

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOLOREKTAL KANSERDE METASTATİK SÜREÇLERİ
YÖNLENDİREN HÜCRE MATRİKS ADEZYONU İFADE
DEĞİŞİMLERİ

SELİN İŞİDOĞRU
ORCID: 0000-0002-6061-3357

ONKOLOJİ ANABİLİM DALI
TRANSLASYONEL ONKOLOJİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İZMİR

ŞUBAT 2023

TEZ KODU: DEU.HSI-MSC2020970047

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOLOREKTAL KANSERDE METASTATİK SÜREÇLERİ
YÖNLENDİREN HÜCRE MATRİKS ADEZYONU İFADE
DEĞİŞİMLERİ

SELİN İŞİDOĞRU
ORCID: 0000-0002-6061-3357
ONKOLOJİ ANABİLİM DALI
TRANSLASYONEL ONKOLOJİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fatma Duygu ÖZEL DEMİRALP
ORCID:0000-0002-1798-7951

İZMİR

ŞUBAT 2023

TEZ KODU: DEU.HSI-MSC2020970047

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

ETİK BEYANI

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğum “ Kolorektal Kanserde Metastatik Süreçleri Yönlendiren Hücre Matriks Adezyonu İfade Değişimleri” başlıklı Yüksek Lisans tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İmza:

Öğrencinin Adı Soyadı: Selin İşidoğru

Tarih: 20.02.2023

TEŞEKKÜR

Mutluluk, özveri ve emek ile hazırladığım yüksek lisans tezimi tamamlamanın heyecanını taşıyorum. Bu yolculukta yaşadığım her bir ânın, hayatımın geri kalan ânlarında yoluma ışık olacağının bilincindeyim. Bu kısmı, yardımlarını esirgemeyen ve beni motive eden sürecimin mimarlarına teşekkür etmek için bir fırsat olarak kullanacağım.

Öncelikle, öğrencisi olmanın sorumluluğunu ve mutluluğunu taşıdığım, her fırsatta ilham aldığım, sıcak ve içten yaklaşımını hiçbir zaman benden esirgemeyen Prof. Dr. Duygu Özel Demiralp'e,

Akademik yolculuğumda örnek aldığım ve her zaman almaya devam edeceğim, Translasyonel Onkoloji Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Yasemin Başbınar'a,

Tezimin tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, her fırsatta benimle konuşan, çalışan ve bana yol gösteren Dr.Öğr.Üyesi Meltem Alper'e,

Bu yolda, içinde bulunduğum engellerden sıyrılmam için elinden gelen desteği sunan ve benim için çalışma arkadaşı tanımından daha büyük anlamlar taşıdıklarını bildiğim Asım Leblebici ve Caner Karaca'ya,

Tez İzleme Kurulu'nda ve Tez Jürisi'nde görev alarak kıymetli görüşlerini ve vakitlerini paylaşan değerli hocalarıma,

Her koşulda en büyük destekçilerim olduğunu ve bundan sonra da olacaklarını bildiğim, zoru kolaylaştıran ve mutluluklarını paylaşan annem Servin, babam Ali ve kardeşim Eren'e,

Neşeli sohbetinden keyif aldığım dedem İsa Koç'a,

Akıllarından ne geçtiğini zaman zaman tahmin edemediğim ancak beni her daim mutlu eden kedilerim Darwin, Milena ve Mercimek'e,

Bir kahve molasında dahi olsa beni dinlemekten imtina etmeyen ve kolumdan tutan fikir dostlarıma,

Adlarını yazmadığım ancak attığım her adımda yanımda olduklarını bildiğim
can dostlarıma,

Gittiği günden beri sevgisini aradığım ve anılarıyla teselli bulduğum
anneannem Nihal Koç'a,

Hiç bitmeyen teşekkürlerimi sunuyorum.

Selin İŞİDOĞRU

İzmir, Şubat 2023



İÇİNDEKİLER

TABLolar DİZİNİ	i
ŞEKİLLER VE GRAFİKLER DİZİNİ	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iii
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1.Problemin Tanımı ve Önemi.....	1
1.2. Araştırmanın Amacı.....	2
1.3. Araştırmanın Hipotezi.....	2
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kolorektal Kanser.....	3
2.2. Kolorektal Kanserin Biyolojik ve Moleküler Temelleri.....	3
2.2.1.Kromozomal İnstabilite (CIN).....	4
2.2.2. Mikrosatellit İnstabilitesi (MSI)	4
2.2.3. CpG Adaları Metilatör Fenotipi (CIMP)	5
2.3.Kolorektal Kanser Evreleri.....	5
2.4.Metastatik Kolorektal Kanser	6
2.5.Ekstraselüler Matriks (ECM).....	7
2.5.1. ECM'nin Majör Bileşenleri	7
2.5.2. ECM'nin Diğer Bileşenleri.....	9
2.6.Hücre Adezyon Molekülleri.....	9
2.6.1. Hücre-Hücre Adezyon Molekülleri.....	10
2.6.2. Hücre-Matriks Adezyon Molekülleri.....	11
2.7.Kolorektal Kanserde Hücre Adezyon Moleküllerinin İfadesi Nasıl Değişmektedir?.....	12
2.8. Kolorektal Kansere Tanı ve Tedavisinde Hücre Adezyon Moleküllerinin Potansiyeli Nedir?.....	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21

3.1. Araştırmanın Tipi.....	21
3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı.....	21
3.3 Araştırmanın Planı.....	21
3.4 Araştırmanın Evreni ve Örneklemi.....	21
3.5. Araştırmanın Değişkenleri.....	22
3.6. Veri Toplama Araçları.....	22
3.6.1 Transkriptom Veri Önışleme	25
3.7.Verilerin Analizi.....	25
3.8. Araştırmanın Sınırlılıkları.....	28
3.9. Etik Kurul Onayı.....	28
4. BULGULAR.....	29
4.1. Sayısal mRNA Ekspresyon Verilerinin Analizi.....	29
4.2. Gen Seti Zenginleştirme Analizi Sonuçları (GSEA)	32
4.2.1 Moleküler Fonksiyon Grupları ile Olan İlişkilerine Göre (GO).....	32
4.2.2. Moleküler Yolaklar ile İlişkilerine Göre (KEGG).....	38
4.2.3. Kansere Spesifik Özellikler ile İlişkilerine Göre (MSigDB).....	44
5. TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	66
7. KAYNAKLAR	68
8. EKLER.....	95
Ek-1: Etik kurul onayı.....	95
Ek-2: Özgeçmiş.....	97

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 2.1 KRK’de hücre adezyon moleküllerine yönelik klinik çalışmaları bulunan bazı biyomarkerlar.....	18
Tablo 2.1’in devamı 1 KRK’de hücre adezyon moleküllerine yönelik klinik çalışmaları bulunan bazı biyomarkerlar.....	19
Tablo 3.1 Araştırma Planı.....	21
Tablo 3.2 Analiz edilen transkriptom verilerinin dokulara göre örnek sayıları.....	22
Tablo 4.1 Primer ve metastatik dokuda ifadesi değişen genler	29
Tablo 4.2 Normal dokuya göre primer dokuda ekspresyonu değişen genlerin ilişkili olduğu moleküler fonksiyonlar ve anlamlılık değerleri	33
Tablo 4.3 Primer dokuya göre metastatik dokuda ekspresyonu değişen genlerin ilişkili olduğu moleküler fonksiyonlar ve anlamlılık değerleri.....	37
Tablo 4.4 Primer ve metastatik dokuda ifadesi değişen genlerin belirlenen 4 majör moleküler yollarla olan ilişkisi	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Kolorektal adenokarsinomanın çok basamaklı mekanizması.....	4
Şekil 2.2 Ekstraselüler matriks komponentleri	9
Şekil 2.3 İntegrin yapısı, alfa beta alt birimleri	11
Şekil 3.1 Gen Ontoloji anasayfasının görünümü.....	23
Şekil 3.2 AmiGO arama motorunda filtrelenmiş veriler.	23
Şekil 3.3 TCGA uzantısı GDC veri portalında ‘‘colorectal cancer’’ ve ‘‘cases’’ filtreleri sonucu veri sayıları.....	24
Şekil 3.4 TCGA uzantısı GDC veri portalında ‘‘colorectal cancer’’ ve ‘‘genes’’ filtreleri sonucu veri sayıları.....	24
Şekil 3. 5: R-TCGA biolinks paketi aracılığıyla TCGA veritabanından verilerin lokal olarak indirilmesi.....	25
Şekil-3. 6 İş akış şeması.....	27
Şekil 4.1 Normal dokuya göre primer dokuda ekspresyonu değişen genlerin enhanced-volcano grafiği	30
Şekil 4.2 Primer dokuya göre metastatik dokuda ekspresyonu değişen genlerin enhanced-volcano grafiği	31
Şekil 4.3 Normal dokuya göre primer dokuda mRNA ekspresyonu değişen genlerin Gen Ontoloji veri tabanındaki fonksiyon gruplarıyla ilişkisini gösteren grafik.....	34
Şekil 4.4 Primer dokuya göre metastatik dokuda mRNA ekspresyonu değişen genlerin Gen Ontoloji veri tabanındaki moleküler fonksiyon gruplarıyla ilişkisini gösteren grafik	35
Şekil 4.5 Normal dokuya göre primer dokuda mRNA ekspresyonu değişen genlerin KEGG veri tabanındaki moleküler yollarla arasındaki ağ ilişki grafiği.....	40
Şekil 4.6 Normal dokuya göre primer dokuda mRNA ekspresyonu değişen genlerin KEGG veri tabanındaki moleküler yollarla arasındaki ağ ilişki grafiği.....	43
Şekil 4.7 Normal dokuya göre primer dokuda ekspresyon seviyesi değişen genlerin kansere spesifik özellikleriyle arasındaki ağ ilişki grafiği.....	46
Şekil 4.8 Primer dokuya göre metastatik dokuda ekspresyon seviyesi değişen genlerin kansere spesifik özellikleriyle arasındaki ağ ilişki grafiği	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

KRK:	Kolorektal kanser
ECM:	Ekstraselüler matriks
EMT:	Epitelyal-mezenşimal dönüşüm
mRNA:	Mesajcı RNA
FAP:	Ailesel adenomatöz polip
CIN:	Kromozomal instabilite
MSI:	Mikrosatellit instabilitesi
CIMP:	CpG adası metilatör fenotipi
LOH:	Heterozigotluk kaybı
dMMR:	DNA yanlış eşleşme tamiri
HNPCC:	Hereditör non-polipozis kolorektal kanser HNPCC
TNM:	Tümör evreleme sistemi
FACIT:	Fibril ilişkili kolajenler
MACIT:	Membran ilişkili kolajenler
GAG:	Glikozaminoglikanlar
MMP:	Matriks metalloproteinazlar
ADAM:	Bir disintegrin ve metalloproteinaz
ADAMTS:	Trombospondin motifli ADAM'lar
IgSF:	İmmünoglobülin süper ailesi
IGSFCAM:	İmmünoglobülin süper ailesi hücre adezyon molekülü
MHC:	Majör histokompatibilite kompleks
TCR:	T hücre reseptör
ICAM:	Hücrelerarası adezyon molekülü
VCAM:	Vasküler hücre adezyon molekülü
MAdCAM-1:	Mukozal adresin hücre adezyon molekülü-1
ALCAM:	Aktive edilmiş lökosit hücre adezyon molekülü
PECAM:	Platelet endotelial hücre adezyon molekülü
CSC:	Kanser kök hücre
ROS:	Reaktif oksijen türleri
DLDH:	Dihidrolipoamid dehidrojenaz

DLDH^{RGD}: RGD motifli dihidrolipoamid dehidrojenaz
RGD: Aminoasit motif türü
HAV: Aminoasit motif türü
mAb: Monoklonal antikor
AML-LRC: Akut myeloid lösemide yeniden çoğalan lösemi popülasyonu
ESAM: Endotelyal hücre-geçirgenli adezyon molekülü
CAR: koksakivirüs-adenovirüs reseptörleri
PD-1: Programlı hücre ölümü-1
AJCC: Amerika Birleşik Kanser Komitesi
UICC: Uluslararası Kanser Savaş Örgütü
TCGA: Kanser Genom Atlas veri tabanı
COAD: Kolon adenokarsinom
DEG: Diferansiyel ekspresyon analizi
GSEA: Gen seti zenginleştirme analizi
KEGG: Kyoto Gen ve Genom Ansiklopedisi
GO: Gen Ontoloji
MSigDB: Moleküler-Spesifik Özellik Veri Tabanı
GDC: Genomik veri portalı
FC: Fold change
≤: Küçüktür veya eşittir
p değeri: İstatistiksel anlamlılık sınır değeri

KOLOREKTAL KANSERDE METASTATİK SÜREÇLERİ YÖNLENDİREN HÜCRE MATRİKS ADEZYONU İFADE DEĞİŞİMLERİ

Yüksek Lisans Tezi

Selin İŞİDOĞRU

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Translasyonel Onkoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Kanserin oluşumu genetik, epigenetik ve çevresel etkenlerden kaynaklanan çok mekanizmalı bir süreçtir. Kolorektal kanserin tanı ve tedavisi adına anlamlı sonuçlar elde edilmesine karşın, rutinde kullanılan yöntemlerin sınırlılıkları hâlâ mevcuttur. Bu sınırlılıklar ve kanserin metastatik karakteri nedeniyle, hastalığın süreci ölümle sonuçlanabilmektedir. Bu yüzden, kanserde erken tanı ve uygun tedavi için, metastaz biyolojisinin daha iyi anlaşılması gerekmektedir. Biyomarker temelli yöntemlerin uygulanabilirlik, maliyet ve hız bakımından daha avantajlı olabileceğinin anlaşılmasıyla birlikte, kolorektal kanserli dokuya spesifik gen ve gen ürünlerinin keşif araştırmaları süregelmektedir.

Gelişen teknolojiyle birlikte artan araştırmalar doğrultusunda gen ürünlerinin, metastaz biyolojisindeki önemi şiddetle vurgulanmaktadır. Metastaz oluşumu temelde EMT mekanizmaları ile ilgilidir. Hücre-matriks adezyon proteinlerini kodlayan genlerin fonksiyonlarında meydana gelen bozukluklar, adezyon moleküllerinin ekspresyon seviyelerinde değişime yol açmaktadır. Bu değişimlerin saptanması, biyoinformatik teknolojilerle, daha hızlı ve verimli sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır. Bu araştırmanın amacı, metastatik süreci yönlendiren hücre-matriks adezyon moleküllerinin ekspresyon seviyelerini, *in silico* yöntemlerle saptamak ve kolorektal kansere özgü biyomarker seti tanımlamaktır.

Bu çalışmada, TCGA ve Gene Ontoloji veri tabanlarında yer alan tüm kolorektal tümörlü hastaların mRNA sekansları, primer tümörlü ve metastatik karakterli hastalarda karşılaştırılma yapılarak hücre adezyon moleküllerinin ekspresyon değişimleri analiz edildi.

Bu araştırma kapsamında yapılan analizler doğrultusunda *L1CAM*, *MSLN*, *CD96*, *ITGAL*, *ITGB2*, *FERMT3* ve *HPSE* hücre-matriks adezyon moleküllerinin, KRK için potansiyel biyomarker niteliği taşıdığı literatürde de önerilmektedir. Ancak çalışmamızda anlamlı bulunan *PARVG* ve *VTN* genlerinin KRK progresyonu ve metastazına olan etkileri henüz aydınlatılmamıştır. Bu nedenle *in vitro* ve *in vivo* araştırmaların yapılması, bu genlerin KRK üzerindeki fonksiyonu ve biyomarker niteliği konusunda bilgi sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Kolorektal kanser, metastaz, epitelyal-mezenşimal dönüşüm, hücre-matriks adezyonu, biyomarker, *in silico*

Tezin Sayfa Adedi: 114

Danışman: Prof. Dr. Fatma Duygu Özel Demiralp

**ALTERATIONS IN EXPRESSION OF THE CELL-MATRIX ADHESION
MOLECULES WHICH DRIVE METASTATIC PROCESSES IN
COLORECTAL CANCER**

Master Thesis

Selin İŞİDOĞRU

DOKUZ EYLUL UNIVERSITY HEALTH SCIENCE INSTITUTE

Department of Translational Oncology

ABSTRACT

Carcinogenesis is a multistep process that arises from genetic, epigenetic, and environmental factors. Despite obtaining beneficial outcomes for colorectal cancer diagnosis and prognosis, there are challenges to current methods simultaneously. On the other hand, the disease can lead to fatality because of its specific feature called metastasis and its limitations. Thus, a better understanding of the biological process underlying metastasis is an urgent need for early diagnosis and favorable treatment. According to research, biomarker-based methods have more advantages concerning practicability, rapidity, and cost. Therefore, ongoing investigations for which genes and gene products that are CRC-specific as a biomarker.

Acutely emphasis on the crucial functions of gene products involved in the biology of metastasis by advancing technology that enhanced increasing research. Metastasis cascades are mainly related to the EMT process. Expression levels of cell-matrix adhesion proteins are altered by a deficiency in the function of genes that encodes these proteins.

Then, bioinformatics technologies allow the detection of these changes with more productivity and fast. The aim of this, determine alterations in the expression of the cell-matrix adhesion molecules at the mRNA level, drive metastatic processes in colorectal cancer *in silico* and identify a biomarker set that CRC specificity.

In this study, alterations of cell-matrix adhesion molecules have analyzed by comparison with all CRC samples in TCGA and Gene Oncology database in primary and metastatic tissue.

In conclusion, *L1CAM*, *MSLN*, *CD96*, *ITGAL*, *ITGB2*, *FERMT3*, and *HPSE* cell-matrix adhesion molecules have potential biomarkers for CRC, in the light of performed comparative analysis within the current thesis as well as literature data. However, *PARVG* and *VTN* genes are statistically significant, but our understanding of their roles is insufficient in CRC progression and metastasis. We can have a high opinion of their functions and biomarker potentials for CRC, in the direction of more *in vitro* and *in vivo* investigations.

Keywords: Colorectal cancer, metastasis, epithelial-mesenchymal transition, cell-matrix adhesion, biomarker, *in silico*

The number of pages of the thesis: 114

Advisor: Prof. Dr. Fatma Duygu Özel Demiralp

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1.1. Problemin Tanımı ve Önemi

Kolorektal kanser (KRK, *colorectal cancer*) dünyada en yaygın üçüncü ölümcül kanser türüdür. Gelişimini tamamlayarak ortaya çıkması uzun yıllar süren KRK için erken tanı oldukça önemlidir. Erken tanı hem sağkalımı hem de tedavinin verimini artırmaktadır (1–4).

Kanserin en önemli spesifik ölüm nedenlerinden biri metastazdır. Karmaşık mekanizmalardan meydana gelen metastaz, ekstraselüler matriks (ECM, *extracellular matrix*) ile etkileşimde olan çeşitli genler, bu genlerin ürünleri ve teşvik ettiği sinyal yolları tarafından düzenlenir. Normal epitelyal hücrelerin yaşayabilmesi için ECM'ye bağlanması gerekmektedir. Metastatik hücreler ECM yokluğunda ya da ECM'den ayrıldıklarında hayatta kalacakları bir mekanizma geliştirmek zorundadırlar. Bu mekanizmalar, tümör hücrelerinin, hücre-hücre, hücre-matriks adezyonu, hücre polaritesi, invazyon ve migrasyonu gibi bazı özelliklerindeki değişiklikleri kapsar. Bütün bunlar epitelden mezenşime dönüşüm (EMT, *Epithelial-Mesenchymal Transition*) olarak bilinmektedir. EMT sürecinin bazı karakteristik özellikleri vardır. Bu dönüşüm sürecinde hücre adezyon molekülleri spesifik davranışlar sergilemektedir. Metastaz öncesi süreçte adezyon moleküllerinde organa özgü ekspresyon değişimleri meydana gelmektedir (5–7).

