

## **Lack of the association between single nucleotide polymorphism (L55M) in PON1 gene and susceptibility With Breast Cancer in Markazi Province**

Hamta Ahmad<sup>1</sup>, Ansari jamshid<sup>2</sup>, Bayati Zahra<sup>3\*</sup>

1- Assistant Professor, Department of Biology, Arak University, Arak, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Radiology and Oncology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

3- Department of Biology, Portion of Genetic, Arak University, Arak, Iran.

Received: 18 Jan 2016, Accepted: 9 March 2016

### **Abstract**

**Background:** Breast cancer is both the prevailing malignancy and the most common cause of cancer death among women. Many factors may play a role in the susceptibility to the breast cancer and Oxygen Free Radicals may be one of these. There are various known antioxidant systems against oxidative stress, including ParaonaseI. The aim of this study was to investigate the association between rs854560 polymorphism in the PON1 gene in patients with breast cancer.

**Materials and Methods:** We performed genotyping analysis using polymerase chain reactionrestriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) assay in a case-control study of 83 confirmed breast cancer patients and 100 cancer-free controls in Markazi Province.

**Results:** In our study of the PON1 gene L55M polymorphism, the LL genotype was found in 2 (2.40%) patients, whereas the LM genotype was found in 69 (83.13%) patients. The MM genotype was present in 12 (14.45%) patients. In the control group, LL, LM and MM genotypes were found in 4 (4%), 81 (81%), and 15 (15%) subjects, respectively. There was no statistically significant difference between patient and control groups in terms of the PON1 gene L55M polymorphism ( $p= 0.825$ ). Allele distributions were different but this difference did not reach statistical significance ( $p= 0.920$ ).

**Conclusion:** We found no association between M55L polymorphism and breast cancer.

**Keywords:** breast cancer, oxidative stress, Paraonase1, Single Nucleotide Polymorphism

\*Corresponding Author:

Address: Department of Biology, Arak University, Arak, Iran

Email: zbayaty1394@gmail.com

## عدم ارتباط بین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (L55M) ژن پاراکساناز ۱ و خطر ابتلا به سرطان پستان در استان مرکزی

احمد همتا<sup>۱</sup>، جمشید انصاری<sup>۲</sup>، زهرا بیاتی<sup>۳\*</sup>

۱- استادیار، گروه زیست شناسی، بخش ژنتیک، دانشگاه اراک، اراک، ایران

۲- استادیار، گروه رادیوتراپی و آنکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، بخش ژنتیک، دانشگاه اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۹

### چکیده

**زمینه و هدف:** سرطان پستان هم بدخیمی غالب وهم شایع ترین علت مرگ ناشی از سرطان در میان زنان است. عوامل بسیاری ممکن است در ابتلا به سرطان پستان نقش داشته باشند و رادیکال های آزاد اکسیژن ممکن است یکی از این عوامل باشد. سیستم های آنتی اکسیدان مختلف در برابر استرس اکسیداتیو، از جمله پاراکسوناز ۱ وجود دارد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم rs854560 در ژن PON1 در بیماران مبتلا به سرطان پستان است.

**مواد و روش ها:** ما تجزیه و تحلیل ژنوتیپی با استفاده از روش PCR-RFLP در یک مطالعه مورد شاهدهی از ۸۳ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۱۰۰ نفر غیر مبتلا به سرطان در جمعیت ایرانی انجام دادیم.

**یافته ها:** در مطالعه ما روی پلی مورفیسم L55M ژن پاراکساناز ۱، ژنوتیپ LL در ۲ (۲/۴۰ درصد) بیمار یافت شد، در حالی که ۶۹ بیمار (۸۳/۱۳ درصد) ژنوتیپ LM داشتند. ژنوتیپ MM در ۱۲ بیمار (۱۴/۴۵ درصد) وجود داشت. در گروه شاهد ژنوتیپ LL، LM و MM در ۴ (۴ درصد)، ۸۱ (۸۱ درصد)، ۱۵ (۱۵ درصد) افراد یافت شد واز لحاظ آماری تفاوت معنی داری بین دو گروه بیمار و شاهد از نظر پلی مورفیسم L55M ژن پاراکساناز ۱ وجود نداشت (p=۰/۸۲۵). توزیع آلی متفاوت بود، اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نیست (p=۰/۹۲۰).

