

Meme Kanserinde MDA, ZN ve GSH Düzeyleri

MDA, ZN and GSH Levels in Breast Cancer

Tülin Ayşe Özden* Beyhan Ömer** Günay Saner* Haluk Saner***
Mahmut Müslümanoğlu**** Sıtkı Tuzlal*****

* İstanbul Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü Eser Element Ünitesi, İstanbul

** İstanbul Tıp Fakültesi, Biokimya Anabilim Dalı, İstanbul

*** Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul

**** İstanbul Tıp Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul

***** İstanbul Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul

ÖZET

Amaç: Meme kanseri, tüm kadınlarda, özellikle endüstriyel ülkelerdeki kadınlarda çok sık görülen kanser türüdür. Heterojen ve kompleks bir hastalık olup genetik, diet ve çevresel faktörlerden etkilenir. Bu çalışma, meme kanserinde oksidatif stres ile GSH ve/veya Zn düzeyleri arasında bir ilişkinin olup olmadığını araştırmak ve selim meme hastalığını, kanser riski açısından değerlendirmek için planlandı.

Gereç ve Yöntem: Bu amaç için, 25 meme kanserli kadının tümör ve komşu normal meme dokusu ile 14 selim meme hastalıklı kadının biopsi örneklerinde; lipid peroksidasyon göstergesi olarak malondialdehid (MDA), glutatyon (GSH) ve çinko (Zn) düzeyleri tayin edildi.

Bulgular: Bulgularımıza göre; Kanserli dokuda, normal meme dokusuna göre kıyaslandığında MDA ve GSH düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı, buna karşılık Zn değerlerinin anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. Selim meme hastalıklı dokuda, MDA ve GSH düzeylerinin kanserli dokuya göre anlamlı olarak arttığı fakat normal dokudan düşük olduğu; buna karşılık Zn düzeylerinin ise kanserli dokudan düşük, normal dokudan yüksek olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Bulgularımız selim meme hastalığının meme kanseri gelişiminde yüksek riske sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: Meme kanseri, Selim Meme Hastalığı, Malondialdehid, Glutatyon, Çinko

ABSTRACT

Objective: Breast cancer is one of the most frequent types of cancers seen in women, especially in industrial societies. It is a heterogeneous and complex disease affected by genetic, diet and environmental factors. This study intends to investigate if there is a significant relation between the oxidative stress and the glutathione (GSH) and/or zinc (Zn) levels in breast cancer (BC) and to determine the cancer risk of the benign breast disease (BBD).

Material and Methods: For this reason, malignant tissue specimens and the adjacent normal tissue specimens were taken from 25 patients having BC. Tissue specimens were also obtained from 14 patients having BBD. Zn, GSH and MDA levels in the tissue samples are assessed to be the indicators of lipid peroxidation.

Results: Our study has shown that there are statistically significant decreases in MDA and GSH levels but an increase in Zn levels in malignant tissues of BC when compared with the adjacent normal

tissues. MDA and GSH levels were found to be significantly higher in benign breast disease tissues than breast cancer tissues, but lower than normal tissues. On the other hand, Zn levels have shown just an opposite variation with respect to MDA and GSH levels.

Conclusion: Our findings have suggested that the patients with BBD might show an increased risk from the point of BC.

Key Words: Breast Cancer, Benign Breast Disease, Malondialdehyde, Glutathione, Zinc

GİRİŞ

Meme kanseri tüm k adınlarında, özellikle endüstriyel ülkelerdeki kadınlarda çok sık görülen kanser türüdür. Heterojen ve kompleks bir hastalık olup genetik, diet ve çevresel faktörlerden etkilenir (1-5).

Serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidler normal metabolik olaylar sırasında veya çevresel faktörlerin etkisiyle oluşur. Serbest oksijen radikalleri başlıca; superoksid dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz, katalaz gibi enzimatik ve glutatyon (GSH), - tokoferol ve C-vitamini gibi enzimatik olmayan çeşitli antioksidanlarla uzaklaştırılır (6-8). Serbest radikal oluşum hızı ile onların antioksidan sistemlerle etkisizleştirme hızı dengede olduğu sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmez. Serbest oksijen radikallerinin aşırı oluşumu lipid peroksidasyon, mutajenez ve karsinojenizle sonuçlanan biyomoleküllerde oksidatif hasara neden olur (9). GSH, antioksidan korumadan hücre proliferasyonunun düzenlenmesine kadar çok sayıda fonksiyona sahip hücre içi önemli bir peptiddir (10).

Çinko (Zn) hem karsinojenik hem de anti-karsinojenik role sahiptir. Zn bir taraftan serbest radikal hasarına karşı koruyarak karsinojenizi inhibe eder, diğer taraftan gen transkripsiyonu ve hücre proliferasyonundaki rolü nedeniyle tümör büyümesi için gereklidir (6, 11-13). Meme tümör dokusunda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistemle ilgili çalışmaların sonuçları tartışmalıdır. Lipit peroksid düzeylerinin arttığını bildiren çalışmaların yanında azaldığını bildiren çalışmalar da vardır (9, 14-16).

Bu çalışma, meme kanserli dokularda oksidatif stres ile GSH ve Zn arasında bir ilişki-

nin olup olmadığını araştırmak ve selim meme hastalığındaki olası bir değişikliği saptamak için planlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Olguların seçimi ve Örneklerin alınışı

Bu çalışmada kullanılan olgular; İstanbul ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi birimlerine başvuran, radyolojik ve histopatolojik incelemelerle selim meme hastalığı veya meme kanseri tanısı konmuş hasta gruplarından oluşmuştur. Bu olgularda çalışma göstergelerini etkileyecek başka bir patoloji olmamasına dikkat edilmiştir.

Çalışma grupları; yaşları 20-76 arasında değişen (49.14 ± 3.25) 14 selim meme hastalıklı (10 fibrokistik, 4 fibrozis) ve yaşları 32-74 arasında değişen (52.36 ± 12.52) 25 meme kanserli (21 duktal, 2 metaplastik, 2 lobular karsinom) hastadan oluşmuştur.

Meme kanserli hastaların tümör ve tümör dışındaki normal meme dokusundan alınan doku örnekleri (14) ile selim meme hastalığı tanısı konulan hastalardan alınan biyopsi örnekleri özel kaplar içinde buza konularak laboratuvara ulaştırıldı. Analiz yapılacak güne kadar -35°C 'de derin dondurucuda saklandı. Çalışmalarda kullanılan doku saklama kapları ve payreks cam kaplar, İsoclean[®], ile 60°C 'de 1 saat ultrasonik yıkayıcıda yıkandı ve durulandı. Bir gece %10 HNO₃'de bekletildi. 4-5 defa taze bidistile su ile yıkayıp etüvde kurutuldu.

Yöntemler

Dokuda Zn tayini

Dokular sabit tartıma gelmiş kapaklı payreks cam kaplara tartılarak konuldu. 100°C 'de

36 saat tutularak sabit tartıma getirildi. Dietil eter, petrol eter karışımı (1/1) ile 3 defa ekstrakte edildi. 100°C' de tekrar sabit tartıma gelmesi sağlandı. Polipropilen tüplere tartılarak alınan kuru doku örneklerine %30'luk H₂O₂'ten 1 ml konularak 70°C'de 16 saat bekletildi. Bu işlem dokunun parçalanma durumuna göre 2 veya 3 kez tekrarlandı. Tüpte kalan materyalin üzerine 0.5 M'lık 2 ml HNO₃ konularak homojen hale gelmesi sağlandı (18-22). Bu homojen doku örneklerindeki Zn düzeyleri 100, 200, 300, 400, 500 ng/ml çalışma standartlarına (Fisher Scientific Company, New Jarsey, USA) göre kalibre edilen Varian marka atomik (Varian spectra AA-200) absorpsiyon spektrofotometresinde 213.9 nm dalga boyu ve slit aralığı 1'de asetilen gazı kullanılarak ölçüldü.

