Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

Relation between ape1 gene -141t>g polymorphism and idiopathic male infertility

Mostafa Yousefi[1], Farhad Mashayekhi[2*], Zivar Salehi[2], Mohammad Hadi Bahadori[3], Mostafa Pournourali[1]

[1]Student of Cell and Development Biology, School of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
[2]Department of Biology, School of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
[3]Cellular and Molecular research center, School of Medical Sciences, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
*Corresponding author; E-mail: mashayekhi@guilan.ac.ir

Received: 4 June 2014 Accepted: 14 July 2014 First Published online: 26 February 2017
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 April;39(1):86-91

Abstract

Background: Infertility is defined as a lack of conception in a couple that has been having unprotected intercourse, for one year. Despite enormous progresses in the understanding of human reproductive physiology, the underlying causes of male infertility remains undefined in about 50.0% of cases, which are referred to as idiopathic infertility. Human apurinic/apyrimidinic endonuclease (ApE1) is a multifunctional protein that has an important role in the base excision repair (BER) pathway. ApE1 -141 T>G polymorphism is located in the promoter region. The aim of this study was to investigate the relation between ApE1 -141T>G polymorphism and idiopathic male infertility.

Methods: In this case-control study, Samples were collected from 90 patients diagnosed with idiopathic male infertility and also from 60 control subjects. Collected samples were genotyped by allele-specific PCR (AS-PCR).

Results: There was significantly association between -141T>G polymorphism and idiopathic male infertility ($p = 0.022$).

Conclusion: The polymorphism 141T>G can be associated with male infertility. However, further studies are needed to confirm the results.

Keywords: Polymorphism, Infertility, Ape1

How to cite this article: Yousefi M, Mashayekhi F, Salehi Z, Bahadori M H, Pournourali M. [Relation between ape1 gene -141t>g polymorphism and idiopathic male infertility]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 April;39(1):86-91. Persian.

© 2017 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

ارتباط بین پلی مورفیسم 141T>G- ژن ApE1 و ناباروری ایدیوپاتیک مردان

مصطفی یوسفی[۱]، فرهاد مشایخی[۲*]، زیور صالحی[۲]، محمدهادی بهادری[۳]، مصطفی پورنورعلی[۱]

[۱]دانشجوی رشته بیولوژی سلولی تکوینی، گروه بیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
[۲]گروه بیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
[۳]مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
[*] نویسنده رابط؛ ایمیل: mashayekhi@guilan.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۳/۳/۱۴ پذیرش: ۱۳۹۳/۴/۲۳ انتشار برخط: ۱۳۹۵/۱۲/۸
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. فروردین ۱۳۹۶؛ ۳۹(۱): ۸۶-۹۱

چکیده

زمینه: به عدم باروری در یک زوج که به مدت یک سال مقاربت محافظت نشده داشته باشند ناباروری گفته می شود. علیرغم پیشرفت های عظیمی که در شناخت فیزیولوژی تولیدمثل انسان اتفاق افتاده اما دلایل اصلی ناباروری مردان در تقریبا ۵۰٪ موارد ناشناخته باقی مانده که به آن ناباروری ایدیوپاتیک اطلاق می گردد. محصول ژن ApE1 (apurinic/apyrimidinic endonuclease) یک پروتئین چند عملکردی است که در مسیر ترمیم با برداشت باز (BER) نقش مهمی دارد. پلی مورفیسم 141T>G- ژن ApE1 در ناحیه پروموتر قرار دارد. هدف این پژوهش (مورد-شاهدی) بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم 141T>G- ژن ApE1 و استعداد ابتلای به ناباروری ایدیوپاتیک مردان می باشد.

روش کار: نمونه های خون از ۹۰ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۶۰ مرد سالم جمع آوری و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی طراحی شده تحت AS-PCR قرار گرفت. همچنین به منظور بررسی ارتباط بین فراوانی ژنوتیپی و اللی در دو گروه بیمار و کنترل از آزمون Chi-Square (χ^2) استفاده گردید.

یافته ها: بررسی ها در دو گروه بیمار و کنترل نشان داد با توجه به مقدار $P =$ ۰/۰۲۲ ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم 141T>G- ژن ApE1 و ناباروری ایدیوپاتیک مردان وجود دارد.

نتیجه گیری: یافته های ما نشان داد که پلی مورفیسم (141T>G-) می‌تواند با ناباروری مردان در ارتباط باشد. اگرچه، تایید نتایج بدست آمده نیازمند بررسی های بیشتری است.