**نتیجه گیری:** ما بین پلی مورفیسم M55L و سرطان پستان ارتباطی پیدا نکردیم.

**واژگان کلیدی:** سرطان پستان، استرس اکسیداتیو، پاراکساناز ۱، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی

\*نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشکده علوم اراک

Email: zbayaty1394@gmail.com

## مقدمه

سرطان پستان بدخیمی غالب و شایع‌ترین علت مرگ ناشی از سرطان در میان زنان در کشورهای غربی می‌باشد (۱). در ایران سرطان پستان از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر در زنان می‌باشد. در چهاردهه اخیر میزان بروز سرطان پستان در ایران کمتر از دیگر نقاط آسیا بوده در حالی که در طی دهه اخیر شیوع این سرطان در زنان ایرانی رشد بالایی داشته است. علاوه بر آن در زنان ایرانی سن ابتلا به سرطان پستان حداقل یک دهه جوان‌تر از سن ابتلا در زنان در کشورهای پیشرفته می‌باشد (۲).

عوامل اتیولوژی دخیل در بروز سرطان پستان متعدد می‌باشد از جمله استروژن (۳، ۴)، عوامل تغذیه، شیوه زندگی، مواد شیمیایی محیطی سرطان‌زا و هم چنین استرس اکسیداتیو و کربونیل (۵-۸)، نقش بسیار مهمی در پاتوژنز و پیشرفت سرطان بازی می‌کند.

استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد با افزایش خطر ابتلا به انواع مختلفی از سرطان مرتبط شده‌اند. بدن انسان دارای تعداد زیادی از سیستم‌های مهارکننده رادیکال‌های آزاد درونی از جمله PON1 می‌باشد. PON1 به HDL متصل و به سم زدایی ترکیبات ارگانوفسفرها مانند پاراکسون، و رادیکال‌های محلول در چربی سرطان‌زا حاصل از پراکسیداسیون لیپید کمک می‌کند (۹).

خانواده ژن پاراکساناز در انسان دارای سه عضو PON1، PON2 و PON3 می‌باشد که پشت سرهم روی بازوی بلند کروموزوم ۷ ردیف شده‌اند (۱۰).

دو پلی مورفیسم شایع در منطقه کد کننده ژن PON1 عبارتند از L55M که در اگزون ۳ و Q192R که در اگزون ۶ قرار گرفته‌اند. نشان داده شده است که جایگزینی متیونین (M) به جای لوسین (L) در موقعیت ۵۵ (L55M) بر مقدار آنزیم اثر گذار بوده است (۱۱).

پارااکسوناز ۱ (PON1) پروتئینی با وزن ملکولی ۴۳KDa-۴۵ و حاوی ۳۴۵ اسید آمینه می‌باشد (۱۲).

ساختار سه بعدی PON1 دارای یک جایگاه فعال و ۶ پره بتا ( $\beta$ -propeller) بوده و وابسته به  $Ca^{2+}$  است و با

جذب آن ساختار و عملکرد کاتالیتیکی آنزیم به هم می‌ریزد (۱۳).