Hücre adezyonu temel olarak hücrelerin birbirlerine ve matrikse olan bağlantılarını ifade etmektedir. Normal koşullarda hücreler, hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonu sayesinde belirli sınırlar içerisinde kalırlar. Hücre adezyonu metastaz oluşum sürecinde oldukça kritiktir.

Son yıllarda kolorektal kanser başta olmak üzere diğer kanser türleri adına da biyomarker tanımlanması için yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Biyomarkerların geliştirilme süreci ve klinik onay alması uzun yıllar süren geniş çaplı araştırmalar gerektirmektedir. Ancak yine de büyük bir kısmı düşük hassasiyet ve özgünlük göstermesi nedeniyle klinik kullanım onayını alamamaktadır. KRK çok basamaklı ve heterojenik bir hastalıktır. Bu anlamda KRK her ne kadar yaygın çalışılan ve hakkında oldukça bilgi sahibi olunan bir kanser türü olsa da hâlâ tam anlaşılabilmiş

değildir. Bunun yanında rutinde kullanılan tanı ve prognoz uygulamaları tam verimli sonuçlar sunmakta yetersiz kalmaktadır. Bu bağlamda kanserin önemli ve öldürücü özelliklerinden olan metastazın nasıl ve neden oluştuğunu bilmek onunla baş edebilmek adına gereklidir. Bu doğrultuda kolorektal kanserde metastaza yön veren adezyon moleküllerinin ifadelerindeki değişimlerin anlaşılması hedefe yönelik ve kişiye özgü terapiler geliştirmek adına son derece önemlidir.

Artan veri yoğunluğuna paralel olarak veri işleme teknikleri de değişmektedir. Gelişen teknoloji, biyolojik bilgilerin depolanmasını, organize edilmesini, işlenmesini ve analiz edilmesini kolaylaştırmıştır. Bu bağlamda, biyoloji ve matematik alanlarının ortak disiplini olan biyoinformatik, önemli bir araç olmuştur. Biyoinformatik, bilgisayar temelli veri işleme araçlarıyla, yüksek düzey biyolojik verileri geniş perspektiften inceleme imkânı sunmaktadır. Aynı amaç doğrultusunda araştırmacılar, kolorektal kanserin tanı ve tedavisinde, moleküler düzeyde, yeni ve alternatif bakış açıları sunan bu tekniklere sıklıkla başvurmaktadır (8).

Sonuç olarak literatürde, metastatik süreçte etkin rol oynadığı gösterilen hücre matriks adezyon moleküllerinin KRK'de primer ve metastatik evrelerdeki ifade değişimlerinin biyoinformatik analizlerle kapsamlı bir şekilde belirlenmesi, bu moleküllerin metastazdaki fonksiyonları hakkında daha detaylı olarak yapılacak araştırmalar için temel bir basamak oluşturacaktır. Aynı zamanda primer ve metastatik evreyi ayırmamızı sağlayan molekül ya da moleküllerin belirlenmesini sağlayacaktır.

1.2. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmada, kolorektal kanserde primer erken ve metastatik evreleri ayırabilmek amacıyla, tümör progresyonunda metastaz sürecine öncülük eden hücre-matriks adezyon moleküllerindeki ifade değişimlerinin biyoinformatik yöntemler kullanılarak tanımlanması amaçlanmıştır.

1.3. Araştırmanın Hipotezi

Bu çalışmanın hipotezi kolorektal kanserde hücrelerin ekstraselüler matrikse adezyonunu sağlayan bazı moleküllerin ifadelerinde meydana gelen değişimlerin, tümörün metastatik özellik kazanmasında rol oynayacağı yönündedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kolorektal Kanser

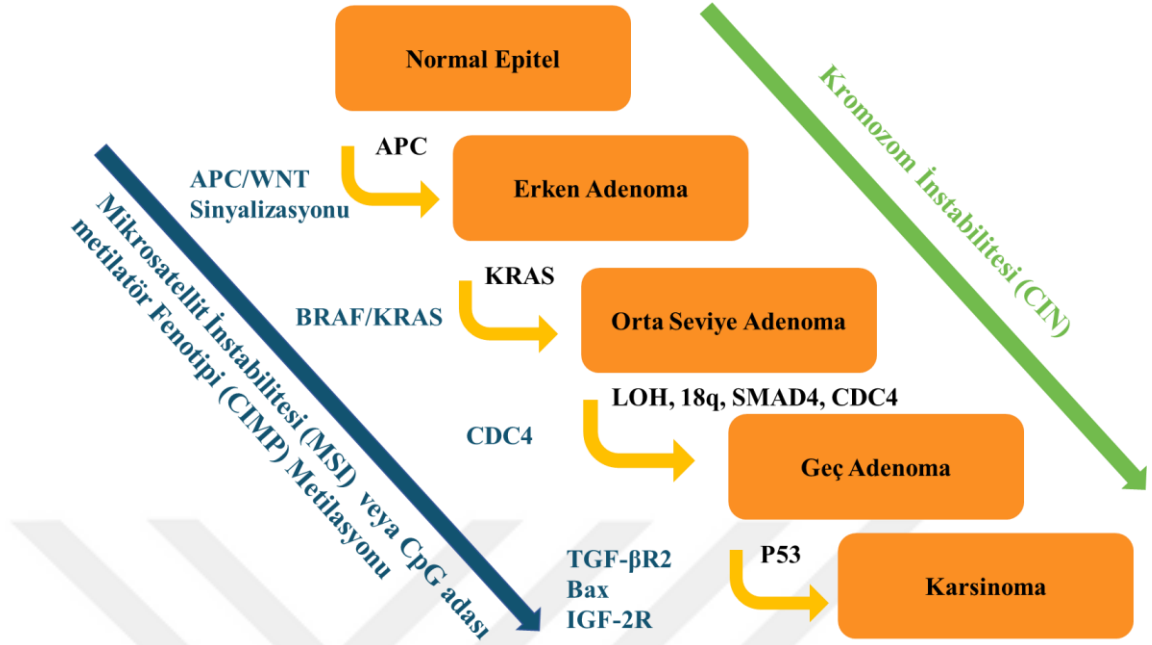
Kolorektal kanser, bir sindirim kanalı malignansisidir ve tüm dünya genelinde görülen üçüncü en yaygın kanser türüdür. Dünya genelinde kanser kaynaklı ölümlerde ikinci sırada yer alır. İnsidans ve mortalite erkeklerde, kadınlara oranla daha yüksektir. En yüksek insidansın ve mortalitenin görüldüğü yerler Avrupa, Okyanusya ve Kuzey Amerika'dır. En düşük insidans ise Afrika ve Güney Merkez Asya'da görülmektedir. Türkiye'de hem erkek hem de kadınlarda en sık izlenen 3. kanser türüdür (1,9–11). Kolorektal kanser oluşumunda öncelikle normal kolon ve rektal epitel hücreleri, kanser öncüsü adenomatöz lezyonlar haline dönüşür ve sonrasında invaziv karakter kazanarak farklı organlara yayılır. Karaciğer en fazla etkilenen organdır (12–14).

Kolorektal kanser gelişimini etkileyen çok sayıda risk faktörü vardır. Bunlar genetik ve çevresel faktörler olarak iki başlık altında toplanabilir. Kalıtsal faktörler (ailesel polip öyküsü, Lynch Sendromu), aile öyküsü (ailesel adenomatöz polip-FAP, *familial adenomatous polyp*) yangılı bağırsak hastalığı, cinsiyet, yaş, ırk, eşlik eden hastalıklar (diyabet, insülin direnci, akromegali, koleşistomi), immün baskılayıcı tedaviler, kistik fibröz, androjen ablasyon tedavisi olarak sıralanabilir. Çevresel faktörler ise beslenme, alışkanlıklar ve yaşam tarzıdır (1,15–18).

2.2. Kolorektal Kanserin Biyolojik ve Moleküler Temelleri

Kolorektal kanser oluşumunda, DNA tamir mekanizmaları ile bağlantılı olan onkogen ya da tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonlar etkili olmaktadır. Hem genetik hem de epigenetik instabilite KKK oluşumu ve gelişiminde önemli rol oynar (Şekil-2.1).

KKK patojenisinde temelde üç farklı moleküler mekanizma rol oynamaktadır. Bunlar; kromozomal instabilite (CIN, *chromosomal instability*), mikrosatellit instabilitesi (MSI, *microsatellite instability*) ve CpG adası metilatör fenotipi (CIMP, *CpG island methylator phenotype*) olarak bilinmektedir (19–21).



Şekil-2. 1:Kolorektal adenokarsinomanın çok basamaklı mekanizması. Araştırma (18)'de yer alan görselden uyarlanmıştır.

2.2.1.Kromozomal İnstabilite (CIN)

Kromozomal instabilite, KRK'de gözlenen en yaygın genomik instabilite türüdür. Tüm kromozomun ya da kromozomdaki bir bölgenin kaybı veya kazanımı yoluyla ortaya çıkar. Kromozom sayısında dengesizlik (anöploidi), kromozomal genomik amplifikasyonlar ve heterozigotluk kaybı (LOH, *loss of heterozygosity*) ile sonuçlanır.

CIN yolağı oldukça önemli bir tümör baskılayıcı olan APC geninde görülen mutasyonlar ya da kromozomun 5q bölgesinde APC genini içeren kısmın kaybı, KRAS onkogeninde meydana gelen mutasyonlar ve TP53 tümör baskılayıcı genini içeren kromozomun 18q bölgesinin kaybı ve kromozom 17p bölgesindeki delesyonlar ile bağlantılıdır (15,22,23).

2.2.2. Mikrosatellit İnstabilitesi (MSI)

DNA yanlış eşleşme tamir (dMMR, *DNA mismatch repair*) genlerinde meydana gelen mutasyonlar sonucu ortaya çıkan MSI kalıtsal ve sporadik kolorektal kanser vakalarının altında yatan oldukça önemli bir genomik instabilite türüdür

Mikrosatellitler tüm genom boyunca bulunan kısa tekrarlı nükleotid dizileridir ve replikasyon sırasında mutasyonlara oldukça açıktır. DNA tamir sistemi replikasyon sırasındaki yanlış eşleşmeleri fark eder ve onarır. MSI, MMR sistemindeki fonksiyon kaybının bir göstergesidir.

Hereditör non-polipozis kolorektal kanser (HNPCC, *hereditary non-polyposis colorectal cancer*, Lynch sendromu), MMR genlerinde meydana gelen mutasyonlar sonucunda ortaya çıkar. MSI, HNPCC'nin en belirgin özelliğidir ve HNPCC'li hastalarda genç yaşta KRK gelişimi gözlenir (23)

2.2.3. CpG Adaları Metilatör Fenotipi (CIMP)

CIMP, hücre döngüsü regülasyonu, apoptoz, anjiyogenez, DNA tamir, invazyon ve adezyon ile ilgili genlerin promotör bölgelerinde bulunan CpG dinükleotid sekanslarının hipermetilasyona uğramasıdır. Promotör hipermetilasyonu ilgili genin ekspresyonunu baskılar. CIMP, kolorektal kanser vakalarının yaklaşık %20-%30'unda bulunur. Metillenen markerların sayısına bağlı olarak CIMP-yüksek ve CIMP-düşük fenotip olarak sınıflandırılabilir. BRAF onkogen mutasyonu genellikle CIMP-yüksek KRK'de görülür. KRAS mutasyonu ise CIMP-düşük fenotipinin göstergesidir (24).

2.3.Kolorektal Kanser Evreleri

Kolorektal kanserin klinik ve patolojik olarak sınıflandırılması, hastalığın prognozu ve tedavisi açısından oldukça önemlidir. AJCC (*American Joint Committee on Cancer*) ile UICC'nin (*Union for International Cancer Control*) birlikte geliştirdiği TNM (tümör-nod-metastaz, *tumor-node-metastasis*) evreleme sistemi dünyada kabul gören sistemdir (25).

TNM sistemi erken (evre I) ve geç (evre IV) evreli KRK hastaları için güçlü bir prognoz imkânı sunar. Evre II ve III'lü hastaların ise prognozu ve akıbeti için daha heterojen tanımları mevcuttur (16,25).

Tümör (T) evrelemesi; tümörün hangi katmandan ve hangi dokudan (kolondan veya rektumdan) geliştiğini, tümörün büyüklüğünü ve bulunduğu katmanı tanımlar. İleri T evresi artan nod metastazı ve uzak metastazla ilişkilidir (26,27)

Primer tümör evrelemesi (T) şu şekilde tanımlanmıştır; Tx; tümör ölçülebilir değildir. T0; primer tümöre dair bir kanıt yoktur. Tis; karsinoma in situ olarak tanımlanır. T1; tümör submukozadadır. T2: Tümör mukozanın altındaki tabakayı (muskularis propriya) istila eder. T3; tümör perikolorektal dokuyu istila eder. T4a; tümör viskeral periton yüzeyine yapışır. T4b; tümör direkt olarak öteki organa sıçrar (26,27).

Nod (N) evrelemesi; tümörün yakınlardaki lenf nodu, doku veya organları etkileyip etkilemediğini ve etkilenen lenf nodu sayısını tanımlayan evredir (26,27)

Bölgesel Lenf Nodu (N) evrelemesi şu Şekil-de tanımlanmıştır: Nx; bölgesel lenf nodu ölçülebilir değildir. N0: Nod metastazı gerçekleşmemiştir. N1; 1-3 bölgeye nod metastazı gerçekleşmiştir. N1a, 1 bölgesel lenf nodu varlığı söz konusudur. N1b, 2-3 bölgesel lenf nodu gerçekleşmiştir. N1c; tümör metastaz yapmadan doku katmanlarını istila eder. N2; 4 veya daha fazla sayıda bölgesel lenf nodu metastazı gerçekleşir. N2a; 4-6 sayıda bölgesel lenf nodu gerçekleşir. N2b; 7 veya daha fazla sayıda bölgesel lenf nodu gerçekleşir.

Metastaz (M) evrelemesi; uzak metastaz varlığını (evre IV) tanımlayan ve en güçlü prognoz imkânı sunan evredir. En yaygın uzak metastaz karaciğer metastazıdır. Bunu akciğer, kemik ve diğer bölgeler izler (26,27)

Uzak metastaz (M) evrelemesi şu Şekil-de tanımlanmıştır: M0; uzak metastaz gerçekleşmemiştir. M1; uzak metastaz varlığını tanımlar. M1a; metastaz tek bir organ veya bölgededir. M1b; metastaz 1 veya daha fazla organ veya bölgede gerçekleşmiştir.

2.4. Metastatik Kolorektal Kanser

Kanserin en önemli spesifik ölüm nedenlerinden biri metastazdır. Çok basamaklı mekanizmalardan meydana gelen metastaz, ekstraselüler matriks (ECM) ile etkileşimde olan çeşitli genler, bu genlerin ürünleri ve teşvik ettiği sinyal yolları tarafından düzenlenir. Normal epitelyal hücrelerin yaşayabilmesi için ECM'ye bağlanması gerekmektedir. Metastatik hücreler ECM yokluğunda ya da ECM'den ayrıldıklarında hayatta kalacakları bir mekanizma geliştirmek zorundadırlar. Bu mekanizmalar, tümör hücrelerinin, hücre-hücre, hücre-matriks adezyonu, hücre polaritesi, invazyon ve migrasyonu gibi bazı özelliklerindeki değişiklikleri kapsar.

Bütün bunlar epitelden mezenşime dönüşüm (EMT) olarak bilinmektedir. Dolayısıyla EMT, invazif ve metastatik fenotip göstermektedir. Bununla birlikte EMT sürecinin bazı karakteristik özellikleri vardır. Bu dönüşüm sürecinde hücre adezyon molekülleri spesifik davranışlar sergilemektedir. Örneğin, E-kaderin molekülünün ekspresyon seviyesindeki azalma, Metastaz öncesi süreçte adezyon moleküllerinde organa özgü ekspresyon değişimleri meydana gelmektedir (5–7,28).

Anatomik yapısı nedeniyle kolorektal kanserde en sık karşılaşılan uzak doku metastazlarından biri karaciğer metastazıdır. Kolorektal kanserde karaciğer metastazı çok basamaklı bir süreçtir. Bu süreç kolon epitel hücrelerinde bir dizi mutasyonların oluşumu ile başlar ve hücrelerin yüzeyden ayrılarak kana ve lenfatik dolaşıma difüze olması, sonrasında ise hepatik sinüzoidlere tutunması ile devam eder. Bu hücreler, karaciğerde Kupffer ve Stella hücreleri gibi sinüzoid hücrelerle etkileşime girer. Metastatik kolorektal kanser hücrelerinin karaciğer parankimasına invazyonu, bu bölgeye adaptasyonu ve kolonizasyonu ile sonuçlanır (29,30).

Akciğerler, KRK’de gözlenen ikinci en yaygın uzak metastaz bölgeleridir. Rektal kökenli kanser hastalarında, akciğer metastazı görülme oranı kolon kökenli olanlara göre daha yüksektir (31,32).

Periton metastazı yaklaşık her dört KRK’lı hastadan birinde görülen kötü prognozlu diğer bir uzak metastaz tipidir. Kemik metastazı karaciğer ve akciğer metastazlarına göre daha nadir gözlenmektedir. Asemptomatik seyreden adrenal metastazlar, kanser hücrelerinin kolorektal dokudan akciğer aracılığıyla toplardamara, lenfatik sisteme ve kan dolaşımına sıçrayarak gerçekleşebileceği için hastalığın geniş bir alana yayılmış olduğunu gösterir. KRK ovaryumda (%3-%10 oranında) metastaz yapabilmektedir (33–35)

2.5.Ekstraselüler Matriks (ECM)

2.5.1. ECM’nin Majör Bileşenleri

Ekstraselüler matriks, makromoleküllerden oluşan hücre ve dokulara yapısal desteklik sağlayan üç boyutlu, dinamik bir yapıdır (Şekil-2.2). ECM, proliferasyon, adezyon, migrasyon, farklılaşma ve apoptoz gibi hücrenin en temel davranış ve karakteristiklerini belirler ve kontrol eder. Ayrıca büyüme faktörleri ve biyoaktif molekülleri bünyesinde barındırır (36–38).

Kolajenler, ECM'de en fazla bulunan yapısal proteinlerdir. Fibroblastlar tarafından sentezlenir. Dokulara gerilim kuvveti sağlamasının yanı sıra adezyon ve migrasyon gibi hücrel süreçlerde önemli rol oynar. Domain benzerlikleri ve fonksiyonlarına göre kolajenler yedi kategoride sınıflandırılabilirler; fibriler kolajenler ve ağ oluşturan kolajenler (I, II, III, V, XI, XXIV, XXVII), FACIT'ler (fibril ilişkili kolajenler, *Fibril Associated Collagens with Interrupted Triple-helices*, tip IX, XII, XIV, XVI, XIX, XX, XXI, XXII), MACIT'ler (membran ilişkili kolajenler, *Membran Associated Collagens with Interrupted Triple-helices*, tip XIII, XVII, XXIII, XXV), bağlayıcı kolajenler (tip VII), boncuklu fibril oluşturan kolajenler (VI, XXVI, XXVIII), Multipleksinler (*multiplexins*, endostatin üreten kolajenler, tip XV, XVIII).