کلید واژه ها: پلی مورفیسم، ناباروری، ApE1

نحوه استناد به این مقاله: یوسفی م، مشایخی ف، صالحی ز، بهادری م، پورنورعلی م. ارتباط بین پلی مورفیسم 141T>G- ژن ApE1 و ناباروری ایدیوپاتیک مردان. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. ۱۳۹۶؛ ۳۹(۱): ۸۶-۹۱.

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

یکی از مشکلات اجتماعی بسیار مهمی که امروزه کشورهای پیشرفته با آن مواجه اند کاهش میزان زاد و ولد است. در حالیکه هر دوی فاکتورهای اجتماعی (مانند پیشرفت های اجتماعی و در نتیجه افزایش سن ازدواج در زنان) و فاکتورهای محیطی (مانند آلودگی ها و گرم شدن جهانی) اجزای پنهان افزایش در شمار بیماران نابارور هستند، تقریبا در نیمی از همه‌ی موارد ناباروری‌ها، مردان نیز نقش دارند. به عدم توفیق زوجین در آبستنی پس از طی یک سال از مقاربت های منظم و متوالی، آن هم بدون بهره گیری از روش‌های پیشگیری، ناباروری اطلاق می‌گردد (۱). ناباروری با تاثیرگذاری بر حدود ۱۵٪ زوج هایی که برای داشتن یک فرزند تلاش می‌کنند یک مشکل بزرگ حوزه‌ی سلامت محسوب می شود. با اینکه پیشرفت های عظیمی در شناخت فیزیولوژی تولید مثل انسان اتفاق افتاده اما دلایل اصلی ناباروری مردان در تقریبا ۵۰٪ موارد ناشناخته باقی مانده که از آن به عنوان ناباروری ایدیوپاتیک یاد می شود. ناباروری یک سندرم چندعاملی است که عوامل ژنتیکی (ریز حذف‌های کروموزوم Y، ناهنجاری‌های کروموزومی پلی مورفیسم‌های ژنتیکی) و غیر ژنتیکی (مصرف دخانیات، استروژن ها، تابش اشعه، فلزات سنگین) مختلف در پیدایش آن نقش دارند و در حدود ۵-۷ ٪ جمعیت مردان را تحت تاثیر قرار می دهد ولی این رقم در حال افزایش است (۲). لذا پرداختن به این موضوع امری جدی و ضروری می نماید.

به آلل های مختلف یک ژن در جمعیت یک گونه که ممکن است موجب ایجاد فنوتیپ های مختلف گردد پلی مورفیسم ژنتیکی گویند. با توجه به هزاران رخداد تخریبی که ژنوم روزانه با آن‌ها روبرو است و همچنین اشتباهات زمان همانندسازی ژنوم، ضروری است که سلول‌ها دارای سیستم‌های ترمیمی کارا باشند. یکی از سیستم‌های ترمیم DNA سلول‌ها، Base Excision Repair (BER) یا ترمیم با برداشت باز است. از این مکانیسم در ترمیم بسیاری از نوکلئوتیدهای تغییر یافته که در آن‌ها باز تحت آسیب-های نسبتا جزئی قرار گرفته است مانند قرارگیری در معرض عوامل آلکیله کننده یا اشعه یونیزه کننده استفاده می شود (۳).

محصول ژن ApE1 یک پروتئین چندعملکردی است که در مسیر ترمیم با برداشت باز (BER) در ترمیم DNA اکسیده یا آلکیله شده نقش مهمی ایفا می کند. (NCBI accession number: HM209828 and ADJ96599 for nucleotides and amino acids) این ژن شامل ۵ اگزون و ۴ اینترون به اندازه ۲/۲۱ kb می باشد که بر روی بازوی بلند کروموزوم شماره 14q11.2-q12 انسانی قرار دارد. ApE1 با هیدرولیز قطعات ۳′ DNA اکسیده شده، 3′-OH نرمال انتهایی نوکلئوتید را که برای ترمیم DNA و امتداد تک و یا دو رشته شکسته شده لازم است، تولید می کند (۴).

پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی T>G ,(-141T>G rs1760944) در ناحیه پروموتر ژن ApE1 قرار دارد (۶) که با توجه به نقش مهم این ناحیه در بیان پروتئین، ممکن است تحت تاثیر SNP موجود قرار گیرد، لذا این پژوهش جهت بررسی توزیع ژنوتیپی و اللی این جایگاه پلی مورفیک در مردان نابارور و سالم انجام گرفت.