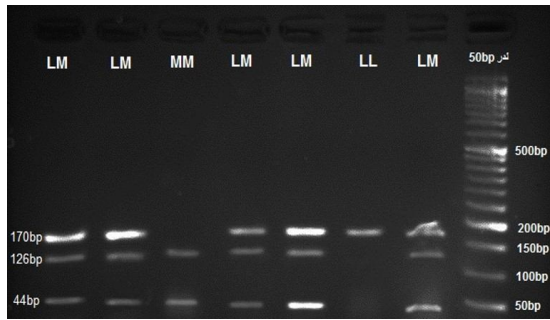
در ابتدا محققان تصور می‌کردند که آنزیم PON1 فقط ترکیبات فسفات آلی مثل پاراکسون را سم زدایی می‌کند و نام آن را طبق سویسترای آن پاراکسوناز نامیدند (۱۴). اما بعدها متوجه شدند که عمل عمده این آنزیم مقابله با رادیکال‌های آزاد و مهار تنش‌های اکسیداتیو می‌باشد. این آنزیم به همراه سایر آنزیم‌ها و مواد آنتی‌اکسیدان در بدن یک سد دفاعی قوی در برابر مواد اکسید کننده تولید شده ایجاد می‌کنند. مواد اکسید کننده ممکن است در خود بدن در مسیرهای متابولیکی اکسایش - احیا تولید شود که مهم‌ترین آن پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) است و یا در اثر مصرف چربی‌های اکسید شده به وجود آید (۹).

تفاوت‌های نژادی و جغرافیایی در میزان خطر ابتلا و ویژگی‌های بالینی سرطان پستان موثر است و به همین منظور در مطالعه حاضر به بررسی ارتباط پلی مورفیسم L55M در ژن پاراکساناز ۱ با سرطان پستان در جمعیت زنان استان مرکزی پرداخته شد.

## مواد و روش‌ها

افراد مورد بررسی در دو گروه مورد و شاهدی بودند. گروه مورد شامل ۸۰ خانم مبتلا به سرطان پستان تایید شده توسط پاتولوژیست و گروه شاهد شامل ۱۰۰ خانم سالم بدون سابقه سرطان با میانگین سنی مشابه با گروه مورد بودند. اطلاعات دموگرافیک افراد شامل سن، تاهل، شغل، سابقه خانوادگی سرطان پستان و... از طریق پرسش‌نامه جمع‌آوری شد. سپس با رضایت کتبی افراد و طبق اصول اخلاقی پژوهش، ۲ سی‌سی خون در لوله‌های حاوی EDTA جمع‌آوری شد. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک مورد تایید قرار گرفت (IR.ARAKMU.REC.1394.163).

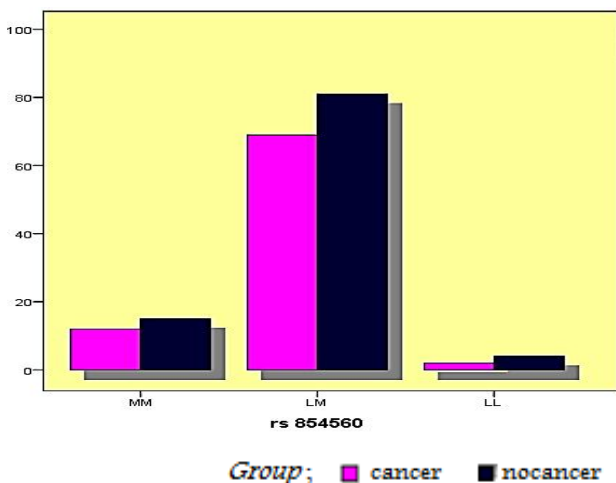
استخراج DNA ژنومیک: DNA ژنومیک این افراد از لکوسیت‌های خون محیطی به روش salting out



در تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها ابتدا توسط پرایمرهای ذکر شده با استفاده از تکنیک PCR تشدید گردید: محصولات PCR توسط آنزیم NlaIII مورد هضم آنزیمی قرار گرفت و سپس توسط تکنیک الکتروفورز با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد قطعات حاصل از هضم آنزیمی از یکدیگر تفکیک شدند (شکل ۱).

شکل ۱. PCR-RFLP جهت تعیین ژنوتیپ افراد و بررسی پلی مورفیسم L55M. افراد با ژنوتیپ LL با تک باند ۱۷۰bp، افراد با ژنوتیپ MM با باندهای ۱۲۶bp و ۴۴bp و در نمونه‌های هتروزیگوت LM هر سه باند ۱۷۰bp، ۱۲۶bp و ۴۴bp دیده می‌شود.