Elastinler, ECM'de kolajenlerle yakından ilişkili diğer yapısal protein grubudur. Elastinler, kolajenler ve mikrofibriler proteinler gibi matriks proteinlerle etkileşim hâlinindedir. Tendonların esnekliğinin ve gerginliğinin düzenlenmesinden sorumludur (36,39–41).

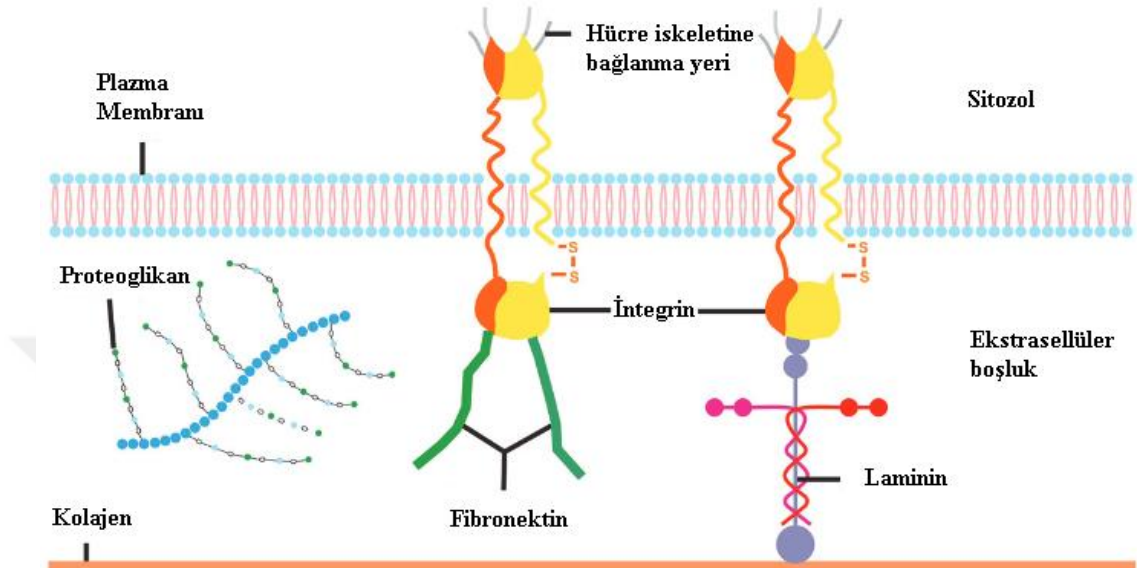
Fibronektinler (*fibronectins*), hücrelerin adezyonu ve migrasyonu için kritik öneme sahip diğer bir ECM bileşenidir. Biyolojik tutkal görevi görürler. Yara iyileşmesi ve embriyonik gelişim gibi süreçlerde görev yapar. İntegrinlere ek olarak diğer ECM bileşenlerinden kolajen, fibrin ve heparan sülfat proteoglikanlarına bağlanırlar (36).

Lamininler (*laminins*), ECM'de bulunan glikoproteinlerdir. Lamininler, yüzey proteoglikanlarına ve integrin gibi transmembran proteinlerine bağlanarak hücre adezyonu, farklılaşması ve migrasyonu gibi temel süreçlerde görev alırlar. Bazal membranda kolajen tip IV ile birlikte bulunurlar (36).

Tenaskinler (*tenascins*), mekanik aktivite ile ilişkilidir. Mekanik uyarıcılar tenaskin C ekspresyonunu indükler. Yaralanma sonrası tenaskin-C interim matrikste eksprese edilir. Bağ dokunun yük direncini sağlayan tipik elemanlarıdır (39).

ECM'de yer alan diğer makromolekül grubu proteoglikanlardır. Proteoglikanların temel proteini glikozaminoglikanlardır (GAG, *glycosaminoglycans*). GAG'lar içerdikleri şeker tiplerine, yapılarındaki sülfat sayısına ve konumuna göre dört gruba ayrılırlar. Bunlar; Hyaluronik asit (*hyaluronic*

acid), kondroitin/dermatan sülfat (*chondroitin/dermatan sulfate*), heparan sülfat (*heparan sulfate*) ve keratan sülfattır (*keratan sulfate*) (36).



Şekil-2. 2: Ekstrasellüler matriks komponentleri (42)

2.5.2. ECM'nin Diğer Bileşenleri

Büyüme faktörleri ve proteolitik enzimler ECM'de bulunan diğer biyoaktif moleküllerdir. Küçük ve kararlı polipeptit yapıda olan büyüme faktörleri ekstrasellüler boşlukta veya membrana bağlı olarak bulunur. Hücrelerin birbirleriyle iletişimini sağlar. Hücre büyümesi, migrasyon, farklılaşma, apoptoz gibi süreçleri regüle eder. Matriks metalloproteinazlar (MMP, *metalloproteinase*), bir disintegrin ve metalloproteinazlar (ADAM, *A disintegrin and metalloproteinase*) trombospondin motifli ADAM'lar (ADAMTS, *ADAM with thrombospondin motifs*), katepsin G (*cathepsin G*) ve elastaz, ECM bileşenlerini işleme özelliğine sahip proteolitik enzimlerdir. Bu nedenle ECM'nin yeniden modellenmesinde rol oynarlar (43–45).

2.6. Hücre Adezyon Molekülleri

Hücre adezyonu, hücre-hücre adezyonu ve hücre-matriks adezyonunu ifade etmektedir. Hücrelerin birbirlerine ve hücrelerarası matrikse adezyonu onların belirli sınırlar içerisinde kalmasını sağlayan en önemli etmendir. Hücrelerin adezyonu ve

de-adezyonu hücreyel hareketlilik için ön koşuldur. Hücreyel hareketlilik ise kanser metastazı için temel gerekliliktir. Adezyon, metastatik kanser hücrelerinin uzak bölgelere yerleşmesine de aracılık eder. Hücre adezyonu, sadece hücrelerin hücrelere veya matrikse bağlanmasını sağlamakla kalmaz, aynı zamanda integrin aracılı hücre proliferasyonu ve sağkalım yollarlarını aktive eder. Hücre-hücre adezyonu, hücre içi iskeletlerinin birbirlerine, hücre-matriks adezyonu ise hücre içi iskeletin ECM komponentlerine bağlanmasıyla meydana gelir.

Hücre adezyon molekülleri 5 grup altında toplanabilir. Bunlar; integrin, selektin, kaderin, immünoglobülin süper ailesi (IgSF, *immunoglobulin super family*) ve adezyonda rol alan bazı enzimlerdir. Her adezyon molekülünün bağlandığı ligand farklıdır. İntegrinler hücreler arası matrikse bağlanırken selektin, kaderin ve IgSF hücre-hücre adezyonuyla ilişkilidir (46).

2.6.1. Hücre-Hücre Adezyon Molekülleri

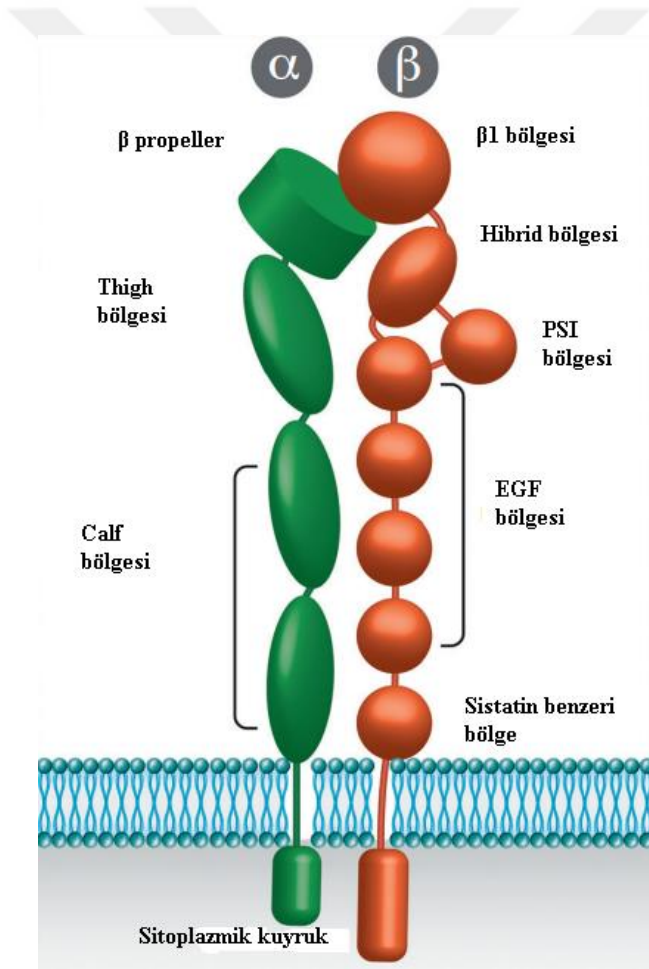
Hücre adezyon molekülleri hücreler arası etkileşim için pek çok mekanizma tarafından düzenlenmektedir. Kaderinler (*cadherins*), kalsiyum bağımlı olarak görev yapan hücre-hücre adezyon moleküllerindendir. Epitel hücreler (E-kaderin), sinir hücreleri (N-kaderin), kas ve lens hücrelerinde (P-kaderin) bulunmaktadır.

Hücre-hücre adezyonunu sağlayan moleküllerden selektinler (*selectins*) de kalsiyum bağımlı olarak çalışır. Platelet, endotel hücreler ve lökositlerde bulunur. Lökosit trafiği, lenfositlerin periferik lenf nodlarına ve cilde migrasyonunda rol oynar. Hücre adezyon kaskadının ilk iki basamağında görev yapar (47,48).

IgSF üyeleri en az bir immünoglobülin veya immünoglobülin benzeri domain içeren transmembran proteinlerdir. Majör histokompatibilite kompleksi sınıf I-II (MHC, *majör histocompatibility complex class I-II*), T hücre reseptör (TCR, *T cell receptor*) proteinleri, hücre içi adezyon molekülleri (ICAM, *intercellular adhesion molecules*), vasküler hücre adezyon molekülleri (VCAM, *vascular cell adhesion molecules*), mukozal adresin hücre adezyon molekülü 1 (MAdCAM-1, *mucosal addressin cell adhesion molecule-1*) ve aktive edilmiş lökosit hücre adezyon molekülü (ALCAM, *activated leukocyte cell adhesion molecule*) bu aileye ait adezyon molekülleridir. MAdCAM-1, Ig ve müsin domainlerinin ikisini içerdüğinden her iki ailenin de üyesidir (46).

2.6.2. Hücre-Matriks Adezyon Molekülleri

Hücreler matriksi üretir, organize ve degrede eder. Transmembran hücre adezyon proteinleri, matriks reseptörleri gibi hareket eder. İntegrinler (*integrins*), hücre-matriks adezyonundan sorumlu hücre yüzey adezyon reseptörleridir. α ve β alt birimlerinden oluşan integrinler heterodimerik yapıdadır. Hücrenin çift yönlü sinyalizasyonunu sağlar. İnsanda 18 farklı α alt birimi ve 8 farklı β alt birimi, toplamda ise 24 farklı integrin heterodimeri bulunmaktadır. Farklı integrinler farklı ligandlara (RGD-Arg-Gly-Asp, kolajen ve laminin reseptörleri, vs.) bağlanabilmektedir. İntegrin heterodimer yapısı Şekil- 2.3'te gösterilmiştir (36,49).



Şekil-2. 3: İntegrin yapısı, alfa beta alt birimleri (50)

2.7.Kolorektal Kanserde Hücre Adezyon Moleküllerinin İfadesi Nasıl Değişmektedir?

Hücre adezyon molekülleri kolorektal kanserin metastatik potansiyel kazanmasında önemli rol oynar. Kaderin ve kateninlerin (*catenins*) ifadelerinin azalması tümör hücrelerinin primer dokudan ayrılmasını kolaylaştırır. Selektinlerin, integrinlerin ve IgSF üyelerinin ekspresyonunun artması neoplastik süreci, intravazasyonu ve malignan hücrelerin diğer dokulara tutunmasını yani metastazı teşvik eder (51).

Hücre adezyon molekülleri olan kaderinler, kateninlerle sitoplazmik kuyrukları aracılığıyla etkileşerek kararlı bir bağlantı (*adherens junction*) oluşturur. Kararlı hücre-hücre bağlantıları, hücre morfolojisinin devamlılığı ve motilitenin regülasyonu açısından önemlidir. β katenin embriyonik ve postnatal süreçte karaciğer gelişiminde rol oynamaktadır. KRK'de ise kaderin-katenin sistemi hem primer hem de metastatik evrede tümör oluşumunda görev yapar. KRK'lı hastalarda E-kaderinin yüksek ekspresyonu karaciğer metastazı, kötü prognoz ve düşük sağkalımla ilişkilidir (51).

IgSF hücre adezyon moleküllerinden (*IgSFCAM*), vasküler hücre adezyon molekülü 1'in (VCAM1, *vascular cell adhesion molecule-1*) ekspresyonu kolorektal kanserli dokuda artış göstermektedir. VCAM1 aynı zamanda integrin $\alpha 4\beta 1$ ve $\alpha 4\beta 7$ 'nin ligandı gibi hareket etmektedir. VCAM1 ve $\alpha 4\beta 1$ adezyon moleküllerinin T hücresinde artan ekspresyonu, tümör mikro çevresindeki T hücre miktarını düşürür. Bu Şekil-de kanser hücresinin immün sistemden kaçışı gerçekleşir. Diğer bir IgSFCAM üyesi hücrelerarası adezyon molekülü 1 (ICAM1, *intercellular adhesion molecule-1*) normal kolorektal dokuda düşük düzeyde ekspresyon gösterir veya hiç eksprese edilmez. Primer tümörde ICAM1'in ekspresyonu önemli derecede artar ve uzak doku metastazına öncülük eder. Bu hususta yapılan klinik çalışmalarda artan ICAM1 konsantrasyonunun evre-II KRK için potansiyel prognostik marker olabileceğini ileri sürülmüştür. KRK için önemli diğer bir IgSFCAM üyesi olan platelet endotelial hücre adezyon molekülü 1'in (PECAM1, *platelet endothelial cell adhesion molecule-1*) artan ekspresyonu anjiyojenez ile ilişkilidir. Dolayısıyla bu üç IgSFCAM molekülünün klinik araştırmalar için önemi son derece büyüktür (51).

Selektin hücre adezyon molekül ailesi üyelerinden P, E ve L selektin lökosit aktivitesini engeller. Genetik analizler yüksek E-selektin konsantrasyonunun metastatik kolorektal hücrelerin genomunda değişikliklere neden olduğunu göstermiştir. E-selektin, kolorektal hücrelerin karaciğer ve hematogen metastazında rol oynarken L-selektin ise ileri evre metastazla ilişkilidir (51,52)

Hücre-matriks adezyon moleküllerinden integrinin türü ve ekspresyonu normal, primer ve metastatik dokulara göre farklılık gösterir. Kolorektal adenomada genellikle $\beta 1$ ve $\alpha 5$ alt birimli integrinlerin ekspresyonunda artış gözlenir. Birçok çalışmada αv alt birimli integrinlerin primer tümörde eksprese edildiği ve metastazı indüklediği ortaya konmuştur. $\beta 4$ alt birimli integrinler, onkogen aktivasyonuna neden olur. Aynı zamanda integrin $\beta 4$ 'ün EMT sırasında ifadesi azalırken, EMT sonrası ifadesi artmaktadır. $\beta 1$ - $\beta 2$ integrinleri, mitojenle indüklenebilen gen 2 ile (MIG-2, *mitogen inducible gene 2*) etkileşime girerek, fokal adezyon protein ekspresyonuna yol açar. Eğer bu etkileşim engellenirse, ECM adezyonu azalır ve KRK hücreleri yüksek motilite gösterir. KRK'de integrin $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 9\beta 1$ ve $\alpha v\beta 3$ 'ün artan ekspresyonu karaciğer metastazında rol oynar. Bunun yanında, integrin $\alpha 5\beta 1$ -fibronektin etkileşimi ve integrin $\alpha 4\beta 1$ ise anjiyogeneze öncülük eder (51,53).

2.8. Kolorektal Kanseri Tanı ve Tedavisinde Hücre Adezyon Moleküllerinin Potansiyeli Nedir?

Günümüzde klinikte kolorektal kanser için kullanılan tanı yöntemleri kolonoskopi temellidir. Kolonoskopi KRK tanısında altın standart olmakla birlikte invaziv bir metot olması bakımından hastalar açısından dezavantajlıdır. Bunun yanı sıra gFOBT (gaytada gizli kan testi, *a guaiac fecal occult blood test*) ikinci en yaygın kullanılan, invaziv olmayan ve gaytada hemoglobin peroksidaz aktivitesini saptamaya yönelik bir yöntemdir. Ancak bu yöntemin hassasiyeti düşüktür. Ayrıca, KRK tanısında semptom temelli yaklaşımların, spesifik semptomların saptanamaması bakımından, hata oranı yüksektir. Bu yüzden invaziv olmayan, spesifikliği yüksek ve maliyeti düşük yeni stratejilerin geliştirilmesi oldukça önemlidir. Literatüre bakıldığında, moleküler araştırmalarda, KRK'nin farklı evrelerinde bazı spesifik moleküllerin ekspresyon seviyelerinin değişebildiği gözlenmiştir. Bu bakımdan, KRK'de erken tanı, prognostik sınıflama, sürveyans ve

terapi seçimi için biyomarker olarak kullanılabilme potansiyelleri mevcuttur. Artan adjuvant ve neo-adjuvant terapötik stratejilerde, karar alma sürecinin hızlandırılması için prediktif biyomarkere ihtiyaç duyulmaktadır (54).

Günümüzde kan veya dışkı analizinden elde edilen çeşitli biyomarkerlar bulunmaktadır. Örneğin, Adenomatöz Polipozis Koli (APC, *adenomatous polyposis coli*) ve karsinoembriyonik antijen (CEA, *carcinoembryonic antigen*) KRK tanısında klinikte kullanılıyor olsa da doğruluk ve özgüllük açısından yeterli değildir (55,56).

Literatürde hücre adezyon proteinlerinin önemi ve biyomarker olma potansiyelinin anlaşılmasından itibaren yeni moleküllerin tanımlama çalışmaları süregelmektedir. Bunun yanında hücre-matriks ve hücre-hücre adezyon proteinlerinde meydana gelen değişiklikler hücre tipine spesifik olarak gerçekleşmektedir. Bu doğrultuda adezyon moleküllerinin dayanıklılığının veya fonksiyonunun ölçülebilmesi için tek hücre veya hücre popülasyonları üzerinde disiplinler arası çok sayıda modeller geliştirilmektedir (57–63).