روش کار

با توجه به اهمیت گستردگی جامعه آماری در نتیجه گیری حاصل از مقایسه‌ی بین افراد بیمار و سالم در مطالعات مربوط به نواحی پلی مورفیک، در این پژوهش (مورد-شاهدی) ۹۰ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۶۰ مرد سالم (به عنوان کنترل) مراجعه کننده به بخش ناباروری بیمارستان الزهرا، رشت، در بازه‌ی زمانی آذر ماه ۱۳۹۱ لغایت بهمن ۱۳۹۲ مورد بررسی قرار گرفتند. سابقه ناباروری در افراد بیمار حداقل ۲ سال و گروه کنترل شامل مردان سالم دارای ۲ فرزند می باشد. معیار خروج نمونه ها عبارت بودند از: آزواسپرمی، هیپوگنادیسم هیپوگنادوتروفیک، مصرف دارو، واریکوسل، سابقه تب در شش ماه گذشته، بیماری‌های سیستمیک، مصرف استروئیدهای آنابولیک و آنتی بادی‌های ضد اسپرم. محدوده سنی بیماران و افراد کنترل بین ۲۸-۴۲ سال انتخاب گردید و به منظور بررسی ارتباط بین اختلاف سنی در دو گروه آزمون t مستقل انجام شد. پس از تکمیل پرسشنامه حاوی اطلاعات افراد و اخذ رضایت نامه، ۲ میلی لیتر خون از آنان تهیه و جهت استخراج DNA در لوله های حاوی EDTA به آزمایشگاه منتقل گردید.

DNA ژنومی توسط کیت Gpp Solution (Gene pajouhan, Iran) و بر اساس پروتکل کیت از نمونه های خون افراد استخراج گردید. پس از ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده توسط ژل آگارز ۱٪ (شکل شماره ۱)، DNA تا قبل از بررسی های مولکولی به فریزر ۷۰- انتقال داده شد.

در واکنش PCR مربوط به ژن مورد نظر، از دستگاه ترموسایکلر ۴۸ چاهکی (Bio Rad, England) و برای هر کدام از نواحی پلی مورفیک از دو جفت پرایمر اختصاصی طراحی شده جهت تکثیر محدوده ژنی قطعه پلی مورفیسم استفاده گردید (جدول شماره ۱). شرایط PCR جهت تکثیر ناحیه پروموتری شامل: ۵ دقیقه در ۹۴ درجه، ۴۵ ثانیه در دمای ۵۳ درجه، ۴۵ ثانیه در ۷۲ درجه و ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد به منظور بسط نهایی رشته بود. سپس صحت واکنش PCR انجام شده، توسط ژل آگارز ۲٪ مورد ارزیابی قرار گرفت.

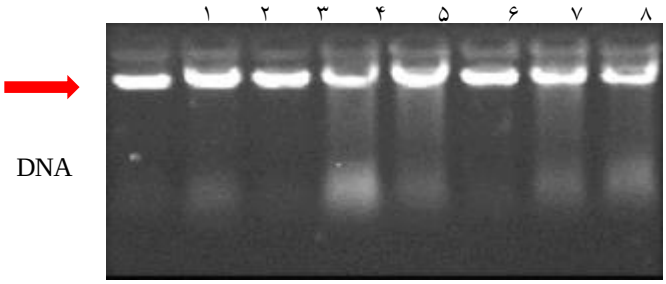
شناسایی پلی مورفیسم ناحیه پروموتر توسط تکنیک AS-PCR و به وسیله پرایمرهای اختصاصی طراحی شده صورت گرفت.

بدین منظور 5µl از DNA استخراج شده، 10µl کیت مخصوص PCR (PCR Master Mix; Cinnagene,Iran)، 1µl پرایمر رو به جلو (Forward)، 1µl پرایمر رو به عقب (Reverse) و 3µl آب مقطر را مخلوط و پس از AS-PCR، کیفیت عملکرد پرایمرها بوسیله ژل آگارز ۲٪ سنجیده شد.

آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار MedCalc (Version. 12.1.4.0) صورت گرفت. جهت بررسی معنی دار بودن تفاوت بین ژنوتیپ ها در دو گروه بیمار و کنترل از آزمون Chi-Square (χ^2) استفاده گردید که در این آزمون P≥ 0/05 نشان دهنده عدم معنی دار بودن اختلاف نتایج بین دو گروه می باشد.

