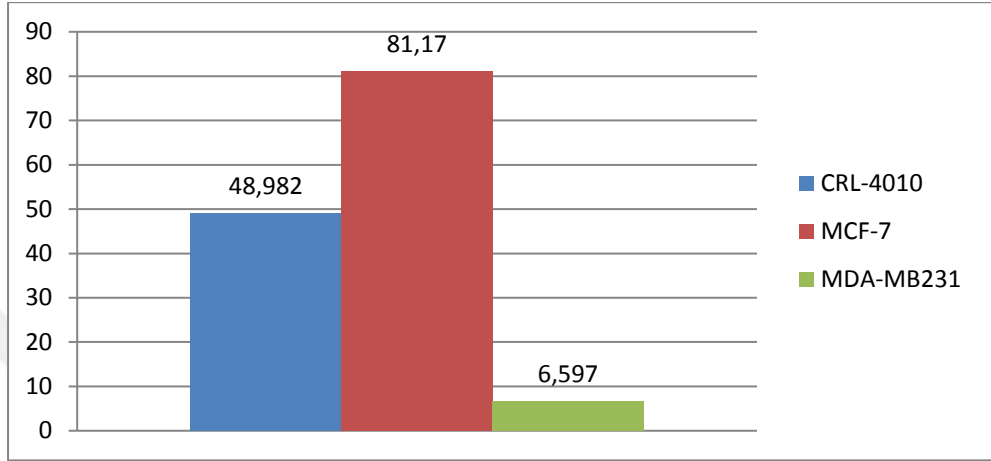
SD: Standart Sapma, p değeri Kruskal wallis testi ile elde edildi. Her satırın içinde, üst yazıdaki farklı harfler, önemli farklılıkları gösterir ($p < .05$) Kruskal Wallis'e göre hepsi ikili test sonrası hoc testidir.

Yapılan ölçümlerde CRL4010, CRL4010_A ve CRL4010_B gruplarında OKZOPROLİN ölçümlerinin ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farka rastlanmıştır ($p=0,048$). Yapılan post hoc analiz sonrasında MCF grubundaki OKZOPROLİN ölçümlerinin ($5,91 \pm 0,21$) CRL-4010 grubundaki ($3,83 \pm 0,07$) ölçümlerden daha yüksek seviyede olduğu ve bu farkında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu gözlenmiştir.



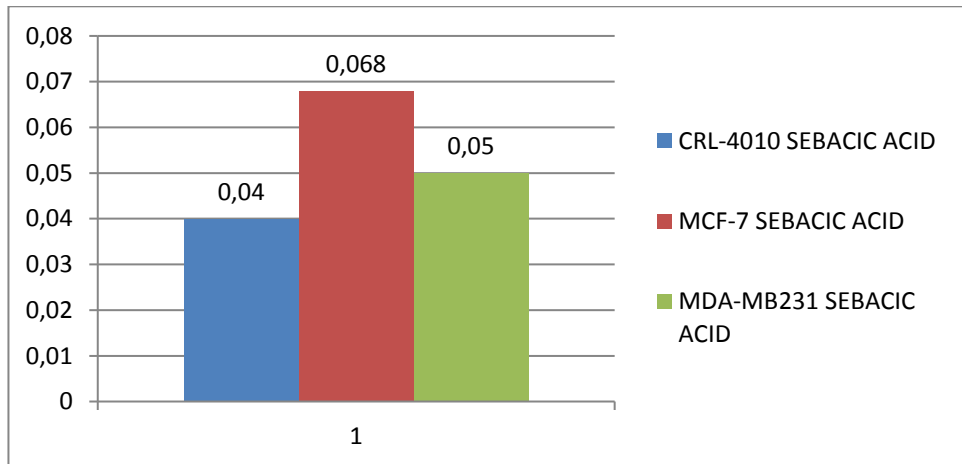
Şekil 4.1. Hücreler arası Okzoprolin konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

Gruplarında Malik asit ölçümlerinin ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farka rastlanmıştır ($p=0,027$). Yapılan post hoc analiz sonrasında MDA-MB grubundaki Malik asit ölçümlerinin ($6,597\pm0,24$) MCF-7 grubundaki ($81,170\pm1,406$) ölçümlerden daha düşük seviyede olduğu ve bu farkında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu gözlenmiştir.



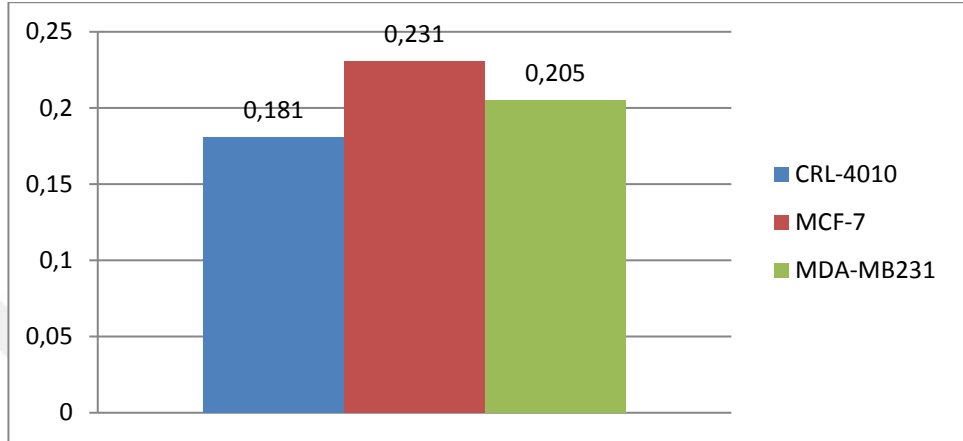
Şekil 4.2.Hücreler arası Malik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

Gruplarında SEBASİK ASİT ölçümlerinin ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farka rastlanmıştır ($p=0,027$). Yapılan post hoc analiz sonrasında MDA-MB grubundaki SEBASİK ASİT ölçümlerinin ($0,050\pm0,009$) MCF-7 grubundaki ($0,068\pm0,010$) ölçümlerden daha düşük seviyede olduğu ve bu farkında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu gözlenmiştir.



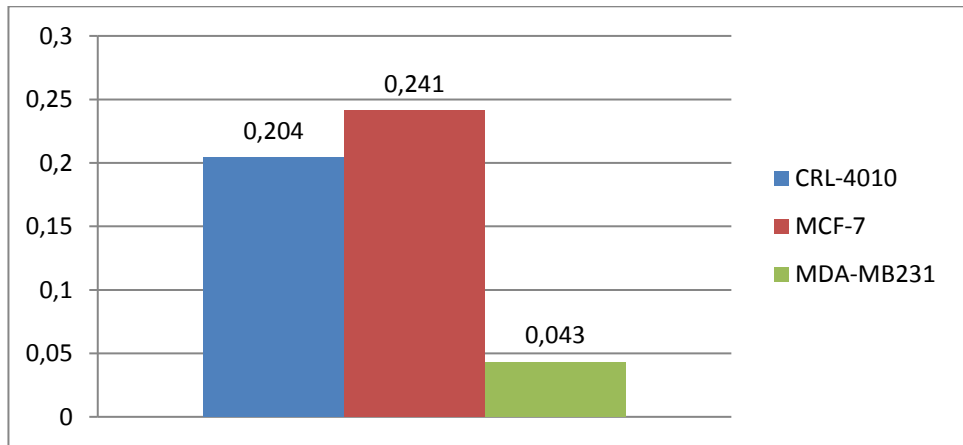
Şekil 4.3.Hücreler arası Sebasik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

Gruplarında SUBERİK ASİT ölçümlerinin ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farka rastlanmıştır ($p=0,035$). Yapılan post hoc analiz sonrasında MCF-7 grubundaki SEBASİK ASİT ölçümlerinin CRL-4010 grubundaki ölçümlerden daha yüksek düzeyde değerler aldığı ve bu farkında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu gözlenmiştir.



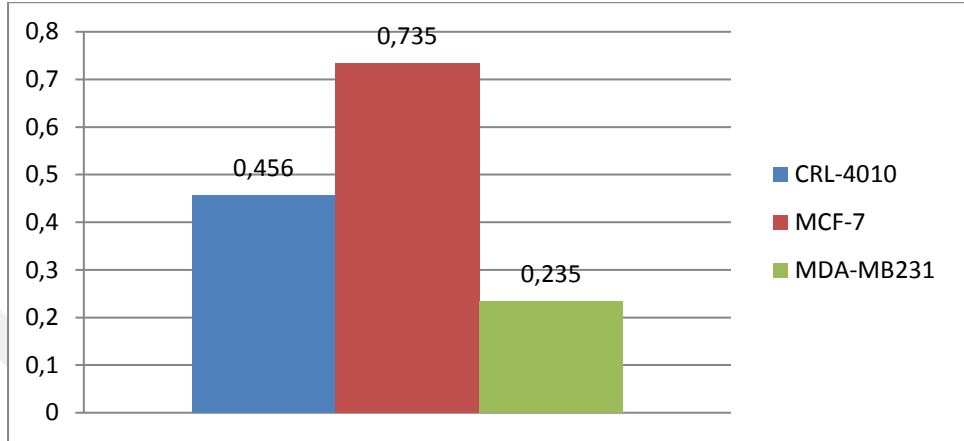
Şekil 4.4. Hücreler arası Suberik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

Gruplarında METİL GLUTAKONİK ASİT ölçümlerinin ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farka rastlanmıştır ($p=0,026$). Yapılan post hoc analiz sonrasında MCF-7 grubundaki METİL GLUTAKONİK ASİT ölçümlerinin MDA-MB grubundaki ölçümlerden daha yüksek düzeyde değerler aldığı ve bu farkında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu gözlenmiştir.