Hücre-matriks adezyon moleküllerinin majör grubu olan integrin ailesinin önemi anlaşılmaya başlandığından beri integrin temelli tedaviler üzerine yoğun çalışmalar yapılmaktadır. İntegrin hedefli stratejiler, integrin aktivasyonu, ligand bağlanması, fokal adezyon formasyonu ve hücre iskeleti bağlantıları gibi ilişkili olduğu organizasyonlarla ilgilidir. Anti-integrin temelli terapilerin ve pre-klinik çalışmaların büyük bir kısmı integrin antagonistleri üzerinden ilerlese de farklı terapötik yaklaşımlar mümkündür. Karsinogenez ve metastaz sürecinde β alt birimli integrinlerin önemli rolü vardır. KRK'de en yaygın görüleni, integrin $\beta 4$ ve $\alpha 6$ alt birimlerinin aşırı ekspresyonudur. Örneğin, $\alpha 6\beta 4$ proliferasyonu ve migrasyonu indükler. Bu alt birimler, erken tanı ve prognostik biyomarker niteliği taşımaktadır. Bunun yanında integrin $\alpha \beta 5$ 'nin aşırı ekspresyonunun KRK'de, prognostik biyomarker potansiyeli olduğu ileri sürülmektedir. Bunun yanında $\alpha 1$ alt birimli integrinlerin KRK hücrelerinde ekspresyon seviyesinin arttığı ve invazyonu indüklediği gözlenmiştir ve $\alpha 1\beta 1$ 'in KRK progresyonunu indükleyici rolü olduğu ileri sürülmektedir. Bir diğer integrin molekülü $\alpha \beta 6$ 'nın artan ekspresyonu, KRK invazyonu ile pozitif korelasyon göstermektedir. Buna zıt olarak KRK hücrelerinde, integrin $\alpha 8\beta 1$ 'in ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir. Biyomarker çalışmalarının

yanında integrin hedefli ilaçlar da geliştirilmektedir. Örneğin, KRK'de integrin $\alpha\beta3$ için geliştirilen Etaracizumab metastazı engellediği gözlenirken, MEDI-522 antikanser aktivitesi göstermektedir. Bunun yanında Avastin, KRK tedavisinde kombinasyon terapilerde kullanılmaktadır. Peptit antagonistleri genellikle integrin $\alpha\beta3$ ve $\alpha\beta5$ 'ü, mAb'lar ise direkt olarak integrin $\alpha\beta3$ 'ü hedeflemektedir. Benzer şekilde integrin temelli ve biyoteknolojik olarak farklı kanser türleri için de geliştirilmekte olan ilaçlar vardır. Örneğin melanomada, apoptozu indükleyen dihidrolipoamid dehidrojenaz (DLDH) ilacı modifiye edilerek RGD sekansı içeren (DLDH^{RGD}) ilacına dönüştürülmüştür. DLDH^{RGD} ilacı, $\alpha\beta3$ integrini hedefleyen ve reaktif oksijen türleri (ROS, *reactive oxygen species*) üretimini artıran bir ilaçtır. Yüksek seviyede $\alpha\beta3$ eksprese eden kanser hücreleri, bu molekülü hücre içine alarak, aşırı ROS üretiminin meydana getirdiği sitotoksosite ile apoptotik süreci başlatmaktadır (64–66).

Hücre adezyon moleküllerinin diğer önemli ailesi kaderinlerdir. Tip I kaderinlerden E-kaderinin EMT sürecinde metastazı etkileyen fonksiyonları olduğu bilinmektedir. KRK'de E-kaderinin ekspresyonunun azalması metastatik süreci indüklemektedir. Bazı çalışmalarda α -katenin ve E-kaderin moleküllerinin eşzamanlı azalması da invazyon ve metastazla ilişkilendirilmiştir. KRK'de, E-kaderinin azalan ekspresyonu prediktif, hepatik metastaz için ise prognostik marker niteliği taşımaktadır. Bir diğer tip I kaderin olan N-kaderinin artan ekspresyonu, KRK'de sıklıkla gözlenen bir durumdur. Artan N-kaderin ekspresyonunun, KRK için prediktif ve prognostik biyomarker olabileceği ve yeni tedaviler için terapötik hedef olabileceği ileri sürülmektedir. N-kaderin antagonistlerinin, hücre adezyonunu inhibe ederek tümör metastazını engellediği gözlenmiştir. Örneğin, bir sentetik siklik peptit olan ADH-1 melanomada apoptozu indüklerken, hastalığın progresyonu KRK'de uzun süre stabil kalmıştır. GC4 mAb, miyelomada N-kaderin bağımlı fonksiyonları inhibe etmektedir. Diğer kaderin moleküllerinden H-kaderin de KRK karsinogenezine dahil olmaktadır. PCDH10 protokaderin ekspresyonunun azalması KRK'de prognostik marker olabilme potansiyeli taşımaktadır (67–71).

Hücre adezyon moleküllerinden selektin ligandları tümör hücrelerinde fazlaca bulunur. Dolayısıyla, selektinin ligandlarıyla olan etkileşimlerinin inhibe edilmesi metastazı etkilemektedir. Bu ligandlar anormal glikolizasyon kaskadı ile ilişkilidir.

Selektin yoluyla gerçekleşen, glikan tarafından indüklenen tümör etkileşimlerinin immün yanıtı yeniden düzenlemesinden dolayı terapötik hedef olarak önerilmektedir. P ve L selektinin artan ekspresyonunun KRK'de metastazı indüklediği belirlenmiştir. P-selektinin bloke edilmesiyle T hücrelerindeki L-selektin ekspresyonunu azaldığı tespit edilmiştir. Bu nedenle P-selektinin KRK için prediktif biyomarker olabileceği düşünülmektedir. Bu aileye ait olan E-selektin molekülünün, Cimetidin ile bloke edilmesi, KRK'lı hastalarda tedaviye olan yanıtı arttırmıştır. KRK'de, E-selektinin yüksek ekspresyonu metastazla ilişkilendirilmiştir. Yapılan araştırmalar doğrultusunda KRK için, E-selektin ekspresyonunun, prognostik ve prediktif biyomarker olarak önerilmesinin yanında, bu molekülün ilişkili olduğu bazı markerlar ile kombine biyomarker olabileceği de ileri sürülmektedir (72–78).

Yine hücre adezyon moleküllerinden IgSFCAM süper ailesi üyelerinin biyomarker olarak kullanılabilmesine yönelik pek çok araştırma yapılmaktadır. Örneğin, bu aileye ait SIGLEC7'nin artan ekspresyonunun KRK'de prediktif biyomarker, TRIM2'nin artan ekspresyonunun prognostik marker ve prospektif terapötik hedef, ZAP70 molekülünün de radyasyon yanıtı için prognostik biyomarker olabileceği ileri sürülmektedir. Benzer şekilde, LEP ve reseptörü LEPR moleküllerinin artan ekspresyonunun KRK için potansiyel terapötik hedef olabileceği önerilmektedir. Klinikte KRK ve diğer kanser türleri için FDA onaylı PD-1/PDL-1(programlı hücre ölümü-1, *programmed death-1*) temelli stratejiler ve ilaçlar kullanılmaktadır. Pembrolizumab ve Nivolumab antikorları, PD-1/PDL-1'i hedefleyen ve klinikte kullanılan FDA onaylı ilaçlardır. Buna ek olarak yapılan araştırmalar doğrultusunda VCAM1, ICAM11, EpCAM (*Epithelial cell adhesion molecule*) , L1CAM (*Neural cell adhesion molecule L1*) gibi hücre adezyon moleküllerinin ekspresyon seviyeleri, KRK için prognostik ve diyagnostik biyomarker niteliği taşımaktadır (79–92).

Literatürde KRK'de, adezyon molekülleri üzerine yapılan diğer pre-klinik çalışmalara bakıldığında; NDST4 ve Tetraspanin Co029 moleküllerinin prognostik, CD26 ve MACC1 moleküllerinin ise potansiyel biyomarker olabileceği öne sürülmektedir (56).

Yine, ADAM17 (*a disintegrin and metalloproteinase-17*), ADAM10 (*a disintegrin and metalloproteinase-10*), EGFR (*epidermal growth factor receptor*), MMP9, EphA2 (*ephrin type-A receptor 2*) ve metalloproteinazların spesifik doku inhibitörlerinin (TIMPs, *tissue inhibitors of metalloproteinases*) aşırı ekspresyonunun, KRK için prognostik biyomarker niteliği taşıdığı ileri sürülmüştür. Yine hücre adezyon ve matriks yeniden modelleme proteini olan (MXRA5, *matrix-remodeling associated 5*) proteini, KRK için prediktif biyomarker potansiyeli taşımaktadır (82,93,94).

KRK’de, hücre adezyon moleküllerine yönelik klinik çalışmaları bulunan biyomarkerlar Tablo-2.1’de sunulmuştur.



Tablo-2 1: KRK’de hücre adezyon moleküllerine yönelik klinik çalışmaları bulunan bazı biyomarkerlar

Klinik çalışma no	Klinik çalışmanın amacı	Hedeflenen molekül	Klinik çalışmanın fazı	Referans
N C T 0 4 3 9 4 5 7 2	İnvaziv olmayan KRK’de eksozomal proteinleri profillemeye	İntegrin, metalloproteinaz, matriks makromolekülleri	Aktif	(95)
N C T 0 5 0 8 9 2 6 6	PD1 nanopartikülü salgılayan MSLN hedefli CAR T hücrelerinin, güvenilirliğini saptama	MSLN	Aktif, Faz 1	(96)
N C T 0 2 3 4 6 9 5 5	CEACAM1 molekülüne karşı insanlaştırılmış IgG4 κ izotip mAb’ın değerlendirilmesi	CEACAM1	Sonlandırılmış	(97)
N C T 0 3 8 6 6 2 3 9	Evre IV-MSS ve CECAM5 ifadesi yüksek KRK’lı hastalarda, Cibisatamab’ın Atezolizumab ve Opikutuzumab ilaçlarıyla kombinasyonunun değerlendirilmesi.	CEACAM5	Aktif	(98)

Tablo-2.1'in devamı 1: KRK'de hücre adezyon moleküllerine yönelik klinik çalışmaları bulunan bazı biyomarkerlar

N C T 0 2 0 8 0 6 5 0	c-MET ve EpCAM manyetik sıvı temelli teknolojilerin uygulanabilirliğini saptama	c-MET ve EpCAM	Tamamlanmış	(99)
N C T 0 1 5 1 1 6 5 3	Serum ve dışkıdaki markerları saptama	Galectin-3 ligandları (serum)	Tamamlanmış	(100)
N C T 0 2 1 7 9 9 7 0	Evre IV kolorektal kanserde, CXCR4 antagonisti olan Plerixafor ilacının dozajını saptama	CXCR4	Tamamlanmış, Faz 1	(101)
N C T 0 4 8 5 1 1 1 9	Tegavivint ilacının, nüks gösteren veya tedaviye yanıt vermeyen kolorektal kanserli hastalarda değerlendirilmesi	Beta-katenin	Aktif, Faz 2	(102)
N C T 0 4 3 9 4 5 7 2	Tümör hücrelerinin eksozomlarını tanımlayarak, kolorektal kanser için diyagnostik	Eksozomlar, matriks makromoleküllerini, integrinleri, matriks proteazlarını ve tetraspanin	Aktif	(95)

	ve/veya prognostik marker seti tanımlama.	gibi transmembran proteinlerini içerirler.		
--	--	---	--	--

Kısaltmalar-2 1: KRK, kolorektal kanser; PD-1, programlı hücre ölümü, c-MET; Mezenşimal-epitelyal dönüşüm faktörü (*mesencymal-epithelial transition factor*), EpCAM, epitelyal hücre adezyon molekülü; CEACAM1, Karsinoembriyonik antijen hücre adezyon molekülü 1 (*carsinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1*); CEACAM5, karsinoembryonic antijen hücre adezyon molekülü 5; CXCR4, fusin; IgG4, immunoglobulin G4, MSS, mikrosatellit stabilite; MSLN, mezotelin

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi

Araştırmamız tanımlayıcı bir araştırmadır.

3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Araştırma Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Translasyonel Onkoloji Anabilim Dalı'nda, 2022 yılının şubat ayında başlamış, 2023 yılının şubat ayında tamamlanmıştır.

3.3 Araştırmanın Planı

Araştırmanın planı doğrultusunda 2022 yılının Şubat-Haziran aylarında literatür taraması ve verilerin toplanması ile başlamıştır. 2022 yılının Temmuz-Eylül ayları aralığında ise verilerin istatistiksel ve biyoinformatik analizleri yapılmış ve ilgili sonuçlar raporlanmıştır. Ekim 2022-Şubat 2023 ayları aralığında veriler değerlendirilmiş ve literatürle ilişkilendirilerek tartışılmıştır. Tezin yazımı şubat ayında tamamlanmıştır (Tablo-3.1).

Tablo-3.1: Araştırma Planı

Ocak 2022	Tez önerisinin hazırlanması ve tez önerisinin kabulü
Şubat 2022	Etik Kurul Onayı
Şubat 2022-Haziran 2022	Literatür taraması ve verilerin toplanması
Temmuz-Eylül 2022	Verilerin istatistiksel ve biyoinformatik analizleri
Ekim 2022-Şubat 2023	Tezin yazım aşaması

3.4 Araştırmanın Evreni ve Örneklemi

Açık erişimli The Cancer Genom Atlas (TCGA) ve Gene Ontoloji büyük veri tabanlarında yer alan tüm kolorektal tümörlü hastaların (COAD, *Colon Adenocarcinoma*) Şubat 2022 tarihli mRNA verileri kullanılarak hücre adezyon

moleküllerinin ekspresyon değişimlerinin primer tümörlü ve metastatik karakterli hastalarda karşılaştırılması biyoinformatik analizler aracılığıyla yapıldı.

Analizler için normal doku (karsinoma *in situ*), primer doku (evre I, II ve III) ve metastatik doku (evre IV-M1) verileri kullanıldı. Veriler normal-primer ve primer-metastatik olmak üzere iki senaryoda karşılaştırılarak, duplike veriler dışlandı. Başlangıçta elde edilen 41 özgün normal doku, 379 primer doku ve 64 metastatik doku olmak üzere toplamda 484 verilerinden, aynı hasta barkodunda birden fazla örnek var ise yanlışlık oluşmaması adına bir tanesi seçilip öteki örnekler dışlandı (Tablo-3.2). Duplike veriler çıkarıldıktan sonra 456 dokunun analizi gerçekleştirildi. Dokuların gen ekspresyon verileri indirildi. Çalışmaya sağlıklı dokuya sahip kontrol grubu dahil edilmemiştir.

Tablo-3.2: Analiz edilen transkriptom verilerinin dokulara göre örnek sayıları

	Normal doku	Primer doku	Metastatik
Gruplar	Normal	Evre I-Evre II-Evre III	Evre IV-M1
n	41	379	64

3.5. Araştırmanın Değişkenleri:

Kolorektal kanser metastazlı dokuda bulunan mRNA sekansları bağımlı değişken, büyük veri tabanlarındaki demografik bilgiler ve veri tabanlarında kullanılan diğer değişkenler bağımsız değişkenlerdir.

3.6. Veri Toplama Araçları:

Transkriptom veri işleme sürecinde veriler matriks dosyaları şeklinde Gene Ontology Resource (GO) uzantısı (Şekil-3.1) AmiGo2 arama motorundan (<http://amigo.geneontology.org/amigo>) GO:0007160 kodu ve organizma/homo-sapiens filtresi ile (<http://amigo.geneontology.org/amigo/term/GO:0007160>) (Şekil-3.2); The Cancer Genom Atlas Program (TCGA) veri tabanının uzantısı Genomic Data Commons (GDC) Data Portal arama motorundan (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) “colorectal cancer” filtresi ile “genes” ve “cases” verilerinden hücre-matriks adezyon molekülleri TCGA-biolinks paketi ile

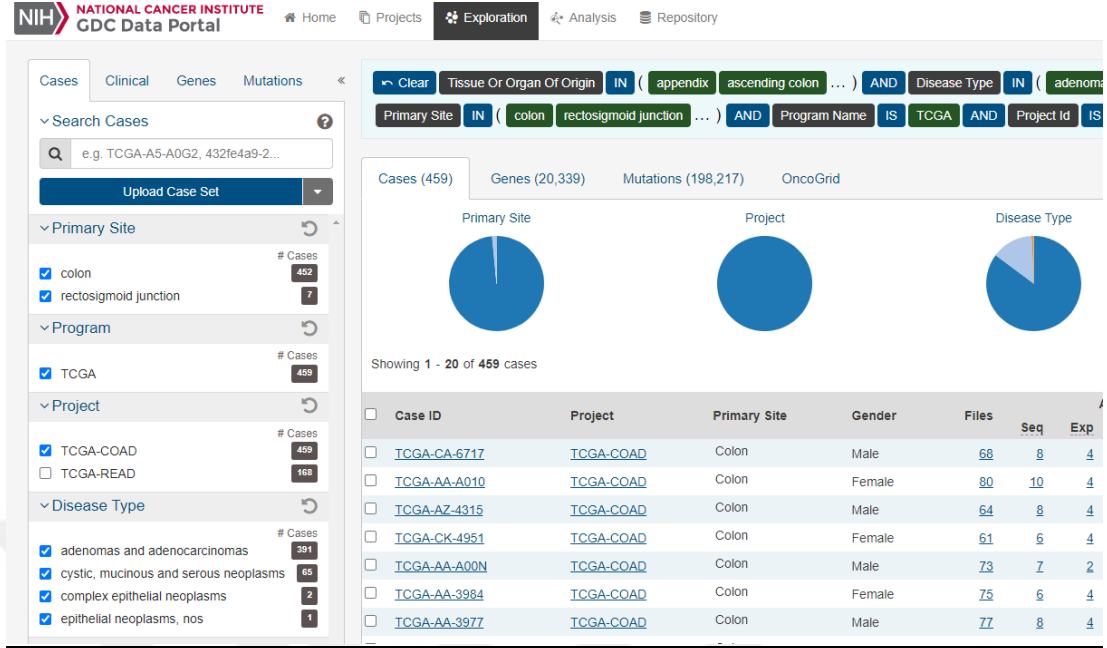
indirilmiştir (Şekil-3.3 ve Şekil-3.4). İndirilen verilerin tümü R yazılımı aracılığıyla işlenmiştir (Şekil-3.5). Veriler normalleştirilip log2 tabanına dönüştürülmüştür. Gen ekspresyon seviyeleri istatistiki filtre metotları ile indirgenmiştir.