یافته ها

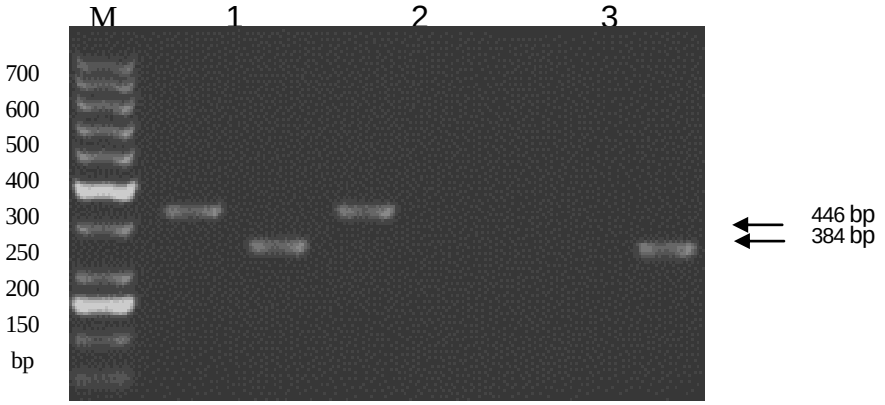
در این تحقیق در مجموع ۱۵۰ نفر شامل ۹۰ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۶۰ مرد سالم به عنوان گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سنی در مردان نابارور ۲/۱ ± ۳۶/۲۶ سال و در گروه کنترل ۳/۲ ± ۳۴/۵۲ سال بود. اختلاف معنی داری در خصوص سن در دو گروه بیمار و کنترل وجود نداشت. به منظور بررسی پلی مورفیسم ناحیه پروموتر، نمونه های DNA افراد بیمار و کنترل تحت AS-PCR قرار گرفتند که انواع ژنوتیپ های مشاهده شده در تصویر (شکل شماره ۲) نشان داده شده است. بررسی نتایج نشان داد که در پلی مورفیسم (-141T>G) از بین ۹۰ فرد بیمار، ۲۷ نفر (۳۰ درصد) دارای ژنوتیپ T/T، ۶۰ نفر (۶۶/۶۶ درصد) ژنوتیپ T/G و ۳ نفر (۳/۳۳ درصد) ژنوتیپ G/G بودند. در گروه کنترل ژنوتیپ T/T در ۲۰ نفر (۳۳/۳۳ درصد)، ژنوتیپ T/G در ۳۱ نفر (۵۱/۶۶ درصد) و ژنوتیپ G/G در ۹ نفر (۱۵ درصد) مشاهده گردید. در بررسی معنی دار بودن تفاوت ژنوتیپ ها مقدار χ^2 محاسبه شده از آزمون Chi-Square دو گروه، برابر ۷/۵۸ و مقدار P = ۰/۰۲۲۵ بدست آمد که نشان دهنده‌ی معنی دار بودن تفاوت فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده در دو گروه بیمار و کنترل می باشد. البته ژنوتیپ مشخصی در ارتباط با بیماری تشخیص داده نشد. همچنین بررسی فراوانی اللی افراد بیمار و سالم نشان می دهد در افراد بیمار فراوانی الل T، ۶۳ درصد و فراوانی الل G، ۳۶ درصد و در افراد سالم به ترتیب ۵۹ و ۴۰ درصد می باشد که با توجه به P = ۰/۸ اللی تفاوت معنی‌داری بین فراوانی آللی افراد بیمار و سالم مشاهده نمی‌شود.



شکل ۱: DNA استخراج شده افراد بیمار و سالم (ژل آگارز ۱٪)

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در تکثیر قطعه پلی مورفیک

پلی مورفیسم	الل	اندازه قطعه تکثیر شده (bp)	توالی آغازگرها (bp)
Asp148Glu الل درج	T	384	F: 5´-GACCCTATTGATGCCTAATGCC-3´ R: 5´- GCCTTCCTGATCATGCTCCACA-3´
Asp148Glu الل حذف	G	446	F: 5´- GACTGTTTAACCCGTGCGTA-3´ R: 5´- GCCTTCCTGATCATGCTCCACC-3´



شکل ۲: محصولات PCR با پرایمرهای حذف و درج، 141T>G-
فرد ۱ هتروزیگوت T/G ، فرد ۲ هموزیگوت G/G و فرد ۳ هموزیگوت T/T، M= مارکر