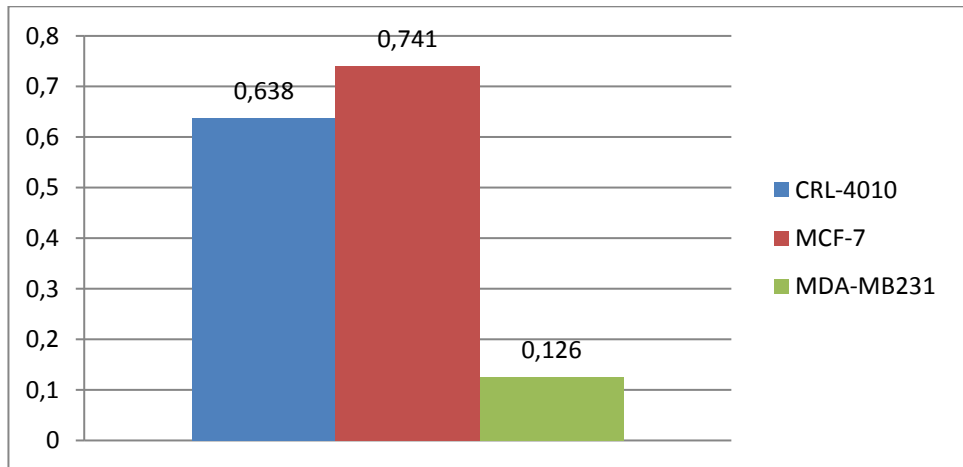
Şekil 4.5. Hücreler arası 3-Metil glutakonic asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

Gruplarında GLUTAKONİK ASİT ölçümlerinin ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farka rastlanmıştır ($p=0,026$). Yapılan post hoc analiz sonrasında MCF-7 grubundaki GLUTAKONİK ASİT ölçümlerinin MDA-MB grubundaki ölçümlerden daha yüksek düzeyde değerler aldığı ve bu farkında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu gözlenmiştir.



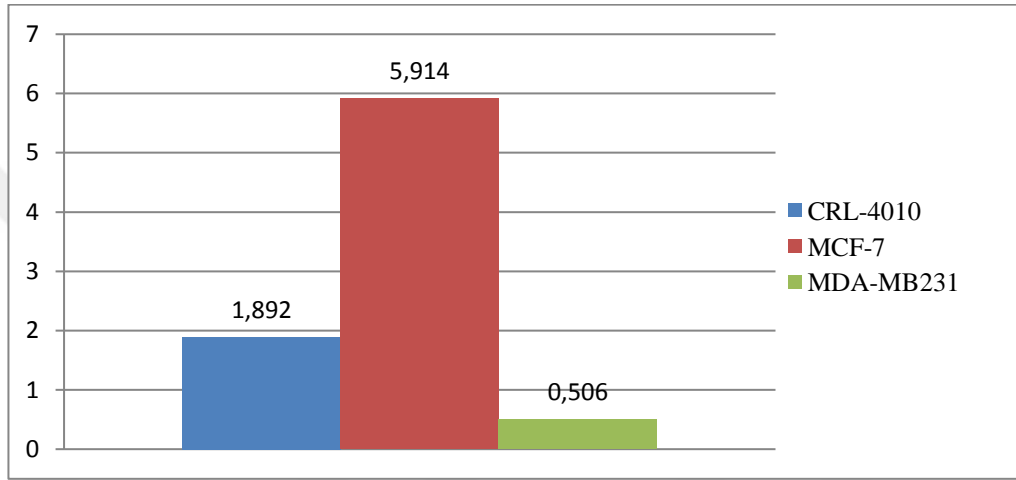
Şekil 4.6.Hücreler arası Glutakonic asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

Gruplarında metil-2-okzovalerik asit ölçümlerinin ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farka rastlanmıştır ($p=0,045$). Yapılan post hoc analiz sonrasında MCF-7 grubundaki metil-2-okzovalerik asit ölçümlerinin MDA-MB grubundaki ölçümlerden daha yüksek düzeyde değerler aldığı ve bu farkında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu gözlenmiştir.

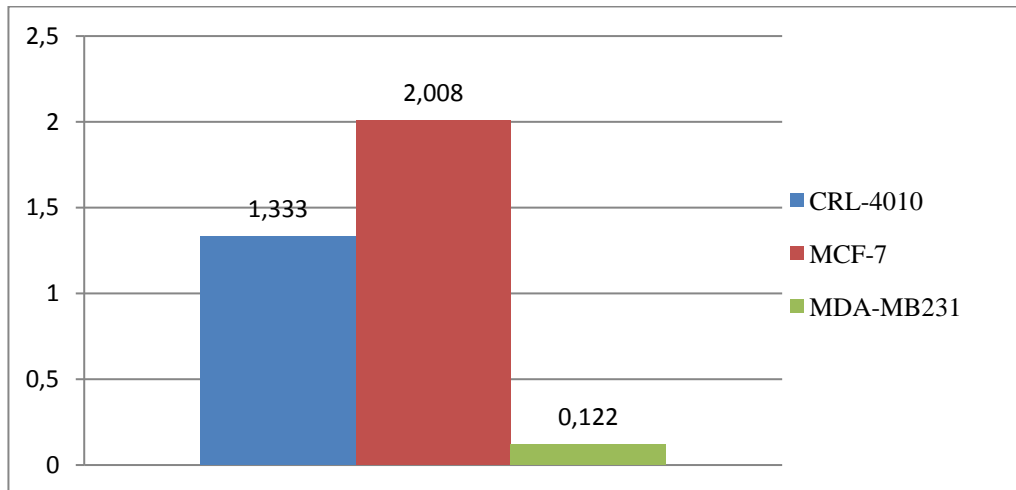


Şekil 4.7.Hücreler arası metil-2-okzovalerik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

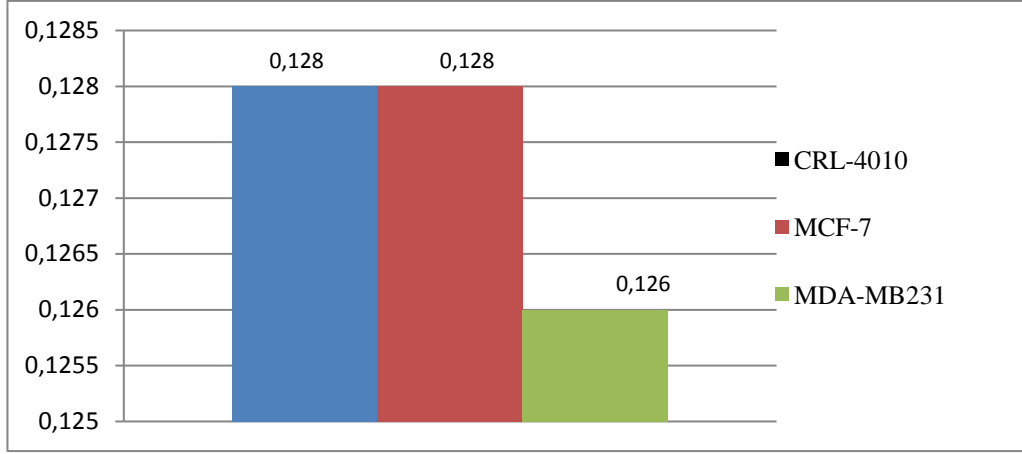
Gruplarında **pirüvik asit, 2 oh glutarikasit, 2 oh isokabroikasit, 3 oh izovalerikasit, 3 oh pentanoikasit, 2 keto glutarikasit, sitrikasit, etil malonikasit, laktikasit, metil malonikasit, orotikasit ve SÜKSİNİKASİT** ölçüm ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farka rastlanmıştır ($p < 0.05$). Yapılan post hoc analiz sonrasında MCF-7 grubundaki ölçümlerin ilgili parametre değerleri MDA-MB 231 grubundaki ölçümlerden daha yüksek düzeyde değerler aldığı ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu gözlenmiştir.



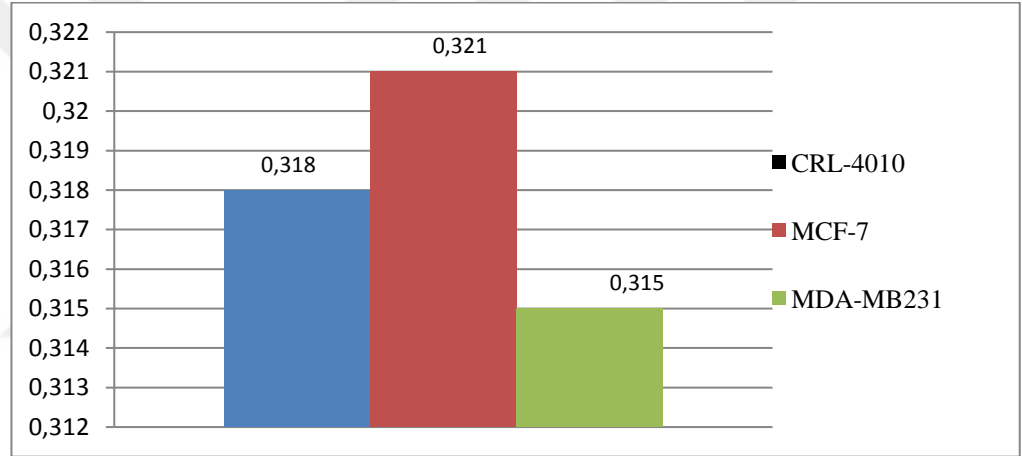
Şekil 4.8.Hücreler arası Pirüvik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.



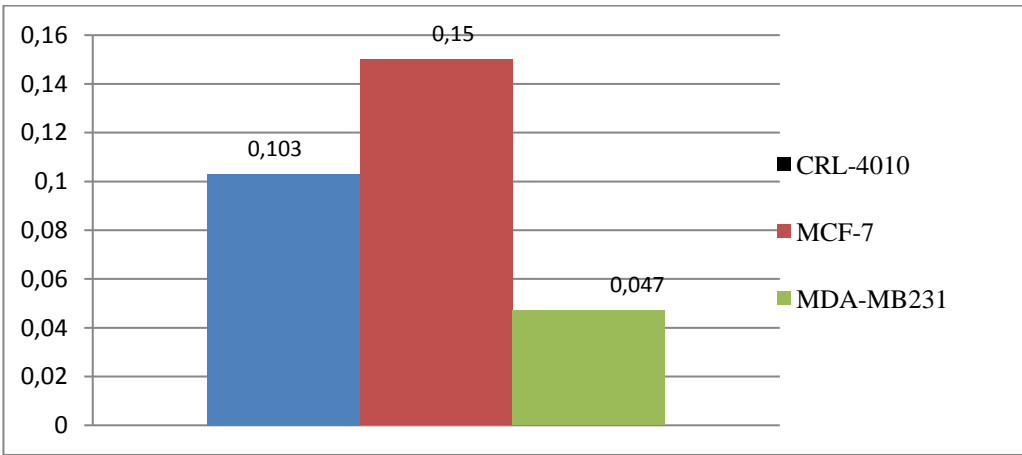
Şekil 4.9.Hücreler arası 2-OH Glutarik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.