Dokuda MDA ve GSH tayini

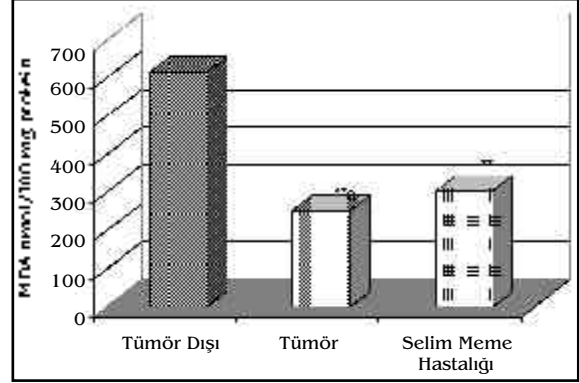
Dokulardan, soğuk 0.15M KCl içinde %10' luk (w/v) homojenat hazırlandı. Homojenatta MDA düzeyi Okhava yöntemine göre, GSH düzeyi ise Ellman yöntemine göre çalışıldı (23,24). Homojenat proteini Folin- Lowry (25) yöntemi ile ölçülerek MDA ve glutatyon değerleri de 100 mg protein başına ifade edildi (9).

İstatistiksel incelemerde Man Whitney-U, Student-t testi ve Spearman korelasyon testleri kullanıldı.

BULGULAR

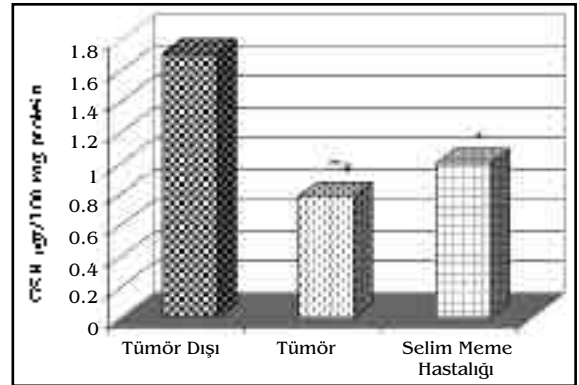
Normal, kanserli ve selim meme hastalıklı dokuda ölçülen MDA, GSH ve Zn düzeylerinin ortalama değerleri Tablo 1 ve Şekil 1, 2,3'te gösterilmiştir. Selim meme hastalıklı ve meme kanserli hasta gruplarımızın farklı

patalojik tipleri arasında GSH, MDA ve Zn düzeyleri arasında istatistiksel farklılık bulunmamıştır. Lipid peroksidasyon göstergesi olarak ölçülen MDA değerleri tümör dokusunda, tümör dışı normal meme dokusu ve selim meme hastalıklı dokuya göre ($p<0.001$, $p<0.05$), selim meme hastalıklı dokunun MDA değerleri



Şekil 1. Tümör, tümör dışı ve selim meme hastalıklı dokularda malondialdehid (MDA) düzeyleri.

Tümör dışı doku ile karşılaştırılması: ** $p<0.001$
Selim meme hastalıklı doku ile karşılaştırılması: ^a $p<0.05$



Şekil 2. Tümör, tümör dışı ve selim meme hastalıklı dokularda glutatyon (GSH) düzeyleri.