بحث

امروزه ناباروری یکی از مشکلات عمده روحی، اقتصادی و اجتماعی در جوامع بشری محسوب می گردد که تقریبا در نیمی از آن به نحوی عامل مرد دخیل است. از این حیث پرداختن به مقوله ناباروری مردان امری جدی و ضروری می نماید (۷). عموما آسیب های DNA بطور مستمر ایجاد می شوند که بطور اولیه توسط مسیر ترمیم با حذف باز (BER) ترمیم می شوند (۸ و۹). ژن های دخیل در BER می توانند بر توان ترمیم DNA تاثیرگذار باشند (۱۰). ApE1 (Apurinic/apyrimidinic endonuclease-1) که بر روی کروموزوم شماره ۱۴ انسانی قرار دارد و شامل ۵ اگزون به وزن ۲/۲۱ Kb می باشد، با هیدرولیز قطعات انتهایی ´۳ از DNA اکسیده یا آلکیله شده، 3´-OH انتهایی نرمال را برای سنتز و تداوم ترمیم DNA در تک و یا دو رشته شکسته شده فراهم می کند (۱۱و۱۲). مطالعات انجام شده بر روی این ژن، نقش تغییرات ژنتیکی آن را در بسیاری از بیماری ها نظیر افزایش خطر ابتلای به انواع سرطان ها شامل سرطان ریه، مثانه، کولورکتال، سینه، پانکراس، سروگردن، مری، تیروئید و پروستات نشان داده است (۱۳). مطالعات بر روی این پلی مورفیسم نشان می دهد که الل G توان فعالیت اندونوکلئازی، اتصال به DNA و ارتباط با پروتئین های دیگر BER را کاهش داده و نیز باعث تاخیر در مرحله G_2 چرخه سلولی می گردد (۱۴). Keke Zhou و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیان کردند که ژنوتیپ GG پلی مورفیسم 141T>G- می تواند نقش محافظت کنندگی در ابتلای به گلیوبلاستوما داشته باشد (۱۵)، همچنین Bin Zhou و همکاران در سال ۲۰۱۱ نقش محافظت کنندگی این پلی مورفیسم را در ابتلای به سرطان گزارش کردند (۱۶). با توجه به نقش مهم ژن ApE1 در فرایند ترمیم DNA سلول، در این پژوهش ما برای نخستین بار به بررسی نقش احتمالی تغییرات این ناحیه پلی مورفیک به عنوان یکی از عوامل تاثیر گذار بر ناباروری ایدیوپاتیک مردان پرداختیم که برای این منظور تغییرات توزیع ژنوتیپی و اللی این جایگاه را در ۹۰ مرد مبتلای به ناباروری ایدیوپاتیک و ۶۰ مرد سالم مورد ارزیابی قرار دادیم. بررسی نتایج نشان داد در پلی مورفیسم ناحیه پروموتر (141T>G- با توجه به مقادیر P = ۰/۰۲۲۵ و χ^2 = ۷/۵۸ بدست آمده می توان نتیجه گرفت که فراوانی ژنوتیپی بین دو جمعیت نابارور و سالم با یکدیگر تفاوت معنی داری دارد، در حالیکه فراوانی اللی بین این افراد تفاوت معنی داری را نشان نمی دهد (P= ۰/۸).

نتیجه گیری

در پلی مورفیسم 141T>G- بررسی ها در دو گروه بیمار و کنترل نشان داد با توجه به مقدار P = ۰/۰۲۲ ارتباط معنی داری بین این پلی مورفیسم ژن ApE1 و ناباروری ایدیوپاتیک مردان وجود دارد. البته از آنجاییکه ناباروری یک بیماری چندعاملی است و تحت تاثیر عوامل مختلف ژنتیکی و محیطی قرار دارد لذا نقش سایر ژن های دخیل در فرایند ترمیم، عوامل محیطی و حتی سایر پلی مورفیسم های شناخته شده این ژن، در ایجاد و بروز ناباروری ایدیوپاتیک مردان قابل تامل و بررسی بیشتر می باشد. در نهایت هرچند نقش ترکیب ژنتیکی در ارتباط پلی مورفیسم و استعداد ابتلای به ناباروری ایدیوپاتیک موثر است اما ممکن است نتایج بدست آمده با تغییر خزانه ژنتیکی و یا تغییر اندازه‌ی جمعیت مورد مطالعه تغییر کند، لذا حصول نتایج قطعی نیازمند مطالعات با جامعه آماری بیشتری خواهد بود.