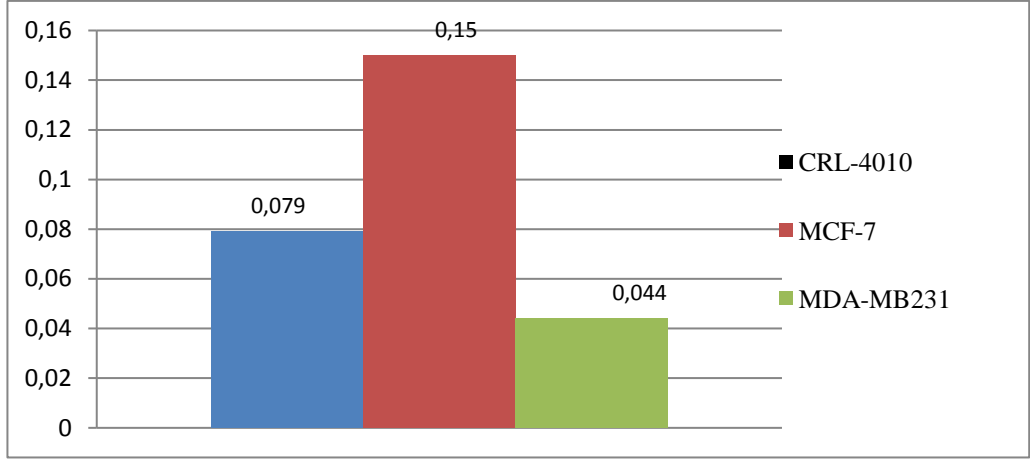
Şekil 4.10. Hücreler arası 2-OH İzokaproik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.



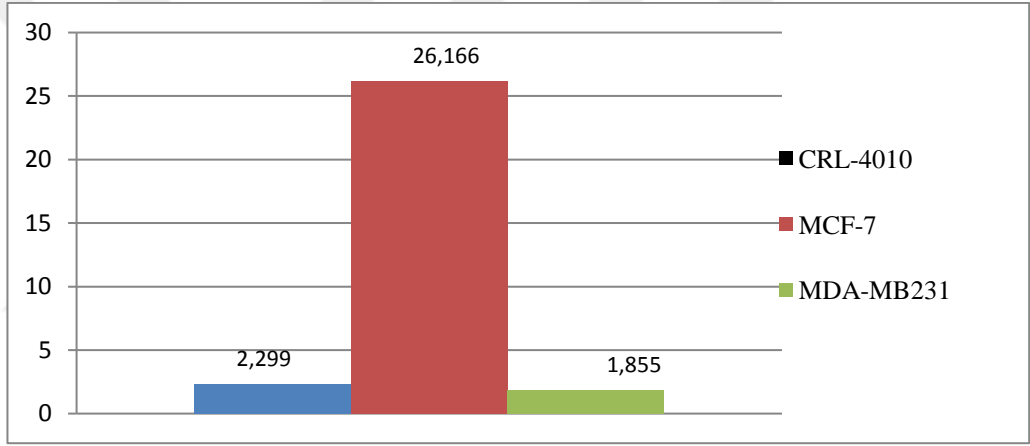
Şekil 4.11. Hücreler arası 2-OH İzovaleik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.



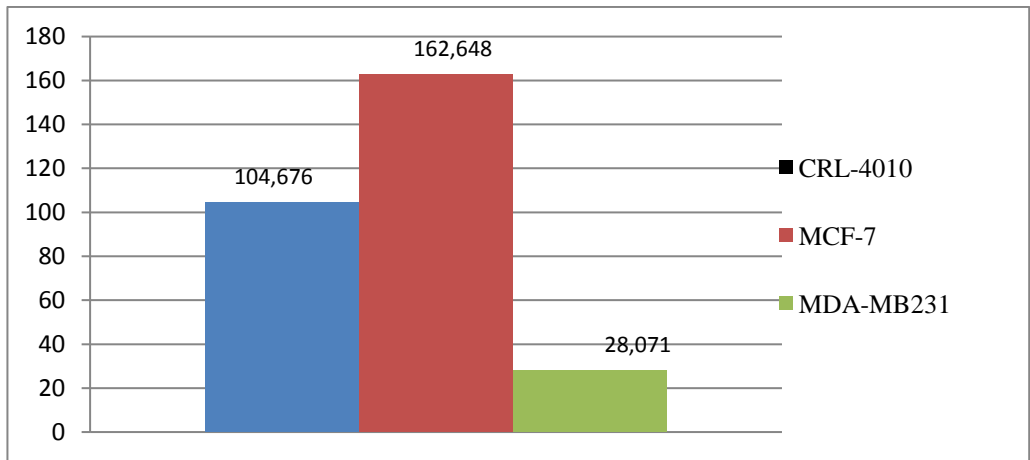
Şekil 4.12. Hücreler arası 3-OH İzovaleik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.



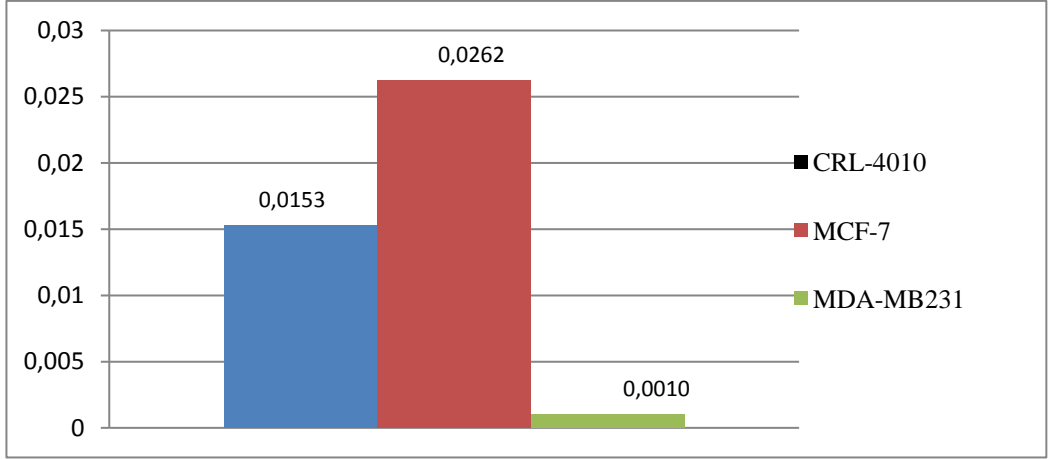
Şekil 4.13.Hücreler arası 2-OH Pentanoik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.



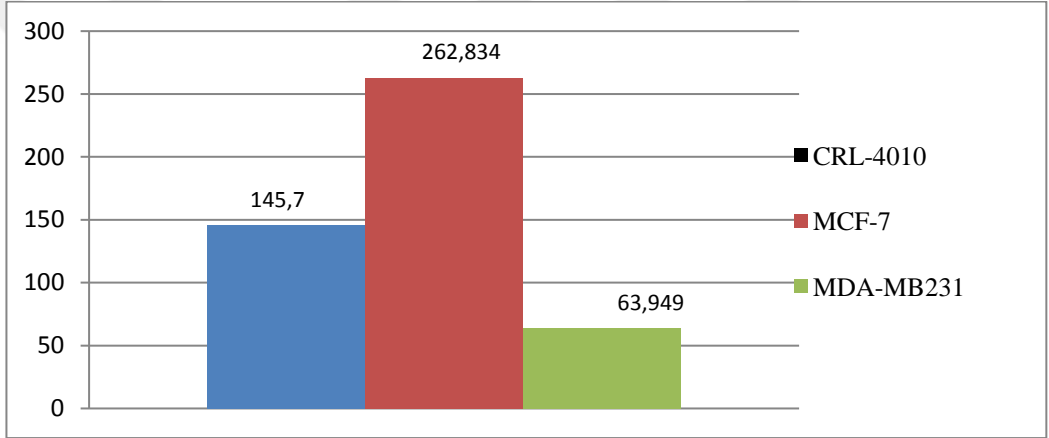
Şekil 4.14.Hücreler arası 2-Ketoglutarik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.



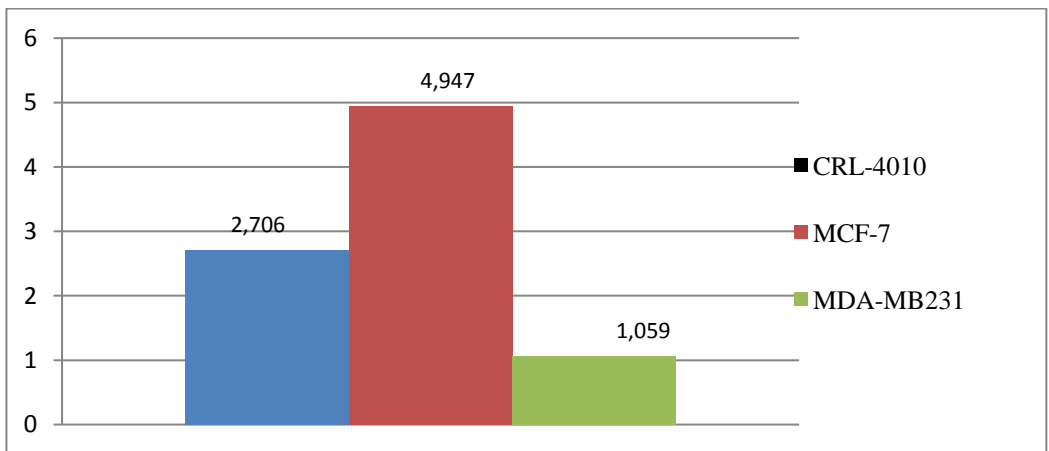
Şekil 4.15.Hücreler arası Sitrik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.