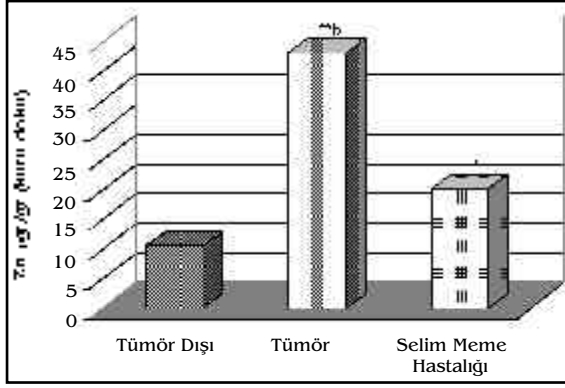
Tümör dışı doku ile karşılaştırılması: * $p<0.01$, ** $p<0.001$
Selim meme hastalıklı doku ile karşılaştırılması: ^a $p<0.05$

Tablo 1. Tümör, tümör dışı ve selim meme hastalıklı dokularda malondialdehid (MDA), glutatyon (GSH) ve çinko (Zn) düzeyleri (Ort ± SD).

	Tümör Dışı	Tümör	Selim Meme Hastalığı
MDA (nmol/100 mg protein)	615.7 ± 485 (n = 19)	250.1 ± 260** (n = 19)	302.8 ± 263** (n = 11)
GSH (µg/100 mg protein)	1.7 ± 1.7 (n = 21)	0.8 ± 0.6** ^a (n = 21)	1.0 ± 0.8* (n = 12)
Zn (mg/gr kuru doku)	10.5 ± 8.1 (n = 25)	43 ± 28* (n = 25)	20.1 ± 3.9* (n = 14)

Tümör dışı doku ile karşılaştırılması: * $p<0.01$, ** $p<0.001$

Selim meme hastalıklı doku ile karşılaştırılması: ^a $p<0.05$, ^b $p<0.01$



Şekil 3. Tümör, tümör dışı ve selim meme hastalıklı dokularda çinko (Zn).

Tümör dışı doku ile karşılaştırılması: ** $p < 0.001$
Selim meme hastalıklı doku ile karşılaştırılması: ^b $p < 0.05$

nin ise tümör dışı normal meme dokusuna göre ($p < 0.001$) anlamlı azaldığı görülmüştür.

Tümör doku GSH düzeyleri normal ve selim meme hastalıklı dokuya göre kıyaslandığında anlamlı azalmış olduğu ($p < 0.001$, $p < 0.05$), buna karşılık Zn düzeylerinin anlamlı olarak yükseldiği ($p < 0.001$, $p < 0.01$) saptanmıştır. Yine selim meme hastalıklı dokunun GSH düzeyleri tümör dışı normal meme dokusuna göre anlamlı azalırken ($p < 0.01$), Zn düzeylerinin anlamlı arttığı ($p < 0.01$) gözlenmiştir.

Spearman Korelasyon testine göre tümör ile normal doku Zn düzeyleri arasında ve tümör ile normal doku MDA düzeyleri arasında pozitif korelasyon görüldü ($r = 0.510$, $p = 0.010$, $r = 0.500$, $p = 0.029$, sırasıyla).

TARTIŞMA

Normal meme dokusunun kanser hüresine dönüşmesi çok aşamalı, karmaşık bir süreçtir. Meme karsinogenezinin karmaşık özellikleri tümörlerin biyolojik özelliklerine de yansır. Bu özelliklerin bir bölümü hastalığın klinik gidişine ışık tutması açısından tanıda önem taşır (2-5).

Bir selim meme hastalığı türü olan fibro-kistik hastalığa sahip kadınlarda meme kanseri riskinin 1.86-2.13 kat arasında değiştiği bildirilmiştir (26,27).