در پلی مورفیسم rs584560 در بیماران سرطانی و کنترل به ترتیب توزیع ژنوتیپی برای ژنوتیپ LL، LM و MM ۲/۴۱ و ۸۳/۱۴ و ۱۴/۴۵ درصد محاسبه شد (نمودار ۱). دو ژنوتیپ LM و LL نسبت به ژنوتیپ MM به ترتیب  $OR=0/939$ ،  $p=0/881$  و  $OR=1/600$ ،  $p=0/620$  را نشان دادند.



نمودار ۱. نمودار فراوانی ژنوتیپ افراد مورد مطالعه برای پلی مورفیسم L55M. ستون‌های تیره فراوانی ژنوتیپی در گروه شاهد و ستون‌های روشن فراوانی ژنوتیپی در گروه بیمار را نشان می‌دهد. بر اساس محاسبات آماری ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ و بیماری مشاهده نشد. ( $x^2=0/384$ ,  $df=2$ ,  $p=0/825$ )

استخراج شدند و در دمای  $20^{\circ}C$  - نگهداری شدند. کیفیت DNA استخراج شده توسط اسپکتروفتومتر تعیین شد و غلظت آن‌ها در ۲۶۰/۲۸۰ به دست آمد. در مورد پلی مورفیسم (L55M) ژن PON1 قطعه هدف ۱۷۰ جفت بازی (170bp) با روش Polymerase Chain Reaction (PCR) و به کارگیری پرایمرهای 5'-FPrimer و 3'-RPrimer

GAAGAGTGATGTATAGCCCCAG-3' و TTTAATCCAGAGCTAATGAAAGCC-3' (۱۵) (شرکت سینا کلون) تکثیر یافت. شرایط شامل دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ به مدت ۵ دقیقه، به دنبال آن ۳۵ چرخه دناتوراسیون در دمای ۹۴ به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال پرایمرها در دمای ۶۰ به مدت یک دقیقه، دمای گسترش در ۷۲ به مدت یک دقیقه و در انتها گسترش نهایی در دمای ۷۲ به مدت ۱۰ دقیقه می‌باشد. بعد از تایید باند ۱۷۰ جفت بازی حاصل از PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد، با واحد آنزیم محدودگر NlaIII (Fermentase) به صورت شبانه (۱۶ ساعت) هضم شده و از طریق الکتروفورز آگارز ۲ درصد محصولات هضم شده جدا شدند. قطعه ۱۷۰ جفت بازی (170bp) مربوط به ال L55 به صورت هموزیگوت و قطعات ۴۴ و ۱۲۶ جفت بازی (44, 126bp) مربوط به ال M55 به صورت هموزیگوت و قطعات ۴۴، ۱۲۶ و ۱۷۰ جفت بازی (44, 126, 170bp) مربوط به ال L55 و M به صورت هتروزیگوت بودند.

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد و متغیرها بر اساس آزمون مربع کای مورد مقایسه قرار گرفتند و مقدار p پایین تر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

## بحث

سرطان پستان شایع ترین سرطان در بین زنان است (۲). اتیولوژی سرطان پستان به طور کامل شناخته نشده است. ولی به نظر می رسد استرس های اکسیداتیو و رادیکال های آزاد به عنوان یکی از این عوامل اثر گذار در پاتوژنز و پیشرفت سرطان پستان نقش مهمی دارد (۵، ۸).