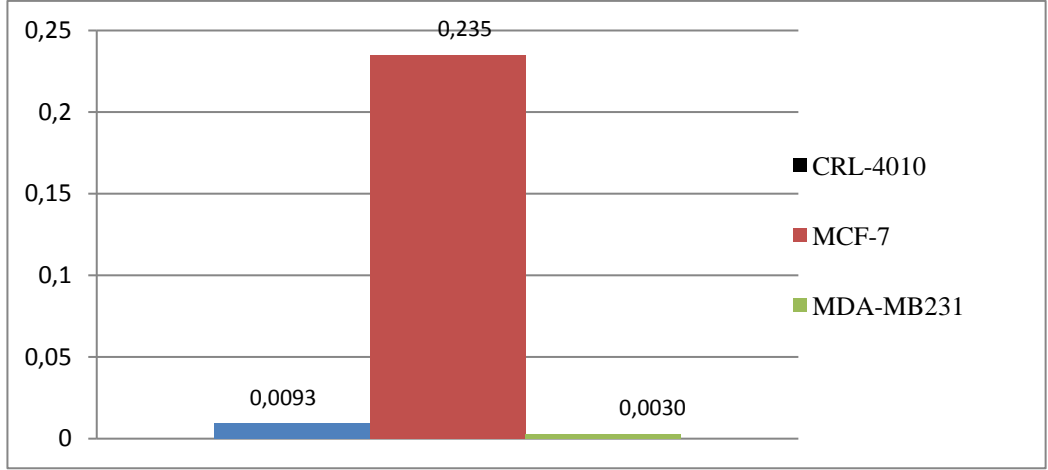
Şekil 4.16.Hücreler arası Etil malonik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.



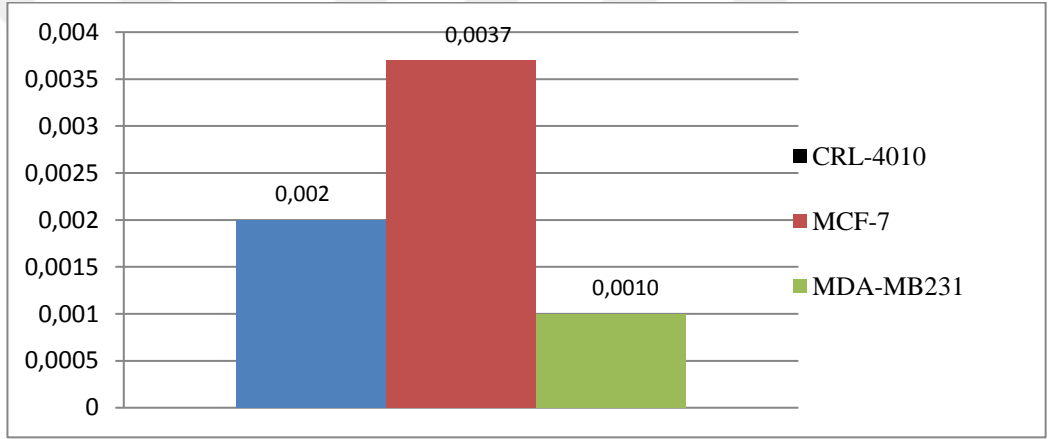
Şekil 4.17.Hücreler arası Laktik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.



Şekil 4.18.Hücreler arası Metil malonik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması.



Şekil 4.19.Hücreler arası Orotik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması



Şekil 4.20.Hücreler arası Süksinik asit konsantrasyonlarının karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Okzoprolin, 5-pozisyonuna yerleştirilmiş okso grubuna sahip bir okzoprolin, glutasyon döngüsündeki bir ara metabolittir (53). Birçok proteinde bulunur. Glutasyon, glutamat, sistein ve glisin içeren bir tripeptittir. Serbest radikallerin yakalanması, DNA biyosentezi ve protein ve amino asit transportunda görevli bir antioksidandır. GS (Glutatyonsentetaz) eksikliğinde vücutta 5-okzoprolin düzeyi artar. Yalnızca, bunada ağır vakalarda rastlanır (69). Yine 5-okzoprolinaz noksanlığında 5-okzoprolinin glutamata çevirilemediğinden dolayı 5-okzoprolin artar (70).Potansiyel kanser biyobelirteçlerini ararken birçok grup, nazofarenks karsinomu (96).ve mesane kanseri (97).gibi tümör hücrelerinde daha fazla bulunan bir biyomolekül olarak 5-okzoprolini tanımlamıştır. Ek olarak, normal ve kolorektal kanser hücrelerinde genom çapında metilasyon durumunun karşılaştırılması potansiyel bir biyobelirteç olarak ortaya çıkmıştır (98). Karşılaştırılabilir bir çalışma da okzoprolinaz mide kanserinde potansiyel bir belirteç olarak tanımlandı (99). Bizim çalışmamızda da okzoprolin, normal meme hücresine göre, MCF-7 ve MDA-MB231 hücrelerinde anlamlı bir şekilde artış görülmüştür. Yani GS eksikliğinden dolayı okzoprolinin, glutamata çevrilememesinden dolayı vücutta 5-okzoprolin düzeyi artmış olması düşünülmektedir.

Malik Asit'in iyonize hali, TCA döngüsünde malat şeklinde bulunur. İnsanlarda malat, besinle alınabildiği gibi TCA döngüsüyle de edinilebilmektedir. Malik asit, aynı zaman da meyve asiti olarak da bilinmekte olup, birçok meyve ile sebze doğal olarak bulunmaktadır. Aynı zamanda mitokondrilerde ki krebs döngüsü içinde mühim olan basamaktır. Vitamin B12 eksikliği durumlarında, metilmalonat artacağından malat da eş zamanla artmış bulunabilir (45). Malik asit düzeylerinin LC-MS/MS ile analizinin yapıldığı gastrik kanserli hastalarda krebs döngüsünün indüklendiği yönünde veriler elde edilmiştir (100). Çalışmamızda Malik asit, normal meme hücresine göre, MCF-7 hücresinde anlamlı bir şekilde artış görülürken, MDA-MB-231'de ise anlamlı bir şekilde azalış görülmüştür. Meme kanserinde fazla diferansiye hücrede (MDA-MB-231) daha düşük oranda bulunması krebs döngüsünün daha fazla inhibisyonu ve anaerobik solunuma eğilime artışın göstergesi olabilir.

Sebasik asit, 10 karbon atomlu doymuş, düz zincirli doğal olarak oluşan bir dikarboksilik normal bir idrar asididir. Sebasik asit, multipl açıl-CoA dehidrogenaz ve glutarik asidüri Tip 2 hastalarının idrarlarında yüksek oranlarda bulunur (79,80). Kanserde markır olabileceğine dair herhangi bir veri olmamasına rağmen, kemoterapi etkinliği üzerine bazı çalışmalar vardır (101). Bu çalışmada sebasik asit düzeyi normal meme hücresine göre, MCF-7 ve MDA-MB231 hücrelerinde anlamlı bir şekilde artmıştır. Kemoterapinin etkinliği açısından sebasik asit düzeylerinin artmış olması yeni tedavi stratejileri açısından yol gösterici olabilir.

3-metilglutakonik asit, lösin katabolizmasında ortaya çıkan bir bileşiktir. 3-metilglutakonoil-CoA hidrataz eksikliğinde idrarla yüksek miktarlarda atılır (57). Mitokondriyel bozukluk söz konusu olduğunda asetil-CoA'nın iç mitokondriyel alanda birikmesi sonucu 3-metilglutakonik asit de-novo olarak sentezlenir (65). Çalışmamızda 3-metil glutakonik asit, normal meme hücresine göre, metilglutakonoil-CoA hidrataz eksikliği ve mitokondriyal bozukluğa bağlı olarak, MCF-7 hücresinde anlamlı bir şekilde artış görülürken, MDA-MB-231'de ise anlamlı bir şekilde azalış görülmüştür. 3-metilglutakonik asit mitokondriyal fonksiyon açısından MCF-7 nin daha iyi durumda olduğunu, daha kötü prognoz sahip MDA-MB-231 hücresinde mitokondriyal disfonksiyonun oluşmaya başladığı düşünülebilir. Mitokondriyal disfonksiyon ile, oksijenli solunumdan oksijensiz solunuma geçişin sağlanarak, anjiogenezis ve yeni metastatik odakların oluşması kötü prognozlu kanserlerin yayılımı açısından önemlidir.

Çalışmamızda glutakonik asit, normal meme hücresine göre, MCF-7 hücresinde anlamlı bir şekilde artış görülürken, MDA-MB-231'de ise anlamlı bir şekilde azalış görülmesi, glutaril koenzim A dehidrogenaz enzim aktivitesinin eksikliğine bağlı olduğu düşünülmektedir. Glutaril koenzim A dehidrogenaz enzim aktivitesinin azalması sonucu L-lizin, L-hidroksilizin ve L-triptofan amino asitlerinin metabolizmasında bozulma olduğu saptanmıştır. Bu tür bir defekt durumunda glutarik asit yıkım ürünleri olan glutaril karnitin, glutarik asit, glutakonik asit ve 3-hidroksi glutarik asitin dokularda, kan, beyin omurilik sıvısı ve idrarda biriktiği gösterilmiştir (89-90). Kanserin hücrel diferansiyasyonuna göre bu enzim aktivitesinin değişkenlik gösterdiği düşünülmektedir.

3-Metil-2-oksovalerik asit, dallanmış zincirli amino asitlerin eksik parçalanmasından kaynaklanan anormal bir metabolittir. Sinir hücrelerine ve sinir

dokularına zarar veren bir nörotoksindir. Kronik olarak yüksek seviyelerde olumsuz sağlık etkilerine neden olan endojen olarak üretilen bir metabolittir. Kronik olarak yüksek seviyelerde 3-metil-2-oksovalerik asit, akçaağaç şurubu idrar hastalığı ile ilişkilidir (92). Çalışmamızda 3-metil-2-oksovalerik asit, MCF-7 hücresinde anlamlı bir şekilde artış görülürken, MDA-MB231'de ise anlamlı bir şekilde azalış görülmesinin nedeninin hücre ya da sistem içinden gelen dokularda biyosentez ve yıkım olaylarının sonucu olarak düşünülmektedir. Kötü prognozlu meme kanseri türünde bu metabolitin azalması kanser hücrelerinin yaşamsal faaliyetlerini bozacak nörotoksin metabolitekarşı geliştirilmiş bir savunma mekanizması olabilir.