Bazı araştırmacılar lipid peroksidlerinin karsinogenezin başlama safhasında (28-30) bazıları

ise kanserin gelişme ve ilerlemesinde (31) etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ancak peroksidasyon olayı ve neoplazmanın büyümesi arasındaki bağlantının yapısı tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar lipid peroksidlerinin neoplastik dokularda ve neoplazili hastaların kan plazmasında arttığını (9,14,16) bildirirken, diğerleri neoplastik hücrelerde ve dokularda ve hatta hızlı bölünen normal hücrelerde de düşük düzeyde görülebileceğini bildirmişlerdir (8,9,15,33). Bu nedenle lipid peroksidlerinin özellikle tümör hücrelerinin proliferasyonunda çok önemli rol oynadığı, hücre bölünmesi için gerekli olan çeşitli hücre olaylarını ve siklüs fazlarını inhibe ederek tümör büyümesini baskıladığı ileri sürülmüş ve lipid peroksidlerindeki azalmanın tümör büyümesini kolaylaştırmada etken rolü olabileceği düşünülmüştür (7).

Bizim çalışmamızda da kanserli dokuda MDA düzeylerinin azaldığı bulunmuştur. GSH tüm hücrelerde yüksek konsantrasyonda bulunan hücre içi bir antioksidandır (10) ve pekçok önemli fonksiyonel role sahiptir. GSH, bir taraftan serbest radikallerin genotoksik etkilerine karşı hücreyi korurken diğer taraftan immün fonksiyonun devamlılığını sağlayarak neoplazmaya karşı koruyucudur (10,34). Oksidatif ve serbest radikal hasarı, karsinogenez ve mutajenezde önemli faktörler olarak kabul edilmektedir (34). Bozulmuş GSH durumu kanser, diyabet, alkolik karaciğer hastalığını da kapsayan çok sayıda hastalıkların patogenezinde rol oynar (10,34).

Çalışmamızda lipid peroksidlerinin yanı sıra GSH'ında azaldığı ve GSH düzeylerinde hastalar arasında büyük değişkenlik bulunduğu gözlenmiştir. Gelişmiş tümör dokusunda bu azalmanın muhtemelen sentezin azalmasından veya kullanımının artmasından kaynaklanabileceğini düşündürmüştür. Literatürlerde kanserli meme dokusunda GSH düzeylerine ait bulgular çelişkindir. Bazı araştırmacılar GSH düzeylerini yüksek bulurken (14,35) diğerleri değişmediğini hatta azaldığını bulmuşlardır (36). Dolayısıyla GSH düzeyleri ile meme kanseri arasında ki ilişki tartışmalıdır.

Bazı çalışmalarda belirtildiği gibi (14,35) bizim çalışmamızda da selim meme hastalıklı ve meme kanserli hasta gruplarımızın farklı patolojik tipleri arasında GSH, MDA ve Zn düzeyleri arasında istatistiksel farklılık bulunmamıştır.

Zn, DNA ve RNA polimerazın yapısında bulunması nedeniyle tüm hızlı büyüyen insan dokularında çok önemli bir elementtir. Normal ve kanser hücrelerinin büyümesi için hem modülatör hem de koruyucu bir role sahiptir (37). Cavallo ve ark. (38) yaptıkları çalışmada meme kanseri ile artan Zn girişi arasında bir ilişki olduğunu bu elementin tümör büyümesinde önemli bir role sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda tümör dokusu Zn düzeyini yüksek bulduk bu diğer çalışmaların bulgularını desteklemektedir (17,39,40).

Selim meme dokusuna ait bulgularımızı tümör dışı normal meme dokusuyla kıyasladığımızda tümör dokusuna paralel olarak lipid peroksitlerin ve GSH'ın düşük fakat Zn'nun yüksek olduğu görülmüştür. Bulgularımız bu hastaların meme dokusunda hücrel aktivitenin, kan akımının değiştiğini ve Zn transportunun arttığını göstermektedir. Bütün bu bulgular selim meme hastalığı bulunan kişilerde meme kanseri riskinin artabileceğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Haskel CM and Casciato DA. Breast Cancer. Eds: A. Casciato, Barry Blowitz, 3. edition, pp: 183-199, Little Brown Inc., Boston, 1995.
2. Rizk SL, Sky-peck, HH. Comparison between concentrations of trace elements in normal and neoplastic human breast tissue. Cancer Res 1994; 44: 5390-5394.
3. Song KM, Madalene C, Heng Y, Rolandelli R, Ament EM, Heng KM. Possible link between zinc intake and colon cancer. J Natl Cancer Inst 1993; 85: 667-669.
4. Osborne C, Wilson P, Tripathy D. Oncogenes and tumor suppressor genes in breast cancer: potential diagnostic and therapeutic applications. Oncologist 2004; 9: 361-377.