تنش های اکسیداتیو به غشاهای بیولوژیکی، ارگانل های درون سلولی و ماکرومولکول ها از جمله پروتئین ها و DNA آسیب می رساند. یکی از آسیب های اصلی، اکسیداسیون لیپیدها به وسیله رادیکال های آزاد حاصل از این تنش ها می باشد که منجر به تولید ترکیبات فعال مثل آلدهیدها، کتون ها و اسیدهای هیدروکسیل می شود. این رادیکال ها ممکن است منشاء خارجی داشته باشند یا از واکنش های اکسیداسیون، احیاء در بدن تولید شوند. عدم تعادل در تشکیل و حذف این رادیکال های آزاد از جمله ترکیبات فعال اکسیژنی (ROS Reactive Oxygen Species) نشان داده شده است که سبب آسیب ژنتیکی، تداخل در سیگنال های سلولی، بیماری های تخریب نوروئی متاستاز و پیری می شود (۱۶).

بدن انسان تعدادی از سیستم های آنزیمی حفاظت از آسیب ژنوتوکسیک دارد که یا به طور غیر مستقیم، از طریق کاهش سوپراکسیدازهای دارای پتانسیل تولید رادیکال های آزاد، مانند سیتوکروم P450c17a (۱۷) و یا به طور مستقیم، از طریق سم زدایی رادیکال های آزاد، مانند PON1 (۱۸) فعالیت می کند. بنابراین، پذیرفتنی است که پلی مورفیسم های این ژن ها عوامل کلیدی در تعیین حساسیت به سرطان با مواد شیمیایی سمی و یا زیست محیطی باشند (۹، ۱۹). علاوه بر این، افزایش شواهدی وجود دارد که ROS نیز ممکن است نقش مهمی در رشد سرطان در انسان بازی کند (۲۰).

در جمعیت ایران تاکنون ارتباط فعالیت پاراکسوناز با پلی مورفیسم های L55M و Q192R و همین طور ارتباط بین پلی مورفیسم های پاراکسوناز و سرطان پستان بررسی نشده است. تحقیق حاضر به بررسی فرکانس

فراوانی ژنوتیپی در این پلی مورفیسم نشان داد، در گروه مورد و شاهد به ترتیب فراوانی ال M ۵۶/۰۲ و ۵۵/۵ درصد و فراوانی ال L ۴۳/۹۷ و ۴۴/۵ درصد می باشد که وقتی که با آزمون کای دو مقایسه شدند اختلاف معنی داری در دو گروه مشاهده نگردید ( $p=0/920$ ).

میانگین سنی بیماران ۵۰/۳۰ سال می باشد که در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی دار آماری نداشت. حدود ۶۰/۲۴ درصد از بیماران توزیع سنی بین ۶۰-۴۱ سال داشتند. ۲۰/۴۸ درصد از بیماران در بستگان درجه اول، ۳۱/۳۳ درصد در بستگان درجه دوم و ۶/۰۲ درصد در بستگان درجه اول و دوم خود ابتلا به سرطان پستان را ذکر نمودند.

در رابطه با محل زندگی ۷۹/۵۲ درصد افراد بیمار و ۰/۸۱ درصد افراد کنترل در شهر و بقیه در روستا زندگی می کنند. ۹۹/۸ درصد افراد بیمار و ۰/۹۱ درصد افراد سالم متاهل می باشند. در این بررسی تمام افراد بیمار و ۰/۹۴ درصد افراد سالم رژیم غذایی معمولی داشتند. از نظر استرس داشتن گروه بیماران سرطانی ۷۲/۲۹ درصد و گروه کنترل ۰/۲۴ درصد بود. در افراد بیمار و سالم به ترتیب ۲۵/۳۰ درصد و ۰/۰۳ درصد بی سواد و بقیه تحصیلات زیر دیپلم، دیپلم و لیسانس و بالاتر دارند. افراد شاغل در گروه بیمار ۱۴/۴۶ درصد و در گروه کنترل ۰/۴۰ درصد می باشد (جدول ۱).