Pirüvik asit, bir α -ketoasit'tir ve konjugat bazı olan piruvat pek çok metabolik yolakta yer alır. Bunlardan ilki glikolizin son basamağıdır. 1 glukoz molekülünden 2 piruvat oluşturularak sitrik asit döngüsüne katılımı sağlanır (45). Oksijen yeterli olduğunda glikoliz yolağı üzerinden piruvattan asetil-CoA oluşumu, yetersiz olduğunda ise laktat oluşumu sağlanır. Çalışmamızda pirüvik asit, MCF-7 hücresinde anlamlı bir şekilde artış görülürken, MDA-MB231'de ise anlamlı bir şekilde azalış gözlemlenmesi, glikoliz basamağında, yeterli piruvat oluşmaması ve oluşan piruvatta TCA döngüsüne katılamamasında kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

2-hidroksiglutarik asit bir α -hidroksi asittir. L-2 HGA (L-2-hidroksiglutarik asidüri) ile D-2 DGA (D-2-hidroksiglutarik asidüri) rahatsızlıklarında idrarda yüksek seviyeye çıkmaktadır (71). Normal şartlarda artmış 2 hidroksiglutaratı temizleyen L2 hidroksiglutarat dehidrogenaz enzimi bu hastalarda fonksiyon görmez ve 2 hidroksiglutaratı daha zararsız bir madde olan alfa ketoglutarata çeviremez. Biriken 2 hidroksiglutarat myelotoksik ve karsinojeniktir (72). L-2 HGA için olası beyin tümörü gelişimi ve merkezi sinir sistemi tutulumu bildirilmiştir. Çalışmamızda 2-hidroksiglutarik asit, MCF-7 hücresinde anlamlı bir şekilde artış görülürken, MDA-MB-231'de ise anlamlı bir şekilde azalış gözlemlenmesi L2 hidroksiglutarat dehidrogenaz enziminin işlevsel olarak çalışmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Daha fazla farklılaşmış olan MDA-MB-231 hücresinin karsinojenik bu maddeyi daha iyi prognozlu MCF-7 hücresine göre daha az salgılaması farklılaşmasını tamamlayıp, enerjisini metastataz ve anjiogenezde kullanma eğiliminden olabilir.

3-Hidroksiizovalerik asit, lösin metabolitidir. 3-hidroksi-3-metilglutarik-CoA liyaz eksikliği, izovalerik asidemi, 3-metilcrotonoil-CoA karboksilaz 1 eksikliğinde

idrarda atılımı artmış bulunur (54). Ayrıca 3-hidroksiizovalerik asitin over karsinomları için prognostik belirteç olarak rol oynayabileceği bildirilmiştir(102).Çalışmamızda 3-hidroksiizovalerik asit, MCF-7 hücresinde anlamlı bir şekilde artış görülürken, MDA-MB231'de ise anlamlı bir şekilde azalış görülmesi, 3-metilkrotonoil-CoA karboksilaz 1 inhibisyonuna bağlı olabilir.

Krebs döngüsünde endojen bir ara metabolit olan alfa-ketoglutarat (AKG), çoklu metabolik ve hücresele yolaklarda yer alan bir moleküldür. Bir enerji vericisi, amino asit biyosentezinde bir öncü, bir sinyal molekülü, ayrıca epigenetik işlemlerin ve protein bağlanması yoluyla hücresele sinyallerin düzenleyicisi olarak işlev görür. AKG, farklı tip substratlar üzerinde hidroksilasyon reaksiyonlarını katalize eden 2-oksolattata bağlı dioksijenazlar için zorunlu bir yardımcı substrattır. Kemik dokusunun bir bileşeni olan kollajenin biyosentezini kontrol eden prolil-4 hidroksilazın aktivitesini düzenler. AKG aynı zamanda, kanser gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir transkripsiyon faktörü olan hipoksi ile indüklenebilir faktörün fonksiyonunu etkileyen prolil hidroksilazların çalışmasını da etkiler. Ek olarak, kromatinin epigenetik modifikasyonlarını etkileyen enzimlerin işleyişini etkiler. Böylece, gen ekspresyonunu düzenler. AKG'nin hücrelerde ve organizmada metabolik ve extrametabolik fonksiyonu, hastalıkların tedavisi için yol gösterici olabilir (103).Çalışmamızda ketoglutarik asit, MCF-7 hücresinde anlamlı bir şekilde artış görülürken, MDA-MB-231'de ise anlamlı bir şekilde azalma görülmüş olması kötü prognozlu olan hücrelerde krebs döngüsünün inhibisyonunu göstermektedir.

Sitrik asit, trikarboksilik asit (tca) veya sitrik asit döngüsü olarak da bilinen 4 karbon içeren oksaloasetat ve 2 karbonlu asetil coA ile birleşmesi sonucu 6 karbonlu sitrat oluşumu ile başlayan ve izositrat, alfa keto glutarat, süksinil coA, süksinat, fumarat, malat ve son olarak tekrar oksaloasetat şeklinde devam eden döngü mitokondride gerçekleşir (92). Proliferatif kanser hücreleri oksidatif metabolizmalarını azaltır ve O₂ varlığında bile glikolize daha fazla eğilim gösterir. Metabolizmadaki bu değişim sitrat biyosentezini azaltır ve her ikisi de glikolizi sürdüren tümör büyümesini destekleyen hücre içi asitliğini azaltır. Sitrat, asetil-CoA'nın donörü olduğu için, düşük üretimi, apoptoz ve epigenetik değişikliklere direnç gösteren proteinlerin deasetilasyon durumundan yanadır. Her iki durum da tümör agresifliğine katkıda bulunur. Sitrat seviyeleri, kanser saldırganlığının bir indikatörü olarak (insan

prostat kanserinde zaten gösterildiği gibi) monitörize edilebilir ve tedaviye yanıt için bir biyobelirteç görevi görebilir. Sitozolik sitratı arttırmayı amaçlayan stratejiler, tümör büyümesinin inhibisyonunusağladığı için geliştirilmeli ve test edilmelidir(104). Çalışmamızda sitrik asit, MCF-7 hücresinde anlamlı bir şekilde artış görülürken, MDA-MB231'de ise anlamlı bir şekilde azalma görülmüştür. Agresif mem kanseri türü olan MDA-MB231 hücrelerinde krebs döngüsünün önemli bir parametresi olan sitrat miktarı azalmıştır.

Laktik asitin L ve D formunda iki tane izomeri bulunmaktadır. L-laktik asit hayvanlarda bulunan formudur. Laktik asit, Sitoplazmada glikoliz sonucu ortaya çıkan ara metabolit piruvattan, glikoliz olayında LDH tarafından sentezlenir ve karaciğer ile renal kortekse taşınarak tekrar glukoza dönüştürülür. Vücutta kullanımı için dolaşıma verilir. (47). Anaerobik solunum durumunda oluşan NADH fazlalığında indirgenme sonucu laktik asit yükselmektedir (46).Burada, egzersiz fizyolojisi ve metabolizmasında öğrenilen dersleri, gen mutasyonları ile başlatılan artırılmış laktat üretiminin ('laktajenez') Warburg Etkisinin nedeni ve amacı olduğunu ve düzensiz laktat metabolizması ve sinyallemesi karsinogenezdeki kilit unsurdur. Laktat üreten kanser hücreleri, 93 yıl önce Otto Warburg tarafından tanımlanmış ve hala açıklanamayan bir fenomen olan aşırı laktat oluşumu ile aerobik glikolizin artmasıyla karakterize edilir. Birkaç on yıl süren bir aradan sonra laktata olan ilgi, kanserdeki bir oyuncu olarak yenilenmiştir. Normal fizyolojide, zorunlu glikoliz ürünü olan laktat, önemli bir metabolik yakıt enerji kaynağıdır, en önemli glukoneojenik öncü madde ve ana düzenleyici özelliklere sahip bir sinyal molekülüdür. Laktajenik kanserlerde, onkogenler ve tümör baskılayıcı mutasyonlar, görünüşe göre laktajenez amacıyla glikoz kullanımının arttırılması ve hücreler arasında ve içindeki laktat değişiminin sağlanması amacıyla yüksek oranda orkestre edilmiş bir şekilde davranır. Beş ana adım tanımlanmıştır:

- (I) arttırılmış glikoz alımı,
- (II) arttırılmış glikolitik enzim ekspresyonu ve aktivitesi,
- (III) azalmış mitokondriyal fonksiyon,
- (IV) arttırılmış laktat üretimi, birikimi ve salımı ve
- (V) laktat değişimi için monokarboksilat taşıyıcı düzenlenmesi.

Laktat muhtemelen kanserogenez için tüm ana sekellerde (anjiyojenez, immün kaçış, hücre göçü, metastaz ve kendi kendine yeten metabolizma) yer alan ve gerekli olan önemli bir metabolik bileşiktir. Buna göre, laktat değişimini sınırlayan tedavilerin keşfi ayrıca önemlidir (105). Çalışmamızda laktik asit düzeyinin, MCF-7 hücresinde anlamlı bir şekilde artış görülmesi agresif seyreden kanser hücrelerinin anaerobik solunumu daha çok kullandığı ve TCA siklusunun inhibe edildiği bilgisini desteklemektedir. Fakat daha agresif olan MDA-MB231'de ise anlamlı bir şekilde azalma gözlemlenmiştir. Daha kötü seyirli kanser hücrelerinde laktat düzeyinin daha fazla artması beklenir. Önceki organik asitlerin konsantrasyonundaki azalma Krebs inhibisyonu ve anaerobik solunumu desteklerken laktat düzeyindeki azalma agresif kanser hücresinin anaerobik solunuma olan eğilimiyle açıklanamamıştır.

Metilmalonik asit, malonatin C-türevi asittir. Yüksek serum MMA seviyeleri ve MMA'nın idrarla atılması, doğrudan B12 vitamin aktivitesinin azaldığını gösterir. Kanser.6 Eski veriler, mide karsinomu ve karsinoid tümörlerin zararlı anemiyle bir ilişkisini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda metilmalonik asit, MCF-7 hücresinde anlamlı bir şekilde artış görülürken, MDA-MB231'de ise anlamlı bir şekilde azalış görülmesi, B12 eksikliğinden kaynaklı olabilir (51). Kobalamin konsantrasyonlarının, meme ile ilişkili olduğunu gösteren epidemiyolojik veriler vardır (106).