5. Russo J, Hu YF, Yang X, Russo IH. Developmental, cellular and molecular basis of human cancer. J Natl Cancer Inst Monogr 2000; 27: 17-37.
6. Coates RJ, Weiss NS, Daling JR, Rettmer RL, Warnic GR. Cancer risk in relation to serum copper levels. Cancer Res 1989; 49: 4353-4356.
7. Gonzalez MJ. Lipid peroxidation and tumor growth: an inverse relationship. Med Hypotheses 1992; 38: 106-110.
8. Gromadzinka J, Wasowichz, W., Andrijewski, M., Sklodowska M, Quispe OZ, Wolkanin P, Olboroski B, Pluzanka A. Glutathione and glutathione metabolizing enzymes in tissue and blood of breast cancer patients. Neoplasma 1997; 44: 45-51.
9. Kumaraguruparan R, Subapriya R, Viswanathan P, Nagini S. Tissue lipid peroxidation and antioxidant status in patients with adenocarcinoma of the breast. Clin Chimica Acta 2002; 325: 165-170.
10. Lu SC. Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concept and controversies. Faseb J 1999; 13: 1169-1183.
11. Magalova T, Bella V, Babinska K, Brtkova A, Kudlackova M and Bederova A. Zinc and copper in breast cancer "Therapeutic Uses of Trace Elements" Eds: Neve et al, pp:373-375, Plenum Press, New York, 1996.
12. Mipsemb NG, Bradley DA, Looi LM. Elevated trace element concentrations in malignant breast tissue. Brit J Radiol 1997; 70: 375-382.
13. Paynter DI. The role of dietary copper, manganese, selenium, and vitamin E in lipid peroxidation in tissues of the rat. Biol Trace Elem Res 1980; 2: 121-135.
14. Coban T, Mabsout A, Eke BC, Bulbul D, Berberoğlu U, Iscan M. Glutathione and lipid peroxidation levels in human breast tumors. Neoplasma 1998; 45(3): 151-6.
15. Punnonen K, Ahotupa M, Asaishi K, Hyoty M, Kudo R, Punnonen R. Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in human breast cancer. J Cancer Res Clin Oncol 1994; 120(6): 374-7.
16. Portakal O, Özkaya Ö, Erdem IM, Bozan B, Koşan M, Sayek İ. Coenzyme Q10 Concentrations and Antioxidant Status in Tissues of Breast Cancer patients. Clinical Biochemistry 2000; 33(4): 279-84.
17. Kuo HW, Chen SF, Wu CC, Chen DR, Lee JH. Serum and tissue trace elements in patients with breast cancer in Taiwan. Biol Trace Elem Res 2002; 89 (1):1-11.
18. Chou PP. Zinc "Methods in Clinical Chemistry" Ed: Amadeo J. Pesce, Lawrence A. Kaplan, pp: 596-602, The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1987.
19. Clegg MS, Keen CL, Lonnerdal B and Hurley LS. Influence of ashing techniques on the analyses of