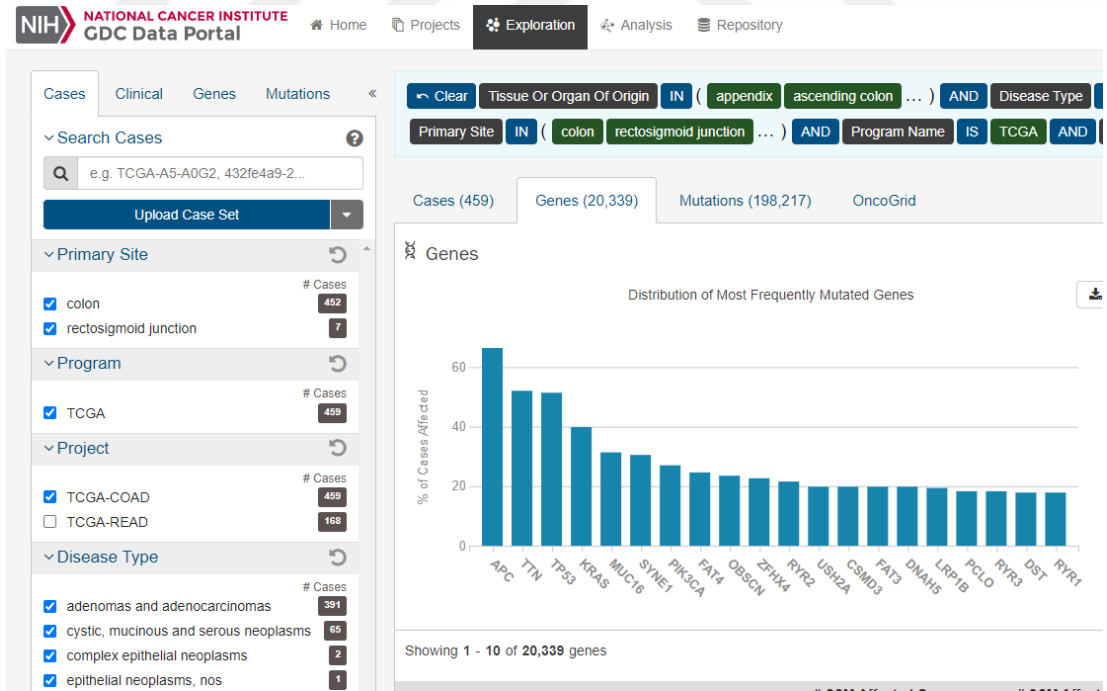
Şekil-3. 1: Gen Ontoloji anasayfasının görünümü.



Şekil-3. 2: AmiGO arama motorunda filtrelenmiş veriler.



Şekil-3. 3: TCGA uzantısı GDC veri portalında “colorectal cancer” ve “cases” filtreleri sonucu veri sayıları.



Şekil-3. 4:TCGA uzantısı GDC veri portalında “colorectal cancer” ve “genes” filtreleri sonucu veri sayıları.

```

library(tidyverse)
library(TCGAbiolinks)
library(SummarizedExperiment)
library(dplyr)
library(DT)
# harmonized data download
query.counts <- GDCquery(project = "TCGA-COAD",
                        data.category = "Transcriptome Profiling",
                        data.type = "Gene Expression Quantification",
                        workflow.type = "STAR - Counts",
                        legacy = FALSE)
GDCdownload(query.counts)
dataPrep<-GDCprepare(query.counts)

```

Şekil-3. 5: R-TCGA biolinks paketi aracılığıyla TCGA veritabanından verilerin lokal olarak indirilmesi.

3.6.1 Transkriptom Veri Önışleme

Farklı gruplar arasında ekspresyonu anlamlı değişen, R-Bioconductor'da bulunan edgeR paketleri kullanılarak tanımlanıp kat değişiklikleri ($\log_2FC$) hesaplanmıştır. Gen ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi için diferansiyel ekspresyon analizi sonucunda istatistiki olarak anlamlı değişiklik gösteren genler için primer dokuda, $\log\text{-fold change } |\log FC| \geq 1$ ve metastatik dokuda $\log FC \geq 0,5$ olarak belirlenmiştir. Belirlenen bu sınır değerleri içinde normal dokuya göre primer dokuda ifadesi azalan ve artan genlerin listesi ve değişim oranları Tablo 4.1'de listelenmiştir. Her iki analiz için p-değeri ($p\text{-value} < 0,05$) olarak istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Diferansiyel ekspresyon seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilen genler için Gen Seti Zenginleştirme Analizi (GSEA) yapıldı. Bu analiz kapsamında, Moleküler Fonksiyon Grupları Analizi (GO), Moleküler Yolak Analizi (KEGG) ve Kansere Spesifik Özelliklerin Analizi (MSigDB) uygulandı. Analiz sonuçları arasındaki bağıntıyı anlamlandırabilmek adına, ağ ilişki ve enhanced volcano grafikleri oluşturulmuştur (Şekil-3.6).

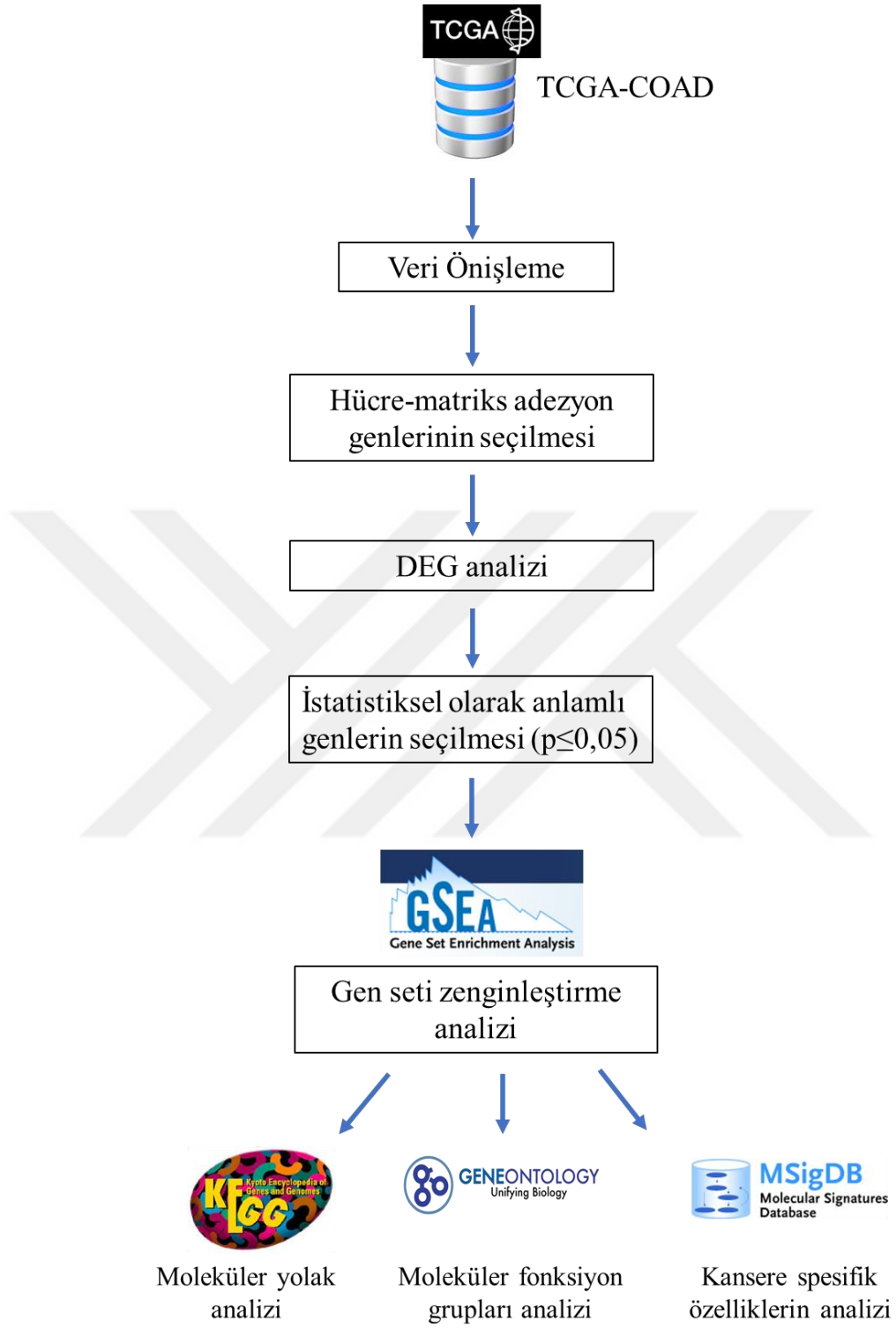
3.7. Verilerin Analizi

Verilerin analizinde R 4.2.0 ve R Studio Desktop 2022.02.3 sürümleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kantitatif veriler tablolarda ortalama $\pm$ standart sapma ve medyan (minimum-maksimum) değerler şeklinde, kategorik veriler S

(sayı) ve yüzdelerle (%) ifade edilmiştir. Veriler %95 güven aralığında incelenip, p değeri 0,05 'den küçük olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Biyoistatistik ve biyoinformatik alanındaki çalışmalar, kullanılan yöntemler ve araştırmacıların hedefleri doğrultusunda geliştirilmiş R programı kullanılmıştır. R programı, kullanılan veri tabanları için tasarlanmış, özelleşmiş fonksiyonu olan paketlere sahiptir. Bu programın bazı verimlilikleri ve yetersizlikleri vardır. Açık kaynaklı program olması, depolanmış tüm verileri referans belirterek kullanılmasına olanak tanırken, tasarlanan yeni sürümlerde paket uyumsuzlukları yaşanabilmekte ve kullanım sınırlanabilmektedir. Bu programa alternatif olarak Phyton, SPSS veya MatLab gibi diğer programlar da kullanılabilmektedir





Şekil-3. 6: İş akış şeması

3.8. Araştırmanın Sınırlılıkları

Araştırma *in silico* olduğu için herhangi bir sınırlılıkla karşılaşılmemiştir.

3.9. Etik Kurul Onayı

Bu araştırmanın etik kurul onayı 02.09.2022 tarihinde 2022-05-10 sayılı karar ile Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından verilmiştir **(Ek-1)**.



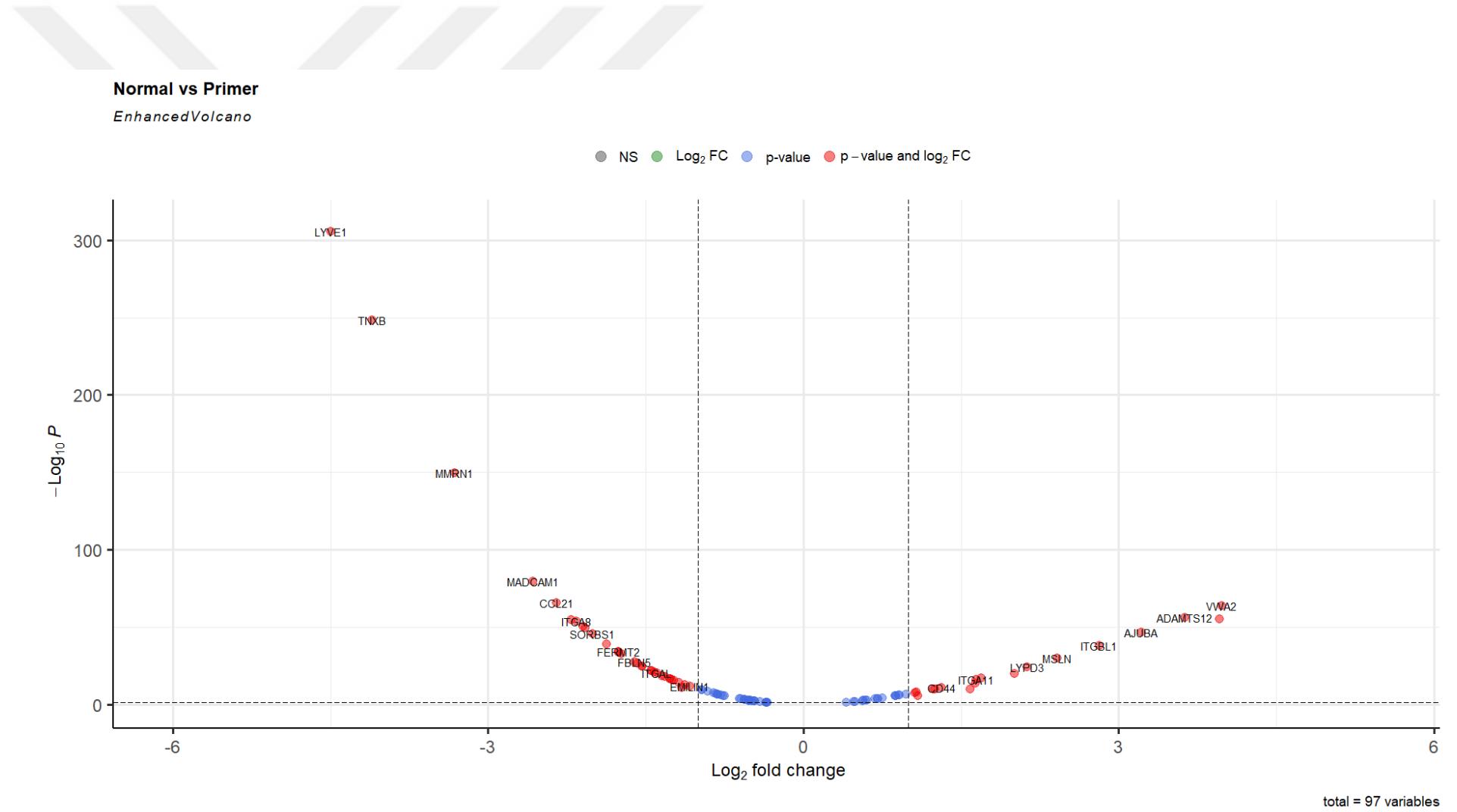
4. BULGULAR

4.1. Sayısal mRNA Ekspresyon Verilerinin Analizi

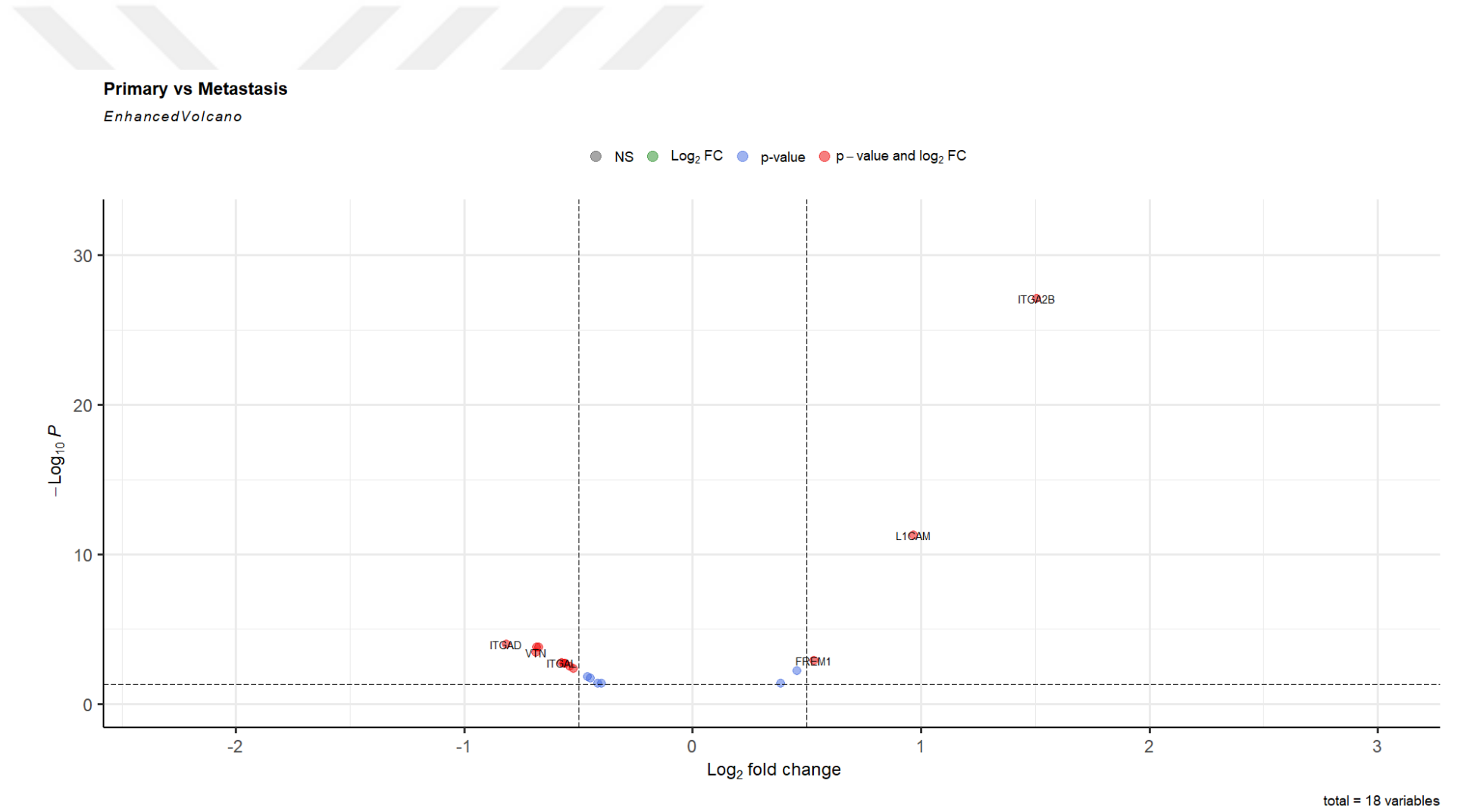
Diferansiyel ekspresyon analizi sonucunda primer dokuda 62 genin mRNA ekspresyonunun azaldığı (down regülasyonu), 35 genin ise mRNA ekspresyonunun arttığı (up regülasyonu) belirlenmiştir. Primer dokuda toplamda 97 diferansiyel ekspresyon geni (DEG) tespit edilmiştir. Metastatik dokuda ise 13 genin mRNA ekspresyonunun azaldığı, beş genin ise mRNA ekspresyonunun arttığı toplamda 18 diferansiyel ekspresyon geni (DEG) tespit edilmiştir. Diferansiyel ekspresyon analizi sonucunda istatistiki olarak anlamlı değişiklik gösteren genler için primer dokuda, $\log\text{-fold change } |\log FC| \geq 1$ ve metastatik dokuda $\log FC \geq 0,5$ olarak belirlendiğinde, ifadesi azalan ve artan genler Tablo 4.1’de verilmiştir. Ekspresyon seviyesi değişen genlerin enhanced volcano grafikleri, primer doku için Şekil 4.1’de, metastatik doku için ise Şekil 4.2’de sunulmuştur.