Orotik asit, vücutta pirimidinlerin üretimi sırasında meydana gelen bir ara metabolittir (43). Orotik asit diyetine maruz kalan hayvanlarda hepatoselüler karsinoma insidansının büyük ölçüde arttığı gösterilmiştir. 10 hafta boyunca orotik asit diyeti verilen sıçanlarda % 42 ve 40 hafta boyunca bu diyetle maruz kalanlarda % 75'e kadar artış görülmüştür. Ayrıca, bu deneklerin akciğerlerinde % 33-60 oranlarında yüksek bir metastatik potansiyel tespit edilmiştir (107). Çalışmamızda Orotik asit, MCF-7 hücresinde anlamlı bir şekilde artarken, MDA-MB-231'de ise anlamlı bir şekilde azalmıştır. MCF-7'nin artmış mitotik aktivitesi pirimidin sentezini artırmasıyla ilişkili olabilir. Daha kötü seyirli MDA-MB-231'nde mitotik aktivitenin olmaması farklılaşmanın tamamlandığını ve hücrelerin G0 aşamasında bulunduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma iki farklı meme kanseri türü ve normal hücrelerin organik asit profilinin LC-MS/MS tekniği ile tanımlanarak metabolik aktivite ve ana metabolik yollarda oluşan defektler hakkında önemli veriler sağlayarak meme kanseri metabolizmasını başarıyla uygulamıştır. Metabolik yollarda ara ve son ürünlerini temsil eden organik asit seviyeleri kanserdeki metabolik değişikliklerle ilişkilendirilebilir. Meme kanserinde ileri farklılaşan hücrelerin ana enerji yollarından olan krebs döngüsünü kullanmama eğiliminde olduğu bu çalışma ile doğrulanmıştır. Organik asit profili analizi, meme kanserinde metabolik olayların karmaşıklığını anlamak için genel olarak yararlı bir klinik araç olabilir ve organik asitler, gelecekteki tanı ve tedavi yöntemlerinin keşfi için metabolik belirteç potansiyeline sahip olabilir. Yapılacak in-vivo çalışmalar ile kemoterapi sırasında metabolomun seri olarak izlenmesi, tedavinin etkinliğini ve direncin ortaya çıkmasını izleyerek onkoloğun tedaviyi değiştirip değiştirmeyeceği hakkında faydalı veriler sağlayabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Alberts, et al., 2008; Cooper & Hausman, 2000; Esquivel – Chirino et al., 2013; Hanahan & Weinberg, 2011; Pazarbaşı & Kasap., 2003)
2. Osteen, R. T., 1992 55-74
3. Özmen, V., (2006) Editörden, Meme Sağlığı Dergisi, 2 (2): 55-58.
4. Smeltzer and Bare 2005 Smeltzer SC, Bare, BG, Brunner and Suddarth. Medical Surgical Nursing, 10th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, USA. 2005; 1445-1484.
5. Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, ... & Prueitt RL, (2006). A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103(7): 2257-2261.
6. Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, ... & Rassenti L (2005). miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102(39): 13944-13949.
7. Kluiver J, Poppema S, de Jong D, Blokzijl T, Harms G, Jacobs S, ... & Van den Berg A (2005). BCL2 and miR-155 are highly expressed in Hodgkin, primary mediastinal and diffuse large B cell lymphomas. The Journal of pathology, 207(2): 243-249.
8. Löffler D, Brocke-Heidrich K, Pfeifer G, Stocsits C, Hackermüller J, Kretzschmar AK, ... & Cvijic H (2007). Interleukin-6-dependent survival of multiple myeloma cells involves the Stat3-mediated induction of microRNA-21 through a highly conserved enhancer. Blood, 110(4): 1330-1333.
9. Zhang B, Pan X, Cobb GP & Anderson TA (2007). microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. Developmental biology, 302(1): 1-12.
10. Yin C, Qie S & Sang N (2012). Carbon source metabolism and its regulation in cancer cells. Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression, 22(1):1
11. Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, Ghoshal K, Jacob ST & Patel T (2007). MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. Gastroenterology, 133(2).

12. Xing Z, Li D, Yang L, Xi Y & Su X (2014). MicroRNAs and anticancer drugs. *Acta Biochim Biophys Sin*, 46(3): 233-239
13. Aslan, F. E., and Gürkan, A., 2007. Kadınlarda meme kanseri risk düzeyi. *MemeSağlığı Dergisi*, 3: 63-68.
14. Türk Kanser Derneği (TKD) 2013.
15. Globocan 2018.
16. American Cancer Society (ACS) 2012. <https://www.cancer.org/cancer/cancer-basics/history-of-cancer/what-is-cancer.html>
17. Kelleci, M., 2005. Kanser Hastalarının Umudunun Geliştirilmesine Yönelik Hemşirelik Girişimleri. *Anadolu Psikiyatri Dergisi*, 6: 41-47.
18. Yeşilbakan ve ark., 2005
19. Yıldırım, S., Gurkan, A., 2007. Müziğin Kemoterapi Yan Etkilerine ve Kaygı Düzeyine Etkisi. *Anadolu Psikiyatri Dergisi*, 8: 37-45
20. Kolutek, R., Karatas, N., 2007. Nevşehir İli Uçhisar Kasabası'nda Yaşayan Bireylerde Kanser Risk Faktörleri ve Erken Tanı Belirtilerinin Saptanması. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 16 (1): 28-39.
21. Syngal ve ark., 2015
22. Balch GC, De Meo A, Guillem JG. Modern management of rectal cancer: a 2006 update. *World J Gastroenterol* 2006; 12:3186
23. Garden AS, Morrison WH, Wong PF, et al. Disease control rates following intensity modulated radiation therapy for small primary oropharyngeal carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 67:438
24. Pignon JP, Arriagada R, Ihde DC, et al. A meta-analysis of thoracic radiotherapy for small cell lung cancer. *N Engl J Med* 1992; 327:1618-38
25. Okanlı A (2004) Kadınlarda mastektominin psikososyal etkileri, *Uluslararası İnsan Bilimleri Dergisi*, 1 (1): 1-6.
26. Özyılkan Ö (2004) Kanser hastalarında yaşam kalitesinin önemi, 1. Sağlıkta Yaşam Kalitesi Sempozyumu, 8-10 Nisan 2004, İzmir, Bildiriler, s: 42-43.
27. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E (2001) Epidemiology of breast cancer, *The Lancet Oncology*, 2: 133-140.
28. Pişkin E (2007) Meme kanseri ve kendi kendine meme muayenesi, Bursa Sağlık Müdürlüğü Eğitim Şube Müdürlüğü Yayınları, Bursa Basımevi, Bursa.

29. Çadır G, Eksen M, Bütüner E, Tüzen H, Yetim H, Othan K, Arslan K (2004) Muğla Merkez, Bayır, Yerkesik ve Yeşilyurt sağlık ocağı bölgelerinde yaşayan kadınların meme kanseri ve kendi kendine meme muayenesi konusundaki bilgi ve uygulama durumlarının belirlenmesi, Uluslararası İnsan Bilimleri Dergisi, 8 (1): 27- 28.
30. Çevik CG (2003) Memede kitle şüphesiyle hastaneye başvuran kadınların meme kanseri ve kendi kendine meme muayenesi bilgi düzeyleri ve kitlenin fark edilmesinde kendi kendine meme muayenesinin etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon.
31. Aygin D, Durat G (2006) Meme kanserli kadınlarda cinsel sorunlar ve yaklaşım, Kadın Cinsel Sağlığı Hemşire Çalışma Grubu, 3 (2): 352-354.
32. Hannahan & Weinberg, 2011.
33. American Cancer Society. Cancer Facts and Figures 2015. Atlanta, Ga: American Cancer Society; 2015. Erişim Tarihi:28/06/2015
34. Dean A. Primary breast cancer: risk factors, diagnosis and management. Nurs. Stand 2008;22(40): 47-55
35. American Cancer Society, Breastcancerfacts&figures 2010. <http://www.cancer.org/>. Erişim Tarihi: 23/01/2015
36. American Cancer Society, Breast cancer facts&figures 2013.<http://www.cancer.org/>. Erişim Tarihi: 14/01/201
37. Parlar S, Kaydul N, Ovayolu N, Meme kanseri ve kendi kendine meme muayenesinin önemi. Atatürk Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi, Cilt: 8, Sayı: 1, 2005.
38. Ciafre SA, Galardi S, Mangiola A, Ferracin M, Liu CG, Sabatino G, ... & Farace MG (2005). Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma. Biochemical and biophysical research communications, 334(4): 1351-1358
39. Gironella M, Seux M, Xie MJ, Cano C, Tomasini R, Gommeaux J, ... & Chaix A (2007). Tumor protein 53-induced nuclear protein 1 expression is repressed by miR-155, and its
40. Venter D. A part of the human genome sequence. Science, 2003; 299: 1183–84.

41. Bren L. Metabolomics: Working toward personalized medicine. *FDA Consum*, 2005; 39: 28-33.
42. Fanos V, Atzori L, Makarenko K, Melis GB, Ferrazzi E. Metabolomics application in maternal-fetal medicine. *BioMed research international*. 2013 Jun 9;2013.
43. Lord RS, Bralley JA, (Eds). *Laboratory evaluations for integrative and functional medicine*. 2nd ed. Metametrix Institute; 2008.
44. Yoshioka K, Shimojo N, Nakanishi T, Naka K, Okuda K. Measurements of urinary adipic acid and suberic acid using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1994;655(2):189-93.
45. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*. 26th ed. Appleton and Lange: New York, NY. 2004.
46. Valenza F, Aletti G, Fossali T, Chevillard G, Sacconi F, Irace M, Gattinoni L. Lactate as a marker of energy failure in critically ill patients: hypothesis. *Critical Care*. 2005;28;9(6):1.
47. Meng F, Henson R, Wehbe-Janeck H, Ghoshal K, Jacob ST & Patel T (2007). MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology*, 133(2): 647-658.
48. <http://www.ebmconsult.com/articles/ethylene-glycol-toxicology> Erişim tarihi: 24 Kasım 2016.
49. Evarsson A, Chuang JL, Wynn RM, Turley S, Chuang DT, Hol WG. Crystal structure of human branched-chain α -ketoacid dehydrogenase and the molecular basis of multienzyme complex deficiency in maple syrup urine disease. *Structure*. 2000;8(3):277-91.
50. Sasaki M, Kimura M, Sugai K, Hashimoto T, Yamaguchi S. 3-Hydroxyisobutyricaciduria in two brothers. *Pediatric neurology*. 1998;18(3):253-5.
51. Sass JO, Walter M, Shield JP, Atherton AM, Garg U, Scott D, Woods CG, Smith LD3-Hydroxyisobutyrate aciduria and mutations in the ALDH6A1 gene coding formethylmalonate semialdehyde dehydrogenase. *Journal of inherited metabolicdisease*. 2012;35(3):437-42