جدول ۱. ویژگی های دموگرافیکی در دو گروه بیمار و کنترل

متغیرها	p	Df	X <sup>2</sup>
محل زندگی	۰/۸۰۲	۱	۰/۰۶۳
وضعیت تاهل	۰/۶۶۴	۱	۰/۱۸۹
* وضعیت شغلی	۰/۰۰۰۱	۱	۱۴/۵۴
* سطح تحصیلات	۰/۰۰۰۱	۳	۹۴/۱۷۲
* سابقه سرطان در بستگان	۰/۰۰۰۱	۳	۳۹/۵۹
مصرف دخانیات و مشروب	۰/۰۵۶	۵	۱۰/۷۷
* استرس	۰/۰۰۰۱	۱	۴۲/۵۹
رژیم غذایی	۰/۰۷۶	۲	۵/۱۴

\* اختلاف بین دو گروه معنی دار بود ( $p < 0/05$ )

بین پلی مورفیسم M55L و LHC مشاهده نکردند (۲۹) که موافق نتایج ما بودند. این نتیجه‌های متناقص ممکن است به دلیل تفاوت‌های نژادی و قومی در فراوانی ژنوتیپ‌های L55M ژن PON1، عوامل مداخله‌گر غیر قابل کنترل، تفاوت‌های جمعیتی در فاکتورهای عوامل خطر محیطی برای سرطان پستان باشد. اگر چه به تایید روش‌های آماری تعداد نمونه بیمار و کنترل استفاده شده در این تحقیق مناسب می‌باشد ولی شاید تعداد نمونه‌های بیش‌تر بتواند ارتباط یا عدم ارتباط این پلی مورفیسم و بیماری را بهتر نشان دهد و یا وجود مسیرهای تومورزایی دیگری که در آن ژن پاراکساناز در تبدیل سلول نرمال به تومور نقش اساسی ندارد و لذا vogel stain دیگری در این امر دخالت داشته است.

### نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه که برای اولین بار در ایران انجام شده است، نشان دهنده عدم هم بستگی پلی مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی L55M اگزون ۳ ژن PON1 می‌باشد. با توجه به این که فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف این ژن در جمعیت‌ها و نژادهای مختلف، متفاوت می‌باشد، لازم است جهت دستیابی به نتایج قابل اطمینان تر و با دامنه وسیع‌تر، مطالعات گسترده‌تری بر روی جایگاه‌های مختلف پلی مورف این ژن با تعداد نمونه‌های بیش‌تر و از گروه‌های مختلف جمعیتی، انجام پذیرد.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته ژنتیک می‌باشد. بدین وسیله از جناب آقای مهدی کاوند و سرکار خانم زینت نوروزی که در تهیه نمونه‌ها کمک نموده‌اند و نیز تمامی افراد بیمار و کنترل شرکت کننده در این پژوهش صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

پلی مورفیسم L55M در جمعیت استان مرکزی و هم چنین ارتباط پلی مورفیسم مذکور با سرطان پستان پرداخته است. ارتباط پلی مورفیسم L55M با سرطان پستان به طور کلی برای نخستین بار در جمعیت ایرانی صورت پذیرفته است. در مطالعه حاضر، نتایج ما در توزیع ال و ژنوتیپ پلی مورفیسم L55M در ژن PON1 بین بیماران مبتلا به سرطان پستان و کنترل ارتباط معنی داری را نشان نداد. رینالدی و همکاران با مطالعه روی ۱۴۴ زن مبتلا به سرطان و ۱۵۲ زن سالم در کشور ایتالیا ارتباط این پلی مورفیسم را با سرطان پستان مشاهده کردند (۱۵) که مخالف نتایج ما بود. بررسی حسین و همکاران نشان دادند که هموزیگوت MM به طور قابل توجهی خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش می‌دهد (۲۱) که با نتایج ما هم خوانی نداشت. نایدو و همکاران مشاهده نمودند زنانی که هموزیگوت MM و یا این که ژنوتیپ آن‌ها حاوی ال M بودند با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان همراه بودند (۲۲) که مخالف نتایج ما بود. بررسی‌های صورت گرفته توسط آنتوگنلی و همکاران (۲۳) و نیز مطالعات انجام شده توسط استیونس و همکاران روی زنان یائسه آمریکایی نشان داد که این پلی مورفیسم با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان همراه بود که با مطالعات انجام شده در کشور ما هم خوانی نداشت (۲۴). نتایج بررسی‌های گالکیو و همکاران نیز با مطالعات ما هم خوانی نداشتند (۲۵). با توجه به بررسی‌های آماری انجام شده در این پژوهش نتایج مطالعه ما در رابطه با نقش پلی مورفیسم L55M در سرطان پستان با آنالیز فراوانی الی و ژنوتیپی مطالعات اککیز و همکاران روی سرطان هپاتوسلولار در کشور ترکیه (۲۶) هم خوانی دارد. مطالعات اویار و همکاران در کشور ترکیه روی سرطان کلیه (۲۷) تفاوت معنی داری را در فراوانی ژنوتیپی و الی این پلی مورفیسم مشاهده نکردند و همین‌طور با مطالعات آکسوی - سگیلی و همکاران (۲۸) روی سرطان ریه در کشور ترکیه هم خوانی داشتند. مطالعات کوکوا و همکاران با بررسی روی سرطان (LHC) lymphohaematopoietic در کشور یونان هیچ ارتباطی