قدردانی

ضمن تشکر از آزمایشگاه ژنتیک دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان در فراهم آوردن تجهیزات، از همکاری کارکنان بخش ناباروری بیمارستان الزهرا (س) در تهیه نمونه ها صمیمانه تشکر می شود.

References

1. Toshinobu Miyamoto, Akira Tsujimura, Yasushi Miyagawa, Eitetsu Koh, Mikio Namiki, Kazuo Sengoku. Male Infertility and Its Causes in Human. *Advances in Urology* 2012; **20**: 141-147. doi: 10.1155/2012/384520
2. Ferlin A, Arredi B, Foresta C. Genetic causes of male infertility. *Reprod Toxicol* 2006; **22**(2): 133-141. http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2006.04.016
3. Evans AR, Limp-Foster M, Kelley MR. Going APE over Ref-1. *Mutat Res* 2000; **461**: 83-108. doi: 10.1016/S0921-8777(00)00046-X
4. Robson CN, Hochhauser D, Craig R, Rack K, Buckle VJ, Hickson ID. Structure of the human DNA repair gene HAP1 and its localisation to chromosome 14q 11.2-12. *Nucleic Acids Res* 1992; **20**: 4417-4421.
5. Hadi MZ, Coleman MA, Fidelis K, Mohrenweiser HW, Wilson DM 3rd. Functional characterization of Ape1 variants identified in the human population. *Nucleic Acids Res* 2000; **28**: 3871-3879.
6. Zhou B, Shan H, Ying Su, Xia K, Shao X, Mao W, Shao Q. The assosciation of APE1 -656T > G and 1349 T > G polymorphisms and cancer risk. *Bio Med Central Cancer* 2011; **11**: 521. doi**:** 10.1186/1471-2407-11-521
7. Skakkebaek NE, Giwercman A, de Kretser D. Pathogenesis and management of male infertility. *Lancet* 1994; **343**(8911): 1473-1479. doi: 10.1016/S0140-6736(94)92586-0
8. Demple B, Johnson A, Fung D. Exonuclease III and endonuclease IV remove 3′ blocks from DNA synthesis primers in H2O2-damaged Escherichia coli. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; **83**: 7731-7735.
9. Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat Res* 2004; **567**: 1-61. doi: 10.1016/j.mrrev.2003.11.001
10. Gossage L, Perry C, Abbotts R, Madhusudan S. Base excision repair factors are promising prognostic and predictive markers in cancer. *Curr Mol Pharmacol* 2012; **5**(1): 115-124. doi: 10.2174/1874467211205010115
11. Tadahide Izumi, Tapas K. Hazra, Istvan Boldogh, Alan E. Tomkinson, Min S. Park, Shogo Ikeda, Sankar Mitra. Requirement for human AP endonuclease 1 for repair of 3#-blocking damage at DNA single-strand breaks induced by reactive oxygen species. *Carcinogenesis* 2000; **21**: 1329-1334.
12. Kelley MR, Cheng L, Foster R, Tritt R, Jiang J, Broshears J, Koch M. Elevated and altered expression of the multifunctional DNA base excision repair and redox enzyme Ape1/ref-1 in prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2001; **7**: 824-830.
13. Dongying Gu, Meilin Wang, Shizhi Wang, Zhengdong Zhang, Jinfei Chen. The DNA repair gene APE1 T1349G polymorphism and cancer risk: a meta-analysis of 27 case-control studies. *Mutagenesis* 2009; **24**: 507-512. doi: 10.1093/mutage/gep036
14. Jennifer J. Hu, Tasha R. Smith, Mark Steven Miller, Harvey W. Mohrenweiser, Andrea Golden, Douglas Case. Amino acid substitution variants of APE1 and XRCC1 genes associated with ionizing radiation sensitivity. *Carcinogenesis* 2001; **22**: 917-922. doi: 10.1093/carcin/22.6.917
15. Keke Zhou, Dezhi Hu, Juan Lu, Weiwei Fan, Hongliang Liu, Hongyan Chen, et al. A genetic variant in the APE1/Ref-1 gene promoter -141T/G may modulate risk of glioblastoma in a Chinese Han population. *BMC Cancer* 2011; **11**: 104. doi: 10.1186/1471-2407-11-104
16. Bin Zhou, Hailin Shan, Ying Su, Kai Xia, Xiaxia Shao, Weidong , et al. The association of APE1 −656T > G and 1349 T > G polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis based on 37 case-control studies. *BMC Cancer* 2011; **11**: 521. doi: 10.1186/1471-2407-11-521