Tablo-4. 1. Primer ve metastatik dokuda ifadesi değişen genler

	Primer dokuda	Metastatik dokuda
İfadesi azalan genler (kat)	<i>LYVE1</i> (-4,5), <i>TNXB</i> (-4,1), <i>MMRN1</i> (-3,3), <i>MADCAM1</i> (-2,57), <i>CCL21</i> (-2,35), <i>CORO2B</i> (-2,21), <i>ITGA8</i> (-2,16), <i>SIGLEC1</i> (-2,1), <i>L1CAM</i> (-2,08), <i>SORBS1</i> (-2), <i>ITGA7</i> (-1,88), <i>FERMT2</i> (-1,76), <i>SGCE</i> (-1,76), <i>BCL2</i> (-1,73), <i>FBLN5</i> (-1,61), <i>JAM3</i> (-1,58), <i>ITGB7</i> (-1,54), <i>TESK2</i> (-1,53), <i>CD96</i> (-1,45), <i>PTK2B</i> (-1,44), <i>ILK</i> (-1,42), <i>ITGAL</i> (-1,39), <i>ITGB3</i> (-1,34), <i>BCL2L11</i> (-1,32), <i>TIAM1</i> (-1,27), <i>MUC4</i> (-1,27), <i>ITGA4</i> (-1,26), <i>COL17A1</i> (-1,23), <i>FERMT3</i> (-1,18), <i>OTOA</i> (-1,16), <i>HPSE</i> (-1,13), <i>EMILIN1</i> (-1,08), <i>ECM2</i> (0,97), <i>VCAM1</i> (-0,97)	<i>ITGAD</i> (-0,81), <i>VTN</i> (-0,69), <i>CD96</i> (-0,68), <i>MUC4</i> (-0,67), <i>ITGAL</i> (-0,57), <i>ITGB2</i> (-0,56), <i>FERMT3</i> (-0,56), <i>EDA</i> (-0,54), <i>PARVG</i> (-0,52), <i>HPSE</i> (-0,46), <i>BCL2</i> (-0,45)
İfadesi artan genler (kat)	<i>COL3A1</i> (0,97), <i>THY1</i> (1,06), <i>COL5A3</i> (1,07), <i>STRC</i> (1,09), <i>ITGA2</i> (1,24), <i>FERMT1</i> (1,25), <i>CD44</i> (1,32), <i>ANGPTL3</i> (1,59), <i>FGG</i> (1,64), <i>ITGA11</i> (1,64), <i>FREM1</i> (1,69), <i>FGA</i> (2,01), <i>LYPD3</i> (2,13), <i>MSLN</i> (2,41), <i>ITGBL1</i> (2,82), <i>AJUBA</i> (3,22), <i>ADAMTS12</i> (3,63), <i>FGB</i> (3,96), <i>VWA2</i> (3,98)	<i>MSLN</i> (0,46), <i>FREM1</i> (0,53), <i>L1CAM</i> (0,97), <i>ITGA2B</i> (1,51)



Şekil-4. 1: Normal dokuya göre primer dokuda ekspresyonu değişen genlerin enhanced-volcano grafiği



Şekil-4. 2: Primer dokuya göre metastatik dokuda ekspresyonu değişen genlerin enhanced-volcano grafiği

4.2. Gen Seti Zenginleştirme Analizi Sonuçları (GSEA)

4.2.1 Moleküler Fonksiyon Grupları ile Olan İlişkilerine Göre (GO)

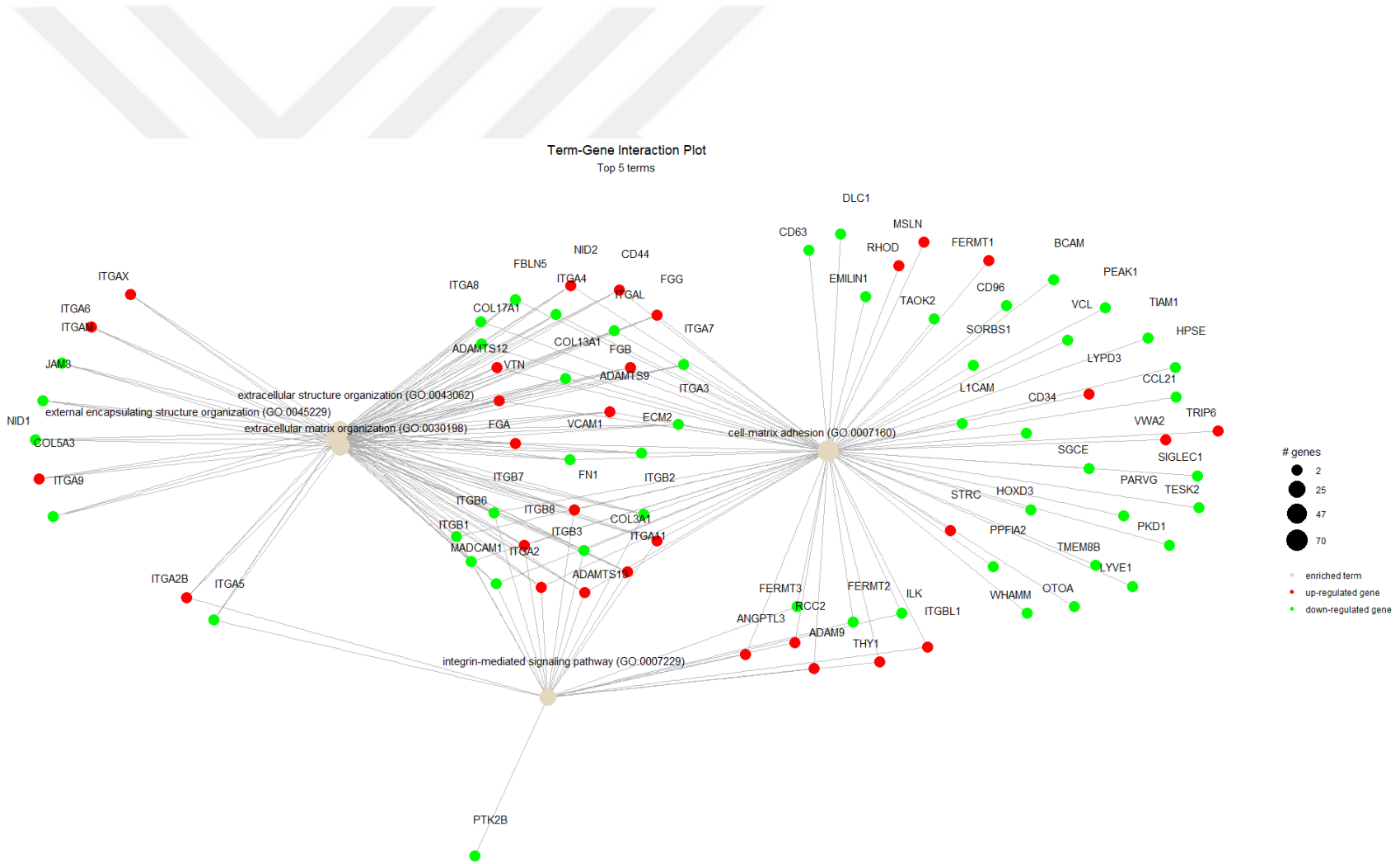
Primer ve metastatik dokudaki ifadesi değişen genlerin majör moleküler fonksiyon gruplarına bakıldığında ilk sırada hücre-matriks adezyon fonksiyon grubunun yer aldığı belirlenmiştir. Bunu sırasıyla ekstraselüler yapı organizasyonu, dışsal enkapsülasyon yapı organizasyonu, ekstraselüler matriks organizasyonu takip etmektedir. Beşinci moleküler fonksiyon grubu ise primer doku için integrin aracılı sinyalizasyon yolağı, metastatik doku için ise lökosit hücre-hücre adezyon molekülleri fonksiyon grubudur.

Saptanan genlerin moleküler fonksiyon gruplarıyla ilişkilerine göre ifadesi azalan ve artan genler primer doku için Tablo 4.2’de listelenmiştir.

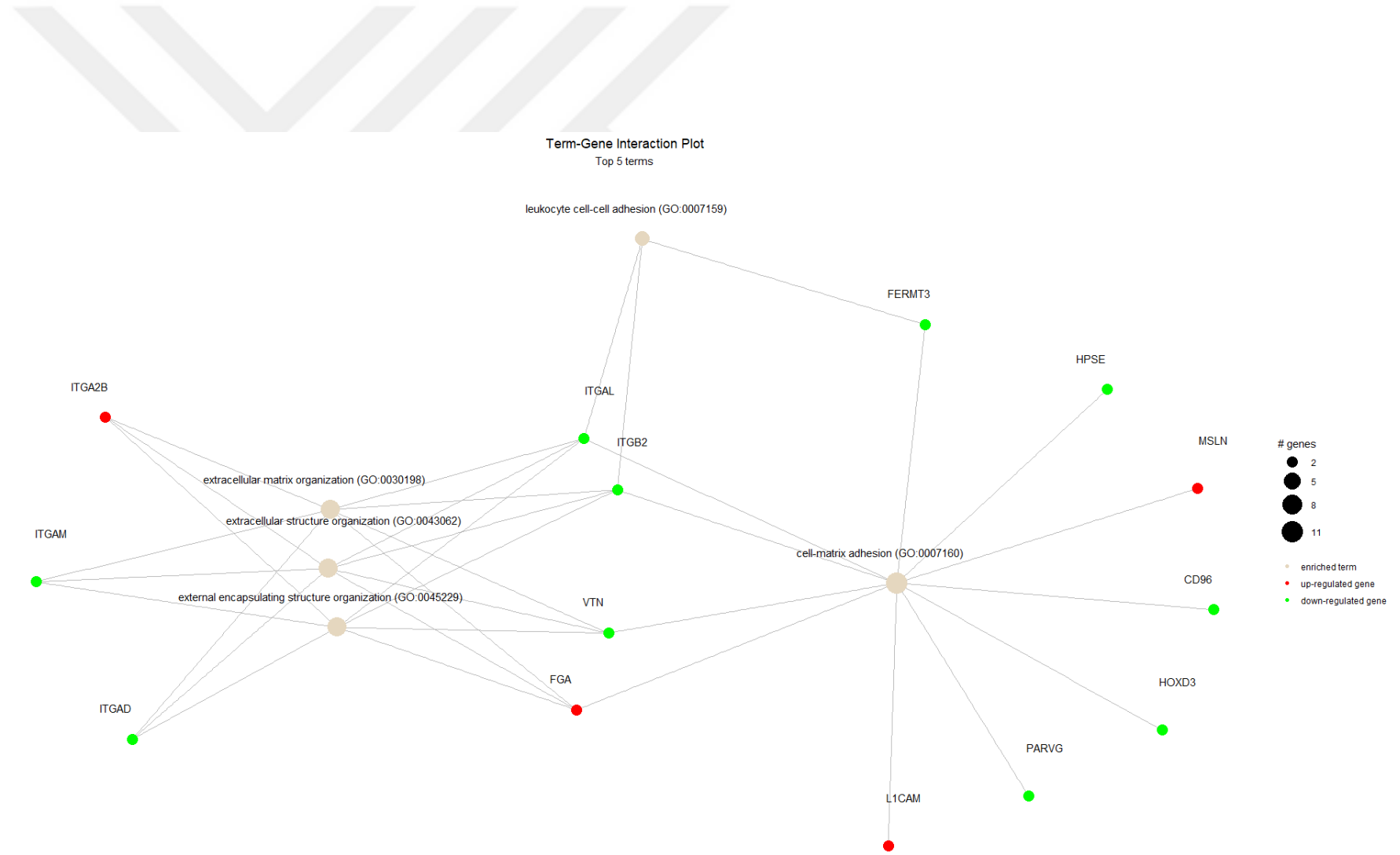
Belirlenen ilk beş fonksiyon gruplarıyla ilişkili olarak, *COL3A1*, *ITGA2*, *ITGA11*, *LYPD3*, *MSLN*, *VWA2*’nin normal doku ile kıyaslandığında, primer dokuda ekspresyonunun arttığı; *MADCAM1*, *ITGB7* ve *ITGB3* genlerinin ise ifadelerinin azaldığı belirlenmiştir. İlk dört fonksiyon grubuyla ilişkili olarak (integrin aracılı sinyalizasyon yolağı fonksiyon grubu hariç) *CD44*, *FGG*, *FGA*, *ADAMTS12*, *FGB* genlerinin ekspresyon seviyelerinin arttığı, *ITGA8*, *ITGA7*, *FBLN5*, *ITGAL*, *ITGA4*, *COL17A1*, *ECM2*, *VCAM1* genlerinin de ekspresyon seviyelerinin azaldığı belirlenmiştir. Yalnızca hücre-matriks adezyon fonksiyon grubuyla ilişkili olarak, *STRC* ve *FERMT1* genlerinin ifadelerinin arttığı; *LYVE1*, *CCL21*, *SIGLEC1*, *L1CAM*, *SORBS1*, *SGCE*, *TESK2*, *CDK96*, *TIAM1* ve *OTOA* genlerinin ise ifadelerinin azaldığı saptanmıştır. Hücre-matriks adezyon ve integrin aracılı sinyalizasyon yolağı fonksiyon grubuyla ilişkili olarak *THY1*, *ANGPTL3* ve *ITGBL1* genlerinin ekspresyon seviyelerinin arttığı; *FERMT2*, *ILK* ve *FERMT3* genlerinin ise ekspresyon seviyelerinin azaldığı gözlenmiştir. Ekstraselüler yapı organizasyonu, dışsal enkapsülasyon yapı organizasyonu ve ekstraselüler matriks organizasyonu fonksiyon gruplarıyla ilişkili olarak, yalnızca *COL5A3* geninin ifadesi artarken, *JAM3* geninin ifadesinin azaldığı tespit edilmiştir. *PTK2B* geninin azalan ifadesinin ise yalnızca integrin aracılı sinyalizasyon yolağı fonksiyon grubuyla ilişkili olduğu analizler sonucunda belirlenmiştir. Bu genlerin analiz sonucuna göre moleküler fonksiyon gruplarıyla olan ilişkisi Şekil 4.3’te sunulmuştur

Tablo-4. 2. Normal dokuya göre primer dokuda ekspresyonu değişen genlerin ilişkili olduğu moleküler fonksiyonlar ve anlamlılık değerleri

Moleküler fonksiyon	<i>p Value</i>	İfadesi artan genler	İfadesi azalan genler
cell-matrix adhesion (GO:0007160)	2,7495E-149	<i>COL3A1, THY1, STRC, ITGA2, FERMT1, CD44, ANGPTL3, FGG, ITGA11, FGA, LYPD3, MSLN, ITGBL1, ADAMTS12, FGB, VWA2</i>	<i>LYVE1, MADCAM1, CCL21, ITGA8, SIGLEC1, L1CAM, SORBS1, ITGA7, FERMT2, SGCE, FBLN5, ITGB7, TESK2, CDK96, ILK, ITGAL, ITGB3, TIAM1, ITGA4, COL17A1, FERMT3, OTOA, HPSE, EMILIN1, ECM2, VCAM1</i>
extracellular structure organization (GO:0043062)	3,22118E-49	<i>COL3A1, COL5A3, ITGA2, CD44, FGG, ITGA11, FGA, ADAMTS12, FGB</i>	<i>MADCAM1, ITGA8, ITGA7, FBLN5, JAM3, ITGB7, ITGAL, ITGB3, ITGA4, COL17A1, ECM2, VCAM1</i>
external encapsulating structure organization (GO:0045229)	3,22118E-49	<i>COL3A1, COL5A3, ITGA2, CD44, FGG, ITGA11, FGA, ADAMTS12, FGB</i>	<i>MADCAM1, ITGA8, ITGA7, FBLN5, JAM3, ITGB7, ITGAL, ITGB3, ITGA4, COL17A1, ECM2, VCAM1</i>
extracellular matrix organization (GO:0030198)	1,67419E-43	<i>COL3A1, COL5A3, ITGA2, CD44, FGG, ITGA11, FGA, ADAMTS12, FGB</i>	<i>MADCAM1, ITGA8, ITGA7, FBLN5, JAM3, ITGB7, ITGAL, ITGB3, ITGA4, COL17A1, ECM2, VCAM1</i>
integrin-mediated signaling pathway (GO:0007229)	8,46338E-34	<i>COL3A1, THY1, ITGA2, ANGPTL3, ITGA11, ITGBL1</i>	<i>MADCAM1, FERMT2, ITGB7, PTK2B, ILK, ITGB3, FERMT3</i>



Şekil-4. 3: Normal dokuya göre primer dokuda mRNA ekspresyonu değişen genlerin Gen Ontoloji veri tabanındaki fonksiyon gruplarıyla ilişkisini gösteren grafik



Şekil-4. 4: Primer dokuya göre metastatik dokuda mRNA ekspresyonu değişen genlerin Gen Ontoloji veri tabanındaki moleküler fonksiyon gruplarıyla ilişkisini gösteren grafik

Metastatik dokuda ekspresyon değişimi saptanan genlerin moleküler fonksiyon gruplarıyla ilişkileri Tablo 4.3'te listelenmiş ve şekil 4.4'te sunulmuştur.

Primer dokuyla kıyaslandığında, metastatik dokuda, hücre-matriks adezyon fonksiyon grubuyla ilişkili olarak, *L1CAM* geninin ifadesinin arttığı, *CD96*, *PARVG* ve *HPSE* genlerinin ise ifadelerinin azaldığı belirlenmiştir. Ekstraselüler yapı organizasyonu, dışsal enkapsülasyon yapı organizasyonu ve ekstraselüler matriks organizasyonu fonksiyon gruplarıyla ilişkili olarak ifadesi artan tek gen *ITGA2B* iken, ifadesi azalan genler ise *ITGAD*, *VTN*, *ITGAL* ve *ITGB2* olarak analiz edilmiştir. Bu genlerden *ITGAL* ve *ITGB2*'nin ek olarak hücre-matriks adezyon ve lökosit hücre-hücre adezyon fonksiyon grubu olmak üzere tüm fonksiyon gruplarıyla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Lökosit hücre-hücre adezyon fonksiyon grubuyla ilişkili olarak ifadesi artan gen bulunmamakla birlikte, *FERMT3* geninin ifadesinin azaldığı belirlenmiştir. *FERMT3* geninin aynı zamanda hücre-matriks adezyon grubuyla ilişkili olduğu gözlenmiştir.

Tablo-4 3: Primer dokuya göre metastatik dokuda ekspresyonu değişen genlerin ilişkili olduğu moleküler fonksiyonlar ve anlamlılık değerleri

Moleküler fonksiyon	<i>pValue</i>	İfadesi artan genler	İfadesi azalan genler
cell-matrix adhesion (GO:0007160)	2,6251E-19	<i>MSLN, L1CAM</i>	<i>VTN, CD96, ITGAL, ITGB2, FERMT3, PARVG, HPSE</i>
extracellular structure organization (GO:0043062)	4,72714E-08	<i>ITGA2B</i>	<i>ITGAD, VTN, ITGAL, ITGB2</i>
external encapsulating structure organization (GO:0045229)	4,72714E-08	<i>ITGA2B</i>	<i>ITGAD, VTN, ITGAL, ITGB2</i>
extracellular matrix organization (GO:0030198)	3,37771E-07	<i>ITGA2B</i>	<i>ITGAD, VTN, ITGAL, ITGB2</i>
leukocyte cell-cell adhesion (GO:0007159)	0,00012139	-	<i>ITGAL, ITGB2, FERMT3</i>

4.2.2. Moleküler Yolaklar ile İlişkilerine Göre (KEGG)

Primer ve metastatik dokuda ifadesi değişen hücre-matriks adezyon fonksiyon grubu ile ilişkili genlerin moleküler yolaklarla ilişkisini analiz edebilmek için Tablo 4.4 oluşturulmuştur. Bu tabloya göre ifadesi değişen genlerin hücre-adezyon molekülleri, fokal adezyon, ECM-reseptör interaksyonu ve aktin hücre iskeletinin düzenlenmesi ile ilgili moleküler yolaklarla olan ilişkileri aşağıda özetlenmiştir.

Normal dokuyla karşılaştırıldığında primer dokuda, *MADCAM1* (mucosal addressin cell adhesion molecule 1), *ITGA8* (integrin alpha-8), *SIGLEC1* (sialoadhesin), *L1CAM* (Neural cell adhesion molecule L1), *ITGB7* (integrin beta-7), *ITGAL* (integrin alpha-L), *ITGA4* (integrin alpha-4) genlerinin ifadesinin azaldığı ve hücre-adezyon moleküler yolağıyla ilişkili olduğu saptanmıştır.

Yine primer dokuda ifadesinin azaldığı belirlenen, *ITGA8*, *ITGA7* (integrin alpha-7), *ITGB7*, *ITGB3* (integrin beta-3) ve *ITGA4* genlerinin ECM-reseptör interaksyonu, fokal adezyon ve aktin hücre iskeletinin regülasyonu ile ilgili moleküler yolaklarla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. *ILK* (integrin-linked protein kinase), fokal adezyon yolağı ile, *ITGAL* ve *TIAM1* (Rho guanine nucleotide exchange factor TIAM1) ise aktin hücre iskeletinin regülasyonu ile ilgili moleküler yolaklarla ilişkilendirilmiştir.