## منابع

1. Sant M, Francisci S, Capocaccia R, Verdecchia A, Allemani C, Berrino F. Time trends of breast cancer survival in Europe in relation to incidence and mortality. *International journal of cancer*, 2006. 119(10): p. 2417-2422.
2. Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, et al. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. *The breast journal*, 2007. 13(4): p. 383-391.
3. PK Siiteri, Simberg N, Murai J. Estrogens and breast cancer. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1986. 464(1): p. 100-106.
4. Russo J, Hasan Lareef M, Balogh G, Guo S, Russo IH. Estrogen and its metabolites are carcinogenic agents in human breast epithelial cells. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 2003. 87(1): p. 1-25.
5. Ambrosone CB. Oxidants and antioxidants in breast cancer. *Antioxidants & redox signaling*, 2000. 2(4): p. 903-917.
6. Gönenç A, Erten D, Aslan S, Akinci M, Simsık B, Torun M. Lipid peroxidation and antioxidant status in blood and tissue of malignant breast tumor and benign breast disease. *Cell biology international*, 2006. 30(4): p. 376-380.
7. Sener DE, Gonenc A, Akinci M, Torun M. Lipid peroxidation and total antioxidant status in patients with breast cancer. *Cell biochemistry and function*, 2007. 25(4): p. 377-382.
8. Tesarová P, Kalousová M, Trnková B, Soukupová J, Argalášová S, Mestek O, et al. Carbonyl and oxidative stress in patients with breast cancer--is there a relation to the stage of the disease? . *Neoplasma*, 2006. 54(3): p. 219-224.
9. Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S, et al. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature*, 1998. 394(6690): p. 284-287.
10. Du BL, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parmo S, Sorenson R C ,et al. On the physiological role (s) of the paraoxonases. *Chemico-biological interactions*, 1999. 119: p. 379-388.
11. Osei-Hyama D, Hou L, Mengbai F, Zhiyin R, Zhiming Z, Kano K. Coronary artery disease risk in Chinese type 2 diabetics: is there a role for paraoxonase 1 gene (Q192R) polymorphism? . *European journal of endocrinology*, 2001. 144(6): p. 639-644.
12. Graner M, James RW, Kahri J, Nieminen MS, Syvanne M, Taskinen MR. Association of paraoxonase-1 activity and concentration with angiographic severity and extent of coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 2006. 47(12): p. 2429-2435.
13. Kuo CL, La Du BN. Calcium Binding by Human and Rabbit Serum Paraoxonases Structural Stability and Enzymatic Activity. *Drug metabolism and disposition*, 1998. 26(7): p. 653-660.
14. Van Himbergen TM, van Tits LJ, Roest M, Stalenhoef AF. The story of PON1: how an organophosphate-hydrolysing enzyme is becoming a player in cardiovascular medicine. *Neth J Med*, 2006. 64(2): p. 34-8.
15. Rinaldi C, D'Angelo R, Ruggeri A, Calabro M, Scimone C, Sidoti A. PON I and GLO I Gene Polymorphisms and Their Association with Breast Cancer: A Case-Control Study in a Population from Southern Italy. *Journal of Molecular Biomarkers & Diagnosis*, 2014. 5(2): p. 1.
16. Allen RG. oxidative stress and superoxide dismutase in development, aging and gene regulation. *Age*, 1998. 21(2): p. 47-76.
17. Salama SA, Kamel M, Awad M, Nasser A H B, Al-Hendy A, Botting S, et al. Catecholestrogens induce oxidative stress and malignant transformation in human endometrial glandular cells: Protective effect of catechol-O-methyltransferase. *International Journal of Cancer*, 2008. 123(6): p. 1246-1254.
18. Yu B.P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological reviews*, 1994. 74(1): p. 139-162.
19. de Jong M M, Nolte I M, te Meerman G J, van der Graaf W T, de Vries E G, Sijmons R H, et al. Low-penetrance genes and their involvement in colorectal cancer susceptibility. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 2002. 11(11): p. 1332-1352.