52. Wanders RJ, Duran M, Loupatty FJ. Enzymology of the branched-chain amino acidoxidation disorders: the valine pathway. *Journal of inherited metabolic disease.*2012;35(1):5-12.
53. Saudubray JM, Van den Berghe G, Walter JH (Eds). *Inborn metabolic diseases: diagnosis and treatment.* 5th ed, Germany: Springer Science & Business Media; 2011
54. Mock N, Malik M, Stumbo P, Bishop W, Mock D. Increased urinary excretion of 3-hydroxyisovaleric acid and decreased urinary excretion of biotin are sensitive early indicators of decreased status in experimental biotin deficiency. *Am J Clin Nutr.* 1997;65:951–8.
55. Thompson AG, Leite MI, Lunn MP, Bennett DL. Whippits, nitrous oxide and the dangers of legal highs. *Practical neurology.* 2015;15(3):207-9.
56. Hu Z, Cha SH, Chohnan S, Lane MD. Hypothalamic malonyl-CoA as a mediator of feeding behavior, *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2003;100(22):12624-9.
57. Rashed MS, Aboul- Enein HY, AlAmoudi M, Jakob M, Al- Ahaideb LY, Abbad A, Shabib S, Al- Jishi E. Chiral liquid chromatography tandem mass spectrometry in the determination of the configuration of glyceric acid in urine of patients with D- glyceric and L- glyceric acidurias. *Biomedical Chromatography.* 2002;16(3):191-8.
58. Zschocke J, Ruitter JP, Brand J, Lindner M, Hoffmann GF, Wanders RJ, Mayatepek E. Progressive infantile neurodegeneration caused by 2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase deficiency: a novel inborn error of branched-chain fatty acid and isoleucine metabolism. *Pediatric research.* 2000;48(6):852-5.
59. Gregersen N, Kølvrå S. The occurrence of C 6–C 10-dicarboxylic acids, ethylmalonic acid, 5-hydroxycaproic acid, butyrylglycine, isovalerylglycine, isobutyrylglycine, 2-methylbutyrylglycine and glutaric acid in the urine of riboflavin deficient rats. *Journal of Inherited Metabolic Disease.* 1982;5:17-8.
60. Capo-chichi CD, Guéant JL, Lefebvre E, Bennani N, Lorentz E, Vidailhet C, Vidailhet M. Riboflavin and riboflavin-derived cofactors in adolescent girls with anorexia nervosa. *The American journal of clinical nutrition.* 1999;69(4):672-8.

61. Osorio JH. Evidence in Colombia of 625G> A polymorphism in the short chain acyl-CoA dehydrogenase gene, a variation which could cause glutaric aciduria in our populations. *Colombia Médica*. 2010;41(3):235-9
62. https://thealchemistkitten.files.wordpress.com/2009/11/blaze_tca_cycle.jpg Erişimtarihi: 19 Aralık 2016).
63. <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/c9/Tyrosinedegradation2.png/750px-Tyrosinedegradation2.png> Erişim tarihi: 19 Aralık 2016.
64. Dudzik D, Zorawski M, Skotnicki M, Zarzycki W, Kozłowska G, Bibik-Malinowska K, Vallejo M, García A, Barbas C, Ramos MP. Metabolic fingerprint of gestational diabetes mellitus. *Journal of proteomics*. 2014;103:57-71.
65. Ikon N, Ryan RO. On the origin of 3-methylglutaconic acid in disorders of mitochondrial energy metabolism. *Journal of inherited metabolic disease*. 2016:1-8.
66. Edmond J, Popjak G. Transfer of carbon atoms from mevalonate to n-fatty acids. *Journal of Biological Chemistry*. 1974;249(1):66-71.
67. Christensen E, Jacobsen BB, Gregersen N, Hjeds H, Pedersen JB, Brandt NJ, Baekmark UB. Urinary excretion of succinylacetone and δ -aminolevulinic acid in patients with hereditary tyrosinemia. *Clinica Chimica Acta*. 1981;116(3):331-41.
68. <https://radanniapicou.files.wordpress.com/2014/11/omegaoxidation1.png> Erişim tarihi: 20 Aralık 2016.
69. Ristoff E, Mayatepek E, Larsson A. Long-term clinical outcome in patients with glutathione synthetase deficiency. *The Journal of pediatrics*. 2001;139(1):79-84
70. Mayatepek E. 5-Oxoprolinuria in patients with and without defects in the glutamyl cycle. *European journal of pediatrics*. 1999;158(3):221-5.
71. Linster CL, Van Schaftingen E, Hanson AD. Metabolite damage and its repair or preemption. *Nature chemical biology*. 2013;9(2):72-80
72. Kranendijk M, Struys EA, Van Schaftingen E, Gibson KM, Kanhai WA, Van der Knaap MS, Amiel J, Buist NR, Das AM, de Klerk JB, Feigenbaum AS. IDH2 mutations in patients with D-2-hydroxyglutaric aciduria. *Science*. 2010;330 (6002): 336-.

- 73.** Palmada M, Centelles JJ. Excitatory amino acid neurotransmission. Pathways formetabolism, storage and reuptake of glutamate in brain. *Front Biosci.* 1998;3:d701-18.
- 74.** Phornphutkul C, Introne WJ, Perry MB, Bernardini I, Murphey MD, Fitzpatrick DL, Anderson PD, Huizing M, Anikster Y, Gerber LH, Gahl WA. Natural history of falkaptonuria. *New England journal of medicine.* 2002;347(26):2111-21.
- 75.** Baslow MH. Evidence supporting a role for N-acetyl-L-aspartate as a molecularwater pump in myelinated neurons in the central nervous system:an analyticalreview. *Neurochemistry international.* 2002;40(4):295-300.
- 76.** Kołodziejczyk K, Hamilton NB, Wade A, Káradóttir R, Attwell D. The effect of Nacetyl-aspartyl-glutamate and N-acetyl-aspartate on white matter oligodendrocytes. *Brain.* 2009:awp087
- 77.** Allen RH, Stabler SP, Savage DG, Lindenbaum J: Elevation of 2-methylcitric acid I and II levels in serum, urine, and cerebrospinal fluid of patients with cobalamindeficiency. *Metabolism.* 1993;42(8):978-88
- 78.** <http://david-bender.co.uk/metabonline/central/biotin/biotin15.html> Erişim tarihi: 20 Aralık 2016.
- 79.** Shoemaker JD, Elliott WH Automated screening of urine samples forcarbohydrates,organic and amino acids after treatment with urease. *J Chromatogr.* 1991;562(1-2):125-38.
- 80.** Jakobs C, Sweetman L, Wadman SK, Duran M, Saudubray JM, Nyhan WLPrenatal diagnosis of glutaric aciduria type II by direct chemical analysis ofdicarboxylic acidsin amniotic fluid. *Eur J Pediatr.* 1984;141(3):153-7.
- 81.** Pearson H. Genetics: what is a gene?". *Nature,* 2006; 441: 398-401.
- 82.** Winkler H. Verbreitung und Ursache der Parthenogenesis im Pflanzen und Tierreiche. Verlag Fischer, Jena, 1920: 128.
- 83.** Kuska B. Beer, Bethesda, and biology: How “genomics” came into being. *J Natl Cancer Inst,* 1998; 90(2): 93.
- 84.** Siddik Yarman B, Gurkan H, Guz U, Aygün B. “A new modeling method of the ECG signals based on the use of an optimized predefined functional database” *Acta Cardiologica, Int J Cardiol* 2003; 58 (3): 59-61.

85. Alwine JC, Kemp DJ, Stark GR. Method for detection of specific RNAs in agarose gels by transfer to diazobenzyloxymethyl-paper and hybridization with DNA probes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1977; 74 (12): 5350–4.
86. Tefferi A, Wieben ED, Dewald WG, Whiteman DAH, Bernard ME, Spelsberg TC. Primer on Medical Genomics Part II: Background Principles and Methods in Molecular Genetics. *Mayo Clin Proc* 2002; 77: 785-808.
87. György Makro-Varga. Proteomics principles and challenges. *Pure Appl Chem*, 2004; 76(4): 829-37.
88. Coşkun T. Nutrisyonel genomik. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2007; 50: 47-66.
89. Hoffmann GF, Athanassopoulos S, Burlina AB, et al. Clinical course, early diagnosis, treatment, and prevention of disease in glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Neuropediatrics*. 1996;27(3):115-23. <https://doi.org/10.1055/s-2007-973761>
90. Kölker S, Garbade SF, Greenberg CR, et al. Natural history, outcome, and treatment efficacy in children and adults with glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Pediatr Res* 2006;59(6):840-7.
91. Kliegman, Robert, Richard E. Behrman, and Waldo E. Nelson. *Nelson textbook of pediatrics*. 20th edition. Elsevier Health Sciences. 2016, 676.
92. <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB0000491>
93. Dufour DR, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. II. Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis, and monitoring. *Clinical chemistry*. 2000;46(12):2050-68.
94. Healey CJ, Chapman RW, Fleming KA. Liver histology in hepatitis C infection: a comparison between patients with persistently normal or abnormal transaminases. *Gut*. 1995;37(2):274-8. Epub 1995/08/01.
95. Haber MM, West AB, Haber AD, Reuben A. Relationship of aminotransferases to liver histological status in chronic hepatitis C. *The American journal of gastroenterology*. 1995;90(8):1250-7. Epub 1995/08/01.
96. Tang F, Xie C, Huang D, Wu Y, Zeng M, Yi L, Wang Y, Mei W, Cao Y, Sun L. Novel potential markers of nasopharyngeal carcinoma for diagnosis and therapy. *Clinical biochemistry*. 2011;44:711–718.