ITGA6, *ITGA9*, *ITGAM* (integrin alpha 6-9-M), *ITGB1*, *ITGB2*, *ITGB8* (integrin beta 1-2-8) *VCAM1* ve *CD34* (Hematopoietic progenitor cell antigen CD34) genlerinin primer dokuda ifadelerinin arttığı ve hücre-adezyon moleküler yolağıyla ilişkili olduğu saptanmıştır.

Primer dokuda ifadesi artan integrin ailesine ait, *ITGA2*, *ITGA3*, *ITGA5*, *ITGA6*, *ITGA9*, *ITGA11*, *ITGA2B* (integrin alpha 2-3-5-6-9-11-2B), *ITGB1*, *ITGB6*, *ITGB8*'in (integrin beta 1-6-8) ve *FN1*'in (fibronectin) ECM-reseptör interaksyonu, fokal adezyon ve aktin hücre iskeletinin regülasyonu ile ilgili moleküler yolaklarla ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Yine primer dokuda *VTN* (Vitronectin) hem ECM-reseptör interaksyonu hem de fokal adezyon yolağı ile, *VCL* (Vinculin) ve *PXN* (paxillin) fokal adezyon ve aktin hücre iskeletinin regülasyonu ile ilgili moleküler yolaklarla, *PARVG* (gamma-parvin) ve *CTNNB1* (catenin beta-1) sadece fokal adezyon yolağı ile ilişkilendirilmiştir.

İntegrin ailesine ait üyelerden *ITGAM*, *ITGB2* ve *ITGAX*'ın (integrin alpha-X) sadece aktin hücre iskeletinin regülasyonu ile ilgili moleküler yolakla ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu genlerin hepsinin ekspresyon seviyesinde artış gözlenmiştir. Primer dokuda ifadesi değişen genlerin belirlenen moleküler yollarla ilişkileri Şekil 4.5'te sunulmuştur.



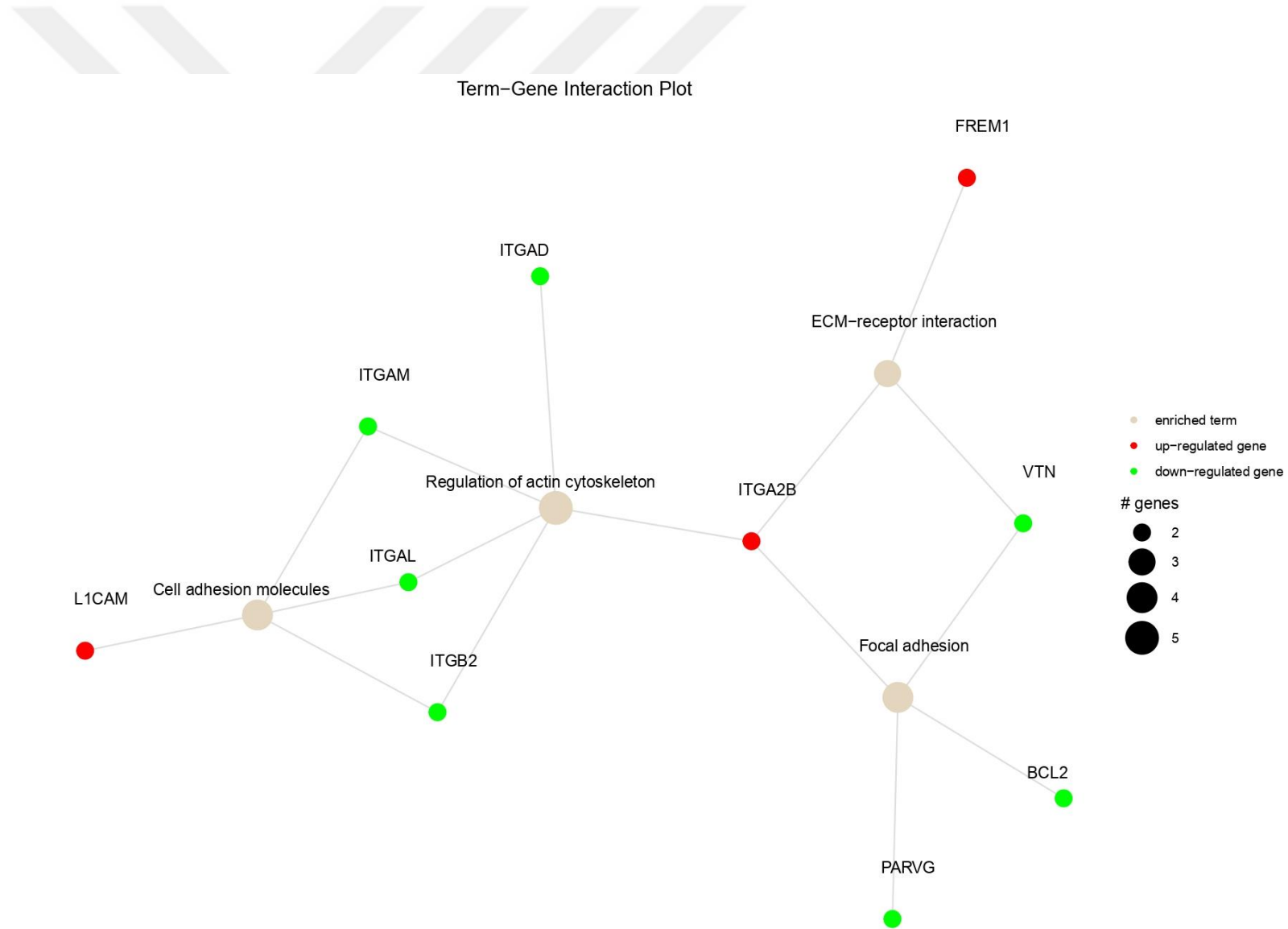
Tablo-4 4: Primer ve metastatik dokuda ifadesi değişen genlerin belirlenen 4 majör moleküler yollarla olan ilişkisi

	Cell-adhesion molecules	ECM-receptor interaction	Focal adhesion	Regulation of actin cytoskeleton
Primer dokuda ifadesi azalan genler	<i>MADCAM1, ITGA8, SIGLEC1, L1CAM, ITGB7, ITGAL, ITGA4</i>	<i>ITGA8, ITGA7, ITGB7, ITGB3, ITGA4</i>	<i>ITGA8, ITGA7, ITGB7, ILK, ITGB3, ITGA4</i>	<i>ITGA8, ITGA7, ITGB7, ITGAL, ITGB3, TIAM1, ITGA4</i>
Primer dokuda ifadesi artan genler	<i>VCAM1, ITGA9, ITGB1, ITGAM, ITGB2, CD34, ITGA6, ITGB8</i>	<i>ITGA2, CD44, ITGA11, ITGA3, ITGA5, ITGB6, ITGA9, ITGB1, VTN, ITGA2B, FN1, ITGA6, ITGB8</i>	<i>ITGA2, ITGA11, ITGA3, ITGA5, ITGB6, ITGA9, ITGB1, VCL, PXN, PARVG, VTN, ITGA2B, FN1, ITGA6, ITGB8, CTNNB1</i>	<i>ITGA2, ITGA11, ITGA3, ITGA5, ITGB6, ITGA9, ITGB1, VCL, PXN, ITGAM, ITGB2, ITGA2B, FN1, ITGA6, ITGB8, ITGAX</i>
Metastatik dokuda ifadesi azalan genler	<i>ITGAL, ITGB2</i>	<i>VTN</i>	<i>VTN, PARVG</i>	<i>ITGAL, ITGB2</i>
Metastatik dokuda ifadesi artan genler	<i>L1CAM</i>	-	-	-

Primer dokuyla karşılaştırıldığında metastatik dokuda *ITGAL*, *ITGB2* hem hücre-adezyon hem de aktin hücre iskeletinin regülasyonu ile ilgili moleküler yolaklarla ilişkili olduğu saptanmıştır. *VTN*'nin ise ECM-reseptör interaksiyonu ve fokal adezyon ile ilgili moleküler yolaklarla ilgili olduğu tespit edilmiştir. Yine metastatik dokuda *PARVG* geninin ise fokal adezyon yolağıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu genlerin ekspresyon seviyesinin metastatik dokuda azaldığı saptanmıştır.

Metastatik dokuda ekspresyon seviyesi artış gösteren *L1CAM* molekülünün, hücre-adezyon moleküler yolağıyla ilişkili olduğu saptanmıştır.

Metastatik dokuda ifadesi değişen genlerin belirlenen moleküler yolaklarla ilişkileri Şekil 4.6'da sunulmuştur. Bununla birlikte, metastatik dokuda, katlanma sınırı değerine dahil olan ve hücre-matriks adezyon grubuyla ilişkili olduğu saptanan genlerin, belirlenen yolaklarla olan ilişkisi Tablo 4.4'te listelenmiştir.



Şekil-4. 6: Normal dokuya göre primer dokuda mRNA ekspresyonu değişen genlerin KEGG veri tabanındaki moleküler yollarla arasındaki ağ ilişki grafiği

4.2.3. Kansere Spesifik Özellikler ile İlişkilerine Göre (MSigDB)

Basit bir şekilde hücrelerin kontrolsüz bölünmesi olarak tanımlanabilen kanser, çoğu zaman metastatik karakter taşıyan heterojenik bir oluşumdur. Tümör oluşumu çok basamaklı mekanizmaları bünyesinde barındırmaktadır. Kanser oluşum süreç ve mekanizmalarının altında yatan prensiplere bağlı olarak Hanahan ve Weinberg, kansere spesifik özellikleri (hallmarks) 8 ana başlık altında toplamıştır. Bunlar, proliferatif sinyalizasyon, büyüme süpresyonlarından kaçınma, hücre ölümüne karşı direnç, ölümsüzlük ve sonsuz bölünebilme yeteneği, vasküleritenin indüklenmesi ve damarlara girebilme, invazyon ve metastazın aktivasyonu, hücre metabolizmasının yeniden programlanması, immün yıkımdan kaçma olarak sıralanmaktadır (28,103–105).

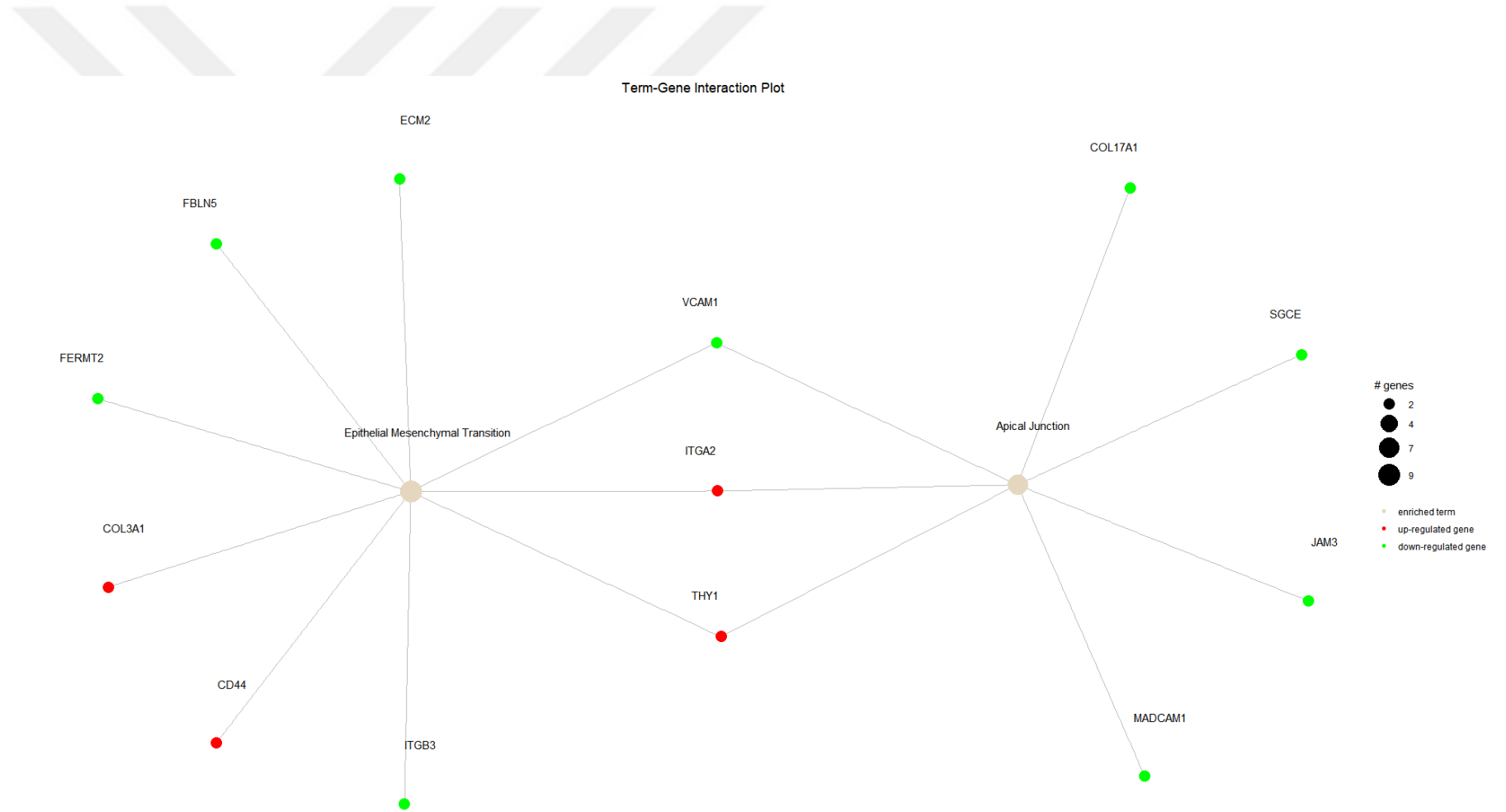
Kansere spesifik özelliklerin hücre adezyon molekülleriyle olan ilişkilerinin analizi sonucunda, primer dokuda ekspresyon seviyesi değişen moleküllerin, apikal bağlantı ve EMT ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Apikal bağlantılar ve EMT, kansere spesifik özelliklerden, invazyon ve metastazın aktivasyonu ile ilişkilidir. Epitel hücrelerin invaziv kapasite, apoptoza direnç ve yayılma özelliği kazanmasıyla tanımlanan EMT Bölüm 2.4’te anlatılmıştır (28). Apikal bağlantılar ise hücre-hücre adezyonunu sağlayan ve epitel hücrelerin lateral membranının üst kısmında bulunan sıkı bağlantılar (TJ, tight junction) ve adherent bağlantılardan (AJ, adherens junction) oluşur. Kaderin-katenin molekülleri ve aktin regülatörleri ile bağlantılı olarak hücre içi iskeletin düzenlenmesi ve aktin filament ağ organizasyonu gibi mekanizmalara dahil olurlar (28,106–110).

Primer dokuda kansere spesifik özelliklerden apikal bağlantı ile ilişkili olan MADCAM1, SGCE, JAM3, COL17A1, VCAM1 genlerinin ekspresyon seviyelerinin azaldığı; THY1, ITGA2 genlerinin ise ekspresyon seviyelerinin arttığı saptanmıştır.

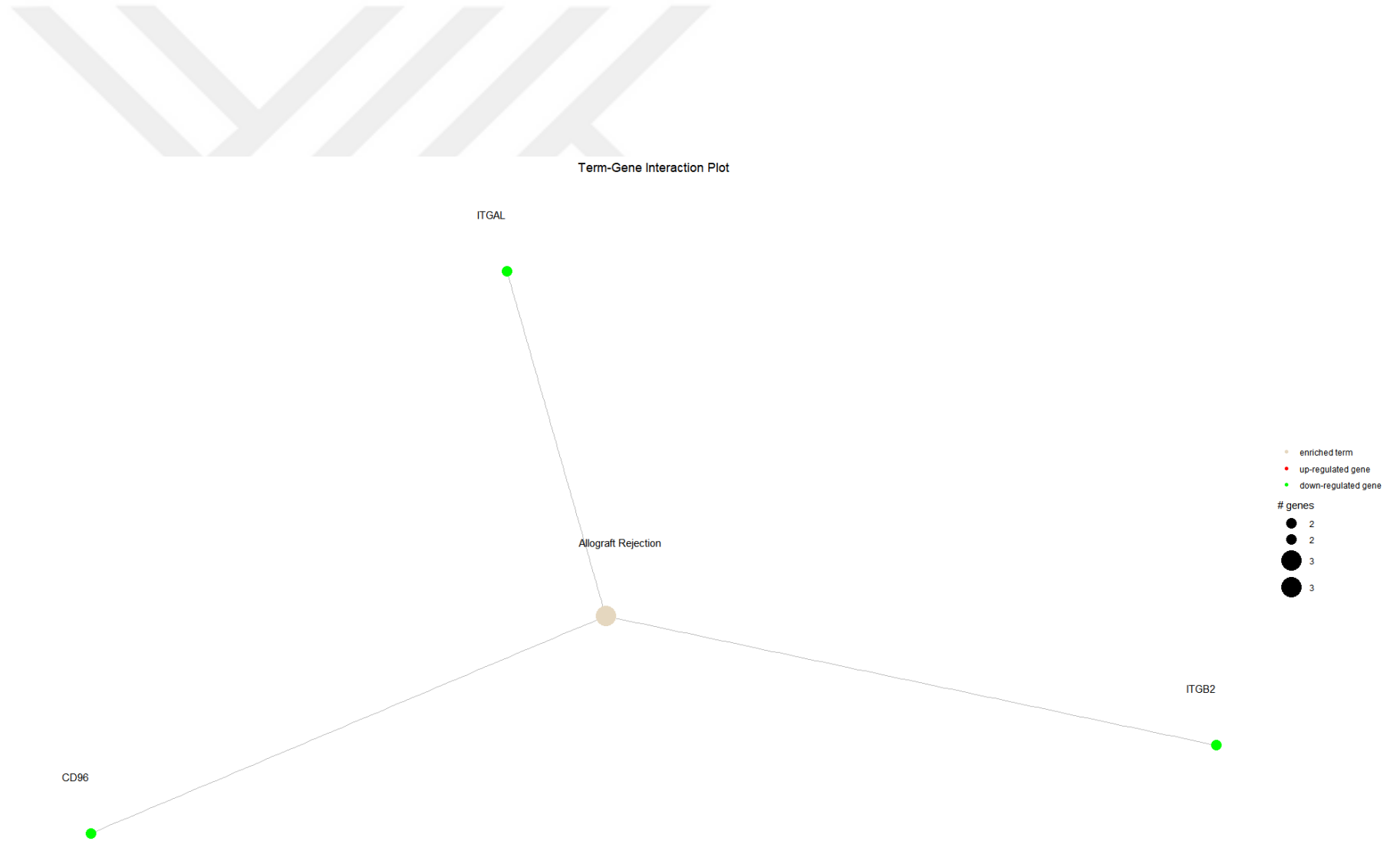
Yine primer dokuda, EMT ile ilişkili FERMT2, FBLN5, ITGB3, ECM2, VCAM1 genlerinin ifadelerinin azaldığı, COL3A1, THY1, ITGA2, CD44 genlerinin ise ifadelerinin arttığı saptanmıştır.