20. Klaunig JE, Kamendulis LM. The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*, 2004. 44: p. 239-267.
21. Hussein YM, Gharib AF, Eteawa RL, ElSawy WH. Association of L55M and Q192R polymorphisms in paraoxonase 1 (PON1) gene with breast cancer risk and their clinical significance. *Molecular and cellular biochemistry*, 2011. 351(1-2): p. 117-123.
22. Naidu R, Har YC, Taib NAM. Genetic polymorphisms of paraoxonase 1 (PON1) gene: association between L55M or Q192R with breast cancer risk and clinico-pathological parameters. *Pathology & Oncology Research*, 2010. 16(4): p. 533-540.
23. Antognelli C, Buono CD, Ludovini V, Gori S, Talesa VN, Crino L, et al. CYP17, GSTP1, PON1 and GLO1 gene polymorphisms as risk factors for breast cancer: an Italian case-control study. *BMC cancer*, 2009. 9(1): p. 115.
24. Stevens VL, Rodriguez C, Pavluck AL, Thun MJ, Calle EE. Association of polymorphisms in the paraoxonase 1 gene with breast cancer incidence in the CPS-II Nutrition Cohort. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 2006. 15(6): p. 1226-1228.
25. Gallicchio L, McSorley MA, Newschaffer CJ, Huang HY, Thuita LW, Hoffman SC, et al. Body mass, polymorphisms in obesity-related genes, and the risk of developing breast cancer among women with benign breast disease. *Cancer detection and prevention*, 2007. 31(2): p. 95-101.
26. Akkız H, Kuran S, Akgöllü E, Üsküdar O, Bekar A, Bayram S, et al. Effect of PON1 gene polymorphisms in Turkish patients with hepatocellular carcinoma. *Meta gene*, 2013. 1: p. 93-101.
27. Uyar OA, Kara M, Erol D, Ardicoglu A, Yuce H. Investigating paraoxonase-1 gene Q192R and L55M polymorphism in patients with renal cell cancer. *Genet Mol Res*:(1) 10.2011; p. 133-9.
28. Aksoy-Sagirli P, Cakmakoglu B, Isbir T, Kaytan-Saglam E, Kizir A, Topuz E, et al. Paraoxonase-1 192/55 polymorphisms and the risk of lung cancer in a Turkish population. *Anticancer research*, 2011. 31(6): p. 2225-2229.
29. Kokouva M, Koureas M, Dardiotis E, Almpnidou P, Kalogeraki A, Kyriakou D, et al. Relationship between the paraoxonase 1 (PON1) M55L and Q192R polymorphisms and lymphohaematopoietic cancers in a Greek agricultural population. *Toxicology*, 2013. 307: p. 12-16.