97. Kim JW, Lee G, Moon SM, Park MJ, Hong SK, Ahn YH, Kim KR, Paik MJ. Metabolomic screening and star pattern recognition by urinary amino acid profile analysis from bladder cancer patients. *Metabolomics*. 2010;6:202–206.
98. Naumov VA, Generozov EV, Zaharjevskaya NB, Matushkina DS, Larin AK, Chernyshov SV, Alekseev MV, Shelygin YA, Govorun VM. Genome-scale analysis of DNA methylation in colorectal cancer using Infinium HumanMethylation450BeadChips. *Epigenetics: official journal of the DNA Methylation Society*. 2013;8:921–934.
99. Nanjo S, Asada K, Yamashita S, Nakajima T, Nakazawa K, Maekita T, Ichinose M, Sugiyama T, Ushijima T. Identification of gastric cancer risk markers that are informative in individuals with past *H. pylori* infection. *Gastric cancer: official journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association*. 2012;15:382–388.
100. HUR, Hoon, et al. Quantitative measurement of organic acids in tissues from gastric cancer patients indicates increased glucose metabolism in gastric cancer. *PLoS One*, 2014, 9.6: e98581.
101. <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/sebacic-acid>
102. Yu WM, Kuhara T, Inoue Y, Matsumoto I, Iwasaki R, Morimoto S. Increased urinary excretion of beta-hydroxyisovaleric acid in ketotic and non-ketotic type II diabetes mellitus. *Clin Chim Acta*. 1990;188:161–8.
103. ZDZISIŃSKA, Barbara; ŻUREK, Aleksandra; KANDEFER-SZERSZEŃ, Martyna. Alpha-ketoglutarate as a molecule with pleiotropic activity: well-known and novel possibilities of therapeutic use. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 2017, 65.1: 21-36
104. PHILIPPE, Icard; HUBERT, Lincet. The reduced concentration of citrate in cancer cells: an indicator of cancer aggressiveness and a possible therapeutic target. *Drug Resistance Updates*, 2016, 29: 47-53
105. SAN-MILLÁN, Iñigo; BROOKS, George A. Reexamining cancer metabolism: lactate production for carcinogenesis could be the purpose and explanation of the Warburg Effect. *Carcinogenesis*, 2017, 38.2: 119-133.

- 106.** Choi, S. W. Vitamin B₁₂ deficiency: a new risk factor for breast cancer? *Nutr Rev* 1999. 57:250–253.
- 107.** LACONI, Ezio, et al. Studies on liver tumor promotion in the rat by orotic acid: dose and minimum exposure time required for dietary orotic acid to promote hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis*, 1993, 14.9: 1771-1775

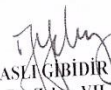


8. EKLER


EK.1. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 22/03/2019-E.13395

HARRAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ Etik Kurul Kararı	
TARİH	: 11.03.2019
OTURUM	: 03
SAAT	: 13:00

HRÜ/19.03.45	<p>Karar: Üniversitemiz Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Ataman GÖNEL'in yürütücüsü olduğu "Farklı Meme Kanseri Hücre Tiplerinin (MCF-7, MDA-MB-231,CRL-4010) Organik Asit Profiline İncelenmesi" başlıklı çalışma için Etik Kurul iznine gerek duyulmadığına.</p> <p>Oy birliği ile karar verilmiştir.</p> <p> ASEL GİBİDİR Prof. Dr. Zehra YILMAZ Etik Kurul Başkanı</p>
--------------	--

EK.2. Tez Çalışması Orjinallik Raporu ve Beyan Belgesi

	T.C. HARRAN ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
---	--

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU VE BEYAN BELGESİ

Öğrencinin	
Numarası	:145302006
Adı, Soyadı	:Mehmet ESEN
Anabilim Dalı (Bölümü)	:TIBBİ BİYOKİMYA
Programı	: <input checked="" type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input type="checkbox"/> Doktora
Tezin Adı:	“Farklı Meme Kanseri Hücre Tiplerinin (MCF-7, MDA-MB-231, CRL-4010) Organik Asit Profilinin İncelenmesi”

SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yukarıda başlığı belirtilen “Koroner arter bypass cerrahisi geçiren hastaların perikardiyal sıvısı ve plazmasında serbest aminoasit ve karnitin profilinin incelenmesi” adlı çalışmamın; *kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç* kısımlarından oluşan toplam 55 sayfalık kısmına ilişkin, 05/04/2019 tarihinde şahsım/ danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orjinallik raporuna göre, benzerlik oranı
%16

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç
- 3- Alıntılar hariç
- 4- 5 kelmeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Yukarıda bilgileri verilen tezin, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından kabul edilen lisansüstü orjinallik raporu alınması uygulama esasları ile belirlenen azami benzerlik oranlarını aşmadığını ve bütün bilgilerin, akademik kurallara uygun olarak toplanıp sunulduğunu, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçları andığımı, blok şeklinde alıntılar yapmadığımı ve tüm alıntılarım bilimsel atıf kuralları çerçevesinde kaynağımı gösterdiğimi, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ile Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesinin 8. maddesinde yer alan etik ihlallerden her hangi birisinin yer almadığımı, etik ihlal tespiti halinde, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca, diplomamın iptal edilmesini kabul ediyorum.

Gereğini saygılarımla arz ederim. 11.06/2019

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı-Soyadı: Mehmet ESEN

İmzası: 

Yukarıda yer alan raporun ve beyanın doğruluğunu onaylarım. 11.06/2019

Danışmanın

Unvanı-Adı-Soyadı: Dr. Öğr. Üyesi Ataman GÖNEL

İmzası: 

EK.3. İntihal Raporu

02.05.2019

Turnitin

Turnitin Originality Report					
Processed on: 02-May-2019 15:00 +03 ID: 1123490992 Word Count: 11642 Submitted: 1	<table border="1"><thead><tr><th>Similarity Index</th><th>Similarity by Source</th></tr></thead><tbody><tr><td>16%</td><td>Internet Sources: 11% Publications: 3% Student Papers: 9%</td></tr></tbody></table>	Similarity Index	Similarity by Source	16%	Internet Sources: 11% Publications: 3% Student Papers: 9%
Similarity Index	Similarity by Source				
16%	Internet Sources: 11% Publications: 3% Student Papers: 9%				
TEZ MEHMET ESEN By Mehmet Esen					

1% match (student papers from 10-Apr-2019) Class: aaa Assignment: aaa Paper ID: 1109602852
1% match (Internet from 01-Apr-2019) https://ratingacademy.com.tr/ica2018/wp-content/uploads/2019/01/FULL-BOOK.pdf
1% match (publications) DURAS, Ensar, TÜRKMENOĞLU, Yelda, DEVELİ, Bekir Yiğit, GÖZÜBÜYÜK, Atilla Alp, TOPAL, Özlem Evrim Göksoy and ÖZKAYA, Ozan. "Erken Yaşta Tanı Alan Bir Glutarik Asidüri Tip 1 Olgusu", Logos Yayıncılık, 2018.
1% match (Internet from 19-Apr-2019) http://www.deltanaliz.com.tr/saglikrehberi.asp?id=34
1% match (student papers from 15-Aug-2018) Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) on 2018-08-15
1% match (Internet from 31-Jan-2019) https://ailevecocuk.net/meme-kanser/
1% match (Internet from 02-Jun-2015) http://eunivsite.nku.edu.tr/kullanici dosyaları/1884/files/tan%C4%B1%C4%B1m%20sunusu.pdf
< 1% match (Internet from 11-Apr-2019) http://www.memecerrahisi.com.tr/ta/meme-kanser-tedavisiz
< 1% match (Internet from 01-Apr-2019) https://ardahanism.saglik.gov.tr/TR,82668/kelem-kanser-erken-teshis-tarama-ve-egitim-merkezi.html
< 1% match (Internet from 02-Mar-2019) http://www.memesaglik.com/hastalarimiz-icin-/meme-sagligi-kitapligi/154-meme-biyopsisi.html
< 1% match (Internet from 01-May-2012) http://iys.inonu.edu.tr/?web=ibtam&mw=2754&dil=tr
< 1% match (Internet from 13-Jul-2018) http://file.lookus.net/amhd/2017-Erken-Evre-Meme-Kanser-Kursu-1.pdf
< 1% match (student papers from 21-Sep-2018) Submitted to Üsküdar Üniversitesi on 2018-09-21
< 1% match (Internet from 31-May-2016) http://acikerisim.deu.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/12345/9951/304472.pdf?isAllowed=y&sequence=1
< 1% match (student papers from 27-Jun-2018) Submitted to Gaziantep Aniversitesi on 2018-06-27
< 1% match (Internet from 16-Apr-2018) http://docs.neu.edu.tr/staff/surdar.sus:ver/5%20metabolik%20%5BUyumluluk%20Modu%5D_93.pdf
< 1% match (Internet from 05-Oct-2014) http://dergipark.ulakbim.gov.tr/gppctd/article/download/5000016389/5000016263
< 1% match (Internet from 02-Oct-2016) http://tm.istanbul.edu.tr/?p=8677&upm_export=print
< 1% match (student papers from 27-Feb-2018) Submitted to Harran Üniversitesi on 2018-02-27
< 1% match (student papers from 14-Jan-2016) Submitted to Harran Üniversitesi on 2016-01-14
< 1% match (Internet from 11-Oct-2018) https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10495-018-1473-8
< 1% match (publications)

https://www.turnitin.com/newreport_printview.asp?eq=0&eb=0&esm=0&oid=1123490992&sid=0&n=0&m=2&svr=322&r=15.730402857788928&l... 1/15

EK.4. Tez Veri Giriş Formu

12.07.2019

Ulusal Tez Merkezi | Tez Form Yazdır

T.C.
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No	10268512
Yazar Adı / Soyadı	MEHMET ESEN
T.C.Kimlik No	58282475528
Telefon	5075171561
E-Posta	esenmehmet1@gmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	FARKLI MEME KANSERİ HÜCRE TİPLERİNİN (MCF-7, MDA-MB-231, CRL-4010) ORGANİK ASİT PROFİLİNİN İNCELENMESİ
Tezin Tercümesi	INVESTIGATION OF THE ORGANIC ACID PROFILE OF DIFFERENT BREAST CANCER CELL TYPES (MCF-7, MDA-MB-231, CRL-4010)
Konu	Biyokimya = Biochemistry
Üniversite	Harran Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Bilim Dalı	Biyokimya Bilim Dalı
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2019
Sayfa	98
Tez Danışmanları	DR. ÖĞR. ÜYESİ ATAMAN GÖNEL DOÇ. DR. NİHAYET BAYRAKTAR DR. ÖĞR. ÜYESİ MUSTAFA ÖRKMEZ
Dizin Terimleri	
Önerilen Dizin Terimleri	

12.07.2019

İmza:.....