Metastatik dokuda, ekspresyon seviyelerinin azaldığı belirlenen hücre adezyon moleküllerinden CD96, ITGAL, ITGB2'nin kansere spesifik özelliklerden allograft rejeksiyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Allograft rejeksiyonun temelinde kanser hücrelerinin de temel davranış şekli olan immün yanıtta kaçış bulunmaktadır. Hücre adezyon moleküllerinin, dokunun reddedilmesinde önemli rolü vardır. Bu mekanizmalar konakta, lenfositler ile endotel hücreler arasındaki adezyon ile başlamaktadır. İntegrin alt birimlerinin lökosit alımı ve akut rejeksiyon gelişiminde önemli rolü vardır. Örneğin, makrofaj aktivasyonu ve endotelial hücreler tarafından aktive edilen $\alpha\beta3$ integrini, sitokin salınımında ve büyüme faktörlerinin modüle edilmesinde görev yapmaktadırlar. MMP2, von Willebrand faktör, fibronektin ve osteopontin gibi integrin $\alpha\beta3$ ligandları da allograft rejeksiyonunda görev almaktadır. Yapılan bir çalışmada, korneal ve bağırsak transplantasyonlarında ICAM1 ve LFA1 adezyon moleküllerinin önemli rolü olduğu saptanmıştır. Bir diğer çalışmada ise konak ve doku uyumu adına hastanın dışarıdan aldığı PD1, sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen 4 (CTLA4, cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4) gibi antikorlara karşı meydana gelen otoimmün yanıtın, kanser oluşumunu indüklediği gözlenmiştir. Doku transplantasyonu yapılan hastalarda, KRK oluşma riskinin yüksek olduğu belirtilmiştir. Donörlerin erken KRK diyagnozu gerçekleşse dahi allograft rejeksiyonuna bağlı olarak mortalite oranı yüksek olarak saptanmıştır (111–116).

Ekspresyon seviyesi değişen genlerin kanser spesifik özellikleriyle olan ilişkisi primer doku için Şekil 4.7'de, metastatik doku için Şekil 4.8'de sunulmuştur.



Şekil-4. 7: Normal dokuya göre primer dokuda ekspresyon seviyesi değişen genlerin kanser spesifik özellikleriyle arasındaki ağ ilişki grafiği



Şekil-4. 8: Primer dokuya göre metastatik dokuda ekspresyon seviyesi değişen genlerin kanser spesifik özellikleriyle arasındaki ağ ilişki grafiği

5. TARTIŞMA

Tanı ve tedavideki gelişmelere rağmen, KRK hâlâ, dünya çapında başta gelen ölüm sebeplerinden biridir. Yeni tedavi ajanları sağkalım oranını arttırmakla birlikte, toksisite her zaman risk oluşturmaktadır. KRK'da tanının gecikmesi, tedavideki başarısızlık sebeplerinden en önemlisidir. Geç tanı, tümörün metastatik karakter kazanmasına neden olması bakımından kötü prognozdan sorumludur. Biyomarkerlar kanserin erken teşhisi ve bireysel KRK tedavisinde anahtar rol oynayan moleküler modellerdir. Diyagnostik, prognostik ya da prediktif olarak sınıflandırılabilen biyomarkerlar, KRK'nın farklı evrelerinde hastalığın gelişimi, nüksü ve bireye özgü tedavide indikatör olmaları bakımından farklı katkılar sağlamaktadır. Diyagnostik biyomarkerlar, KRK için erken teşhisi olanaklı kılarak, asemptomatik hastalarda sağkalım oranının artmasını sağlamaktadır. Prognostik biyomarkerlar, erken nüks ve mortaliteyi de kapsayan hastalık sürecinin tahmin edilmesini ve böylelikle erken müdahale imkânı sağlayarak hastaları ağır tedavi süreçlerinden korumaktadır. Prediktif biyomarkerlar ise KRK'nın moleküler alt türüne göre bireysel tedavinin plânlanması sürecinde önem taşımaktadır (117).

KRK'de metastatik sürece öncülük eden hücre-matriks adezyon moleküllerindeki ifade değişimlerinin saptanarak biyomarker potansiyellerinin belirlenmesini amaçladığımız bu çalışma kapsamında ilk olarak 41 özgün normal doku, 379 primer doku ve 64 metastatik doku olmak üzere toplamda 484 dokudan duplike örnekler çıkarılarak toplamda 456 dokuya ait mRNA verileri kullanılarak, DEG analizi yapılmıştır.

Bu analiz sonucunda normal doku ile kıyaslandığında primer dokuda ifadesi değişen hücre adezyon moleküllerinden immünoglobülin süper ailesine (IgSF) ait *MADCAM1*, *JAM3* (Junctional adhesion molecule C) ve *VCAM1*'in ekspresyon seviyesinin azaldığı, *THY1*'in (Thy-1 membrane glycoprotein) ise ekspresyon seviyesinin arttığı belirlenmiştir. Yine bu aileye dahil olan *L1CAM*'in ise primer dokuda ekspresyon seviyesinin azalırken metastatik dokuda ise ifadesinin arttığı belirlenmiştir.

Önceki çalışmalarda, KRK'de, *MADCAM1*'in *ITGB7*($\alpha4\beta7$) ile etkileşime girerek anti-tümör yanıtın oluşturulmasında görev yaptığı belirlenmiştir. DEG analizi sonucunda primer dokuda ifadesinin azaldığını belirlediğimiz *MADCAM1* molekülünün KRK'deki ifadesi henüz aydınlatılmamıştır (118–121).

Bu çalışma kapsamında elde ettiğimiz sonuca paralel olarak daha önce yapılan çalışmalarda *JAM3*'ün, KRK'de epigenetik olarak inaktive edildiği belirlenmiştir. Bu nedenle tümör süpresör olarak görev yaptığı düşünülmektedir. Literatürde *JAM3*'ün KRK için potansiyel prognostik biyomarker niteliği taşıdığı ileri sürülmektedir (122–125).

IgSF'nin diğer bir aile üyesi *VCAM1*, meme kanseri, melanoma, renal hücreli karsinoma gibi, malignant tümörlerin oluşumuyla bağlantılıdır. Bu çalışma kapsamında primer dokuda ifadesinin azaldığını belirlediğimiz *VCAM1*'in , KRK'lı hasta dokularında ekspresyonunun arttığı belirlenmiştir. Normal ve KRK hasta doku verileri kullanılarak yapılan biyoinformatik çalışmalarda artan *VCAM1* ifadesinin metastaz ve kısa sağkalımla ilişkili olduğu gösterilmiştir. *VCAM1*'in EMT yoluyla invazyon ve metastazı indüklediği aydınlatılmıştır. *VCAM1*'in KRK'de tümör gelişimini teşvik ettiği belirlenmiştir. Yamada ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada *PAI-1* ve *VCAM-1* KRK'li hastalarda operasyon sonrası nüksün öngörülebilmesi bakımından potansiyel kombine biyomarker olarak önerilmektedir (83, 126–129).

İmmünoglobülin süper ailesi üyelerinden bir transmembran glikoproteini olan *CD96* (T-cell surface protein tactile) geninin ekspresyon seviyesinin, primer ve metastatik dokuda azaldığı saptanmıştır. Ek olarak hücre -matriks fonksiyon grubu ile ilişkilendirilmiştir. *CD96*, KRK'de bir immün kontrol noktası olarak görev yapmaktadır. Literatüre bakıldığında, bizim bulgularımıza paralel olarak, yapılan bir pan kanser araştırmasının sonucunda *CD96* ifadesinin, KRK'de azaldığı tespit edilmiştir. Bunun yanında *CD96*'nın içerdiği Ig bölgeleri aracılığıyla hücre adezyonuna katılmaktadır. Bu molekül T hücreleri, doğal öldürücü hücreler (NK, *natural killer*) ve bazı B hücre alt popülasyonlarında eksprese edilmektedir (127,128). Song ve arkadaşlarının, 2015 yılı TCGA verilerini kullanarak, KRK'da *in silico* olarak gerçekleştirdiği analizlere göre, *CD96*'nın tümör süpresör gibi hareket

ettiğini ve azalan ekspresyonunun KRK gelişiminde rol aldığını ortaya koymuşlardır. Sonuç olarak *CD96*'nın KRK'de potansiyel prognostik marker olabileceği ileri sürülmektedir (130–134).

Tümör stromasında bulunan *THY1*'in glioma, akciğer kanseri, hepatoblastoma, safra kesesi ve kanser kök hücreleri için potansiyel marker olduğu ileri sürülmektedir. *THY*'nin *ITGB3*'ün ligandı olduğu ve *ITGB3*'ün ileri evre KRK'de migrasyonu indüklediği belirtilmektedir. Bu çalışmada primer evrede ifadesinin arttığını belirlenen *THY1*'in literatürde yapılan çalışmalarda da kolon dokularında ekspresyon seviyesinin arttığı ve tümör oluşumunu indüklediği gösterilmiştir. Aynı zamanda kolon dokuları için aday biyomarker niteliği taşımaktadır (135–145).

Bu araştırma kapsamında gerçekleştirilen DEG analizine göre, *L1CAM* (Neural cell adhesion molecule L1) geninin ekspresyon seviyesinin primer dokuda azaldığı, metastatik dokuda ise arttığı saptanmıştır. Ayrıca *L1CAM*'in GO analizine göre, hücre-matriks adezyon fonksiyon grubuyla ilişkili olduğu belirlenmiştir. L1 ailesi üyelerinden *L1CAM*, immünoglobülin süper ailesi üyelerindendir. İlk olarak sinir sisteminde tanımlanan ve transmembran glikoproteini olan *L1CAM*, hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonunda, aynı zamanda epitel hücre migrasyonunda görev almaktadır. *L1CAM* içerdiği korunmuş Ig benzeri domainlerle ECM'de bulunan laminin ve tenaskin moleküllerine, RGD ve FN3 domaini ile $\alpha v\beta 3$, $\alpha IIb\beta 3$, $\alpha v\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 9\beta 1$ integrinlere bağlanarak kanser sürecini indüklemektedir (146,147).

L1CAM ekspresyonu, WNT/ β katenin yolağının aktivasyonu ile düzenlenmektedir. *L1CAM*'in primer ve metastatik dokuda gerçekleşen iki fazlı ekspresyonunun, KRK'de WNT aracılı iki tip kök hücrenin aktivasyonundan kaynaklandığı ileri sürülmektedir: Kararlı kanser kök hücreler, (SSC cells, stationary stem cells) ve hareketli kanser kök hücreleri (MSC cells, Migratory or mobile stem cells). Bu mekanizmalarda, APC mutasyonları düşük seviye β -katenin ekspresyonuna yol açar. Bu miktar, SSC hücrelerin farklılaşması için yeterlidir. Bu durum, iyi huylu kolon adenoma oluşumuna neden olmaktadır. Daha sonra, ECM'de bulunan $\beta 1$ integrinler ve ILK molekülü aracılığıyla nükleer beta katenin akümüasyonu meydana gelmektedir. Birikmiş β -katenin molekülleri, WNT sinyalizasyonunu indükleyerek EMT sürecini başlatmaktadır. Bu doğrultuda, SSC

hücrelerinin MSC hücrelerine farklılaşması gerçekleşmektedir. Aynı zamanda β -katenin, EMT'yi düzenleyen Slug transkripsiyon faktörünün ifadesini arttırmaktadır. Artan Slug ifadesi *L1CAM*'ın ekspresyon seviyesini arttırırken, E-kaderin molekülünün ise ifadesini azaltmaktadır. *L1CAM* ilişkili KRK'de bu molekülün EMT sürecinin teşvikinde gerekli olmadığı belirtilmektedir. Neticede, *L1CAM*'ın KRK'lı dokunun patolojisine göre farklılık göstermesinin nedeni bu mekanizmalarla açıklansa da, daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (148–150).

Literatürde yüksek *L1CAM* ekspresyonunun meme kanseri, glioma, melanoma, böbrek hücreli kanser, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, mide kanseri, uterus ve ovaryum kanseri gibi kanser türlerinde kötü prognozla ilişkili olduğu raporlanmıştır. Bu bulgular doğrultusunda *L1CAM*'ın bazı tümörler için potansiyel serum biyomarker niteliği taşıdığı belirtilmektedir. *L1CAM*'ın periferik marker potansiyeli üzerine yapılan çalışmalarda, *L1CAM* ekspresyonunun erken evre KRK'lı hastalarda normal dokuya göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Bazı çalışmalar *L1CAM*'ın KRK'de karaciğer metastazına yol açtığını ileri sürmektedir. Literatüre paralel olarak bizim çalışmamızda *L1CAM*'ın ifadesinin metastatik dokuda arttığı belirlenmiştir. Bu veriler *L1CAM*'ın bizim analiz sonuçlarımızdaki iki fazlı ekspresyon seviyesi bulguları ile örtüşmektedir. Ek olarak *L1CAM* ekspresyonunun serum ve patolojik dokulardaki seviyelerinin farklı olabileceği ortaya konmuştur. Chu ve arkadaşlarının yaptığı güncel bir çalışmada ise *L1CAM*'ın KRK klinik tanısı için diyagnostik serum marker niteliği taşıdığı ileri sürülmüştür. Diğer çalışmalarda, *L1CAM*'ın erken tanı için, rutinde kullanılan CEA ile kombine prognostik marker olabileceği, genel hastalarda ise görüntüleme testleri ile diyagnostik marker olabileceği ileri sürülmektedir (150,151).

Bu çalışmanın analiz sonuçlarına göre primer dokuda ifadesinin azaldığı belirlenen *CCL21* (C-C motif chemokine 21), C-C motifli kemokin ailesinin bir üyesidir. *CCL21*'in, *ECM*'nin yeniden düzenlenmesi, lökosit migrasyonu, metastaz ve anjiyogenezin aktivasyonu gibi süreçlerde rol oynadığı bilinmektedir. Kolon kanserinde lenf nodu metastazını teşvik ettiği gösterilmiştir. Artan *CCL21* ekspresyonunun, evre III ve IV KRK için, prognostik marker niteliği taşıdığı ileri sürülmektedir (152–157).

Link protein ailesi üyesi, *LYVE1*'in (Lymphatic vessel endothelial hyaluronic acid receptor 1), DEG analizi sonucuna göre, primer dokuda ekspresyon düzeyi en fazla azalan gen olduğu saptanmıştır. Literatüre bakıldığında, *LYVE1* reseptörünün, spesifik olarak lenfatik damarlarda eksprese edildiği bilinse de kolorektal dokunun da dahil olduğu farklı dokularda da ekspresyonu raporlanmıştır. Bununla birlikte KRK'li dokularda, *LYVE1* ekspresyonunun normal kolon dokusuna göre arttığı belirlenmiştir. Bu sebeple kolon dokusundaki malignansinin bir göstergesi olarak kullanılabileceği önerilmekle birlikte henüz biyomarker olma potansiyeli bulunmadığı belirtilmektedir (158,159).

Tenaskin ailesine ait *TNXB* (Tenascin X) geninin ekspresyon seviyesi bu tez kapsamında gerçekleştirilen DEG analizi sonucunda, primer dokuda en fazla azalan ikinci gen olduğu saptanmıştır. Literatürde, ECM-reseptör etkileşim yolağında yapılan analizlerde, KRK'nin T evresiyle ilişkili olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, KRK insidans ve mortalite çalışmalarına bakıldığında, *TNXB*'nin ekspresyon seviyesinin önemli derecede azaldığı gözlenmiştir. Sitokin ve büyüme faktörü tarafından düzenlenen *TNXB*'nin ifadesinin azalması, *MMP2* ve *MMP9* ekspresyon seviyelerini artırmaktadır. Neticede, *TNXB*'nin KRK için pan-kanser marker niteliği taşıdığı ileri sürülmektedir (160–164).

Fermitin (Kindlin) ailesi hücre iskeleti organizasyonunda rol alan fokal adezyon molekülleridir. İntegrinlerin fermitin aracılı aktivasyonu hücre adezyon ve migrasyonu etkileyerek ECM bütünlüğüne aracılık eder. Aile üyelerinden, *FERMT1,2* ve 3'ün (Fermitin family homolog 1,2 ve 3) bu tez kapsamında gerçekleştirilen DEG analizine göre, ekspresyon seviyelerinin sırasıyla, primer dokuda arttığı, primer dokuda azaldığı, hem primer hem de metastatik dokuda azaldığı saptanmıştır. KRK'de üç genin de ektopik ekspresyonu sonucunda, *FERMT1*'in diğer üyelere göre, matriksin invaziv kapasite kazanmasında daha fazla katkısı olduğu belirlenmiştir. Araştırmamıza paralel olarak başka bir çalışmada yine, *FERMT1*'in kolon kanserinde yüksek düzeyde ifadesinin EMT'yi indüklediği dolayısıyla metastaza yol açtığı gösterilmiştir. Bu nedenle KRK için, prognostik ve diyagnostik marker niteliği taşımakta, aynı zamanda terapötik hedef olarak önerilmektedir. Yine, bizim bulgularımızla uyumlu olarak literatürde, *FERMT2*'nin KRK'de ekspresyon seviyesinin azaldığı, aynı zamanda integrin bağlanma

proteininin (ILK) aktivitesini engelleyerek, integrinin ifadesini azalttığı belirtilmiştir. *FERMT2*'nin ektopik ekspresyonunun proliferasyonu ve migrasyonu engellediği gösterilmiştir. Bunun yanında *FERMT2*'nin fosforilasyonunun, KRK'de metastazı teşvik ettiği bildirilmiştir. Bu üç genin de KRK için potansiyel diyagnostik marker olabileceği ileri sürülmektedir (165–172). Ek olarak *FERMT3* moleküler fonksiyon analizinde (GO) hücre-matriks adezyon fonksiyon grubu ile ilişkilendirilmiştir. *FERMT3*, *ITGAL* ve *ITGB2* fonksiyonlarını indüklemektedir. Bu doğrultuda, *FERMT3* ile *ITGB2* etkileşiminin engellenmesi, immün yanıtın artmasını sağlamaktadır. Bu noktada *FERMT3*, integrin inaktivasyonuna yol açarak, integrin-matriks etkileşimini durdurmaktadır. Daha önce yapılan bir çalışmada, lökositlerde artan *FERMT3* ifadesinin hücre adezyonunu arttırarak migrasyonu engellediği bildirilmiştir. Bunun yanında, *FERMT3* geninde meydana gelen mutasyonlar, bağırsaklarda, lökosit adezyonu eksikliği tip 3 olarak adlandırılan adezyon bozukluklarına neden olmaktadır. *FERMT3*, lökosit trafiğinde, lenf nodlarına girerek Ig ekspresyonunu arttırmak için, B hücre adezyonuna ihtiyaç duymaktadır (173–175).

Daha önce yapılan bir çalışmada, DEG analizimize zıt olarak, *FERMT3* genlerinin kolon kanserinde yüksek seviyede eksprese edildiği bildirilmiştir. *FERMT3*'ün kanser progresyonundaki rolü tartışmalıdır. Örneğin, azalan *FERMT3* ekspresyonu, gliomada hücre proliferasyonu ve kemoresistansa neden olurken, meme kanseri ve akciğer kanserinde tümör oluşumunu engellemektedir. KRK'de yapılan bir araştırmaya göre, artan *FERMT3* ekspresyonu, WNT/ β -katenin-PDL1 sinyalizasyonunu engellemektedir. Neticede, *FERMT3*