- trace elements in animal feed and tissue. *Biol Trace Elem Res* 1981; 3: 107-113.
20. Chang C and Bloom S. A simple ashing method for determination of magnesium and calcium in laboratory animal feed and tissue. *J Am Coll Nutr* 1983; 2: 149-152.
21. Alcock NW. Flame and flameless atomic absorption spectrophotometry: application to the measurement of tissue Zinc. In Frederickson, CJ, Howel, GA, and Kasarski, EJ, ed: *The neurobiology of zinc. Part A. Physicochemistry, anatomy and techniques*, New York, 1984, Alan R. Liss, Inc., pp. 305-316.
22. Alcock NW. A Simple rapid tissue digestion procedure for analysis for selenium and other trace metals. *Proc. Third International symposium on Selenium in Biology and Medicine*. Beijing, China. 1984.
23. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, 70-77, 1959 Eds: Amadeo J. Pesce, Lawrence A. Kaplan, pp: 527-538, The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1987.
24. Ohkava H, Ohishi N and Yogi K. Assay for Lipid peroxidase in animal by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
25. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randal RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 351-358.
26. Dupont WD, Page DL. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N Engl J Med* 1985; 312: 146-151.
27. Love SM, Gelman RS, Silen W. Fibrocystic disease of the breast-A nondisease. *N Eng J Med* 1982; 307: 1010-1014.
28. Ames BN, Hollstein MC, Cathcart S. Lipid peroxidation and oxidative damage to DNA "Lipid peroxidation in Biology and Medicine" Ed: Yagi K. pp: 339-351, Academic Press New York, 1982.
29. Anghileri LJ. Iron, intracellular calcium and carcinogenesis. *Anticancer Res* 1995; 15: 1395-1400.
30. Ömer B, Akköse A, Kolanç Ç, Öner P, Özden İ, Tuzlalı S. Inhibition of mammary carcinogenesis in rats by parenteral high-dose vitamin E. *J Nat Cancer Inst* 1997; 89: 972-973.
31. Köksoy C, Kavas GO, Akçıl E, Kocatürk PA, Kara S, Özarlan C. Trace elements and superoxide dismutase in benign and malignant breast disease. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 45: 1-6.
32. Boyd NF, McGuire V. The possible role of lipid peroxidation in breast cancer risk. *Free Radical Biol Med* 1991; 10: 185-190.
33. Oberly LW, Buettner GR. Role of superoxide dismutase in cancer. *Cancer Res* 1979; 38: 1141-1149.
34. Richie JP Jr. The Role of glutathione in aging and cancer. *Experimental Gerontology* 1992; 27: 615-626.
35. Perry RR, Mazetta JA, Levin M, Barranco SC. Glutathione levels and variability in breast tumors and normal tissue. *Cancer* 1993; 72: 783-787.
36. Gromadzinska J, Wasowicz W, Andrijewski M, Sklodowska M, Quispe OZ, Wolkanin P, Olborski B, Pluzanska A. Glutathione and glutathione metabolizing enzymes in tissues and blood of breast cancer patients. *Neoplasma* 1997; 44: 45-51.
37. Singh V and Garg AN. Trace element correlations in the blood of Indian women with breast cancer. *Biol Trace Elem Res* 1998; 64: 237-245.
38. Cavallo F, Gerber M, Marubini E, et al. Zinc and copper in breast cancer. A Joint study in northern Italy and southern France. *Cancer* 1991; 67: 738-745.
39. Geraki K, Farquharson MJ, Bradley DA. Concentrations of Fe, Cu and Zn in breast tissue: a synchrotron X-ray study. *Phys Med Biol* 2002; 7: 47(13): 2327-39.
40. Garg AN, Singh V, Weginwar RG, Sagdeo VN. An elemental correlation study in cancerous and normal breast tissue with successive clinical stages by neutron activation analyses. *Biol Trace Elem Res* 1994; 46(3): 185-202.

Yazışma adresi:

Biokimya Uzm. Dr. Tülin Ayşe Özden
İstanbul Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü,
Eser Element Ünitesi
34093 Çapa, İstanbul
Tel : 0 212 414 20 00 /31643
Faks : 0 212 631 39 97
GSM : 0 532 412 81 66
e-mail: tulozden@istanbul.edu.tr,
tulnozden@yahoo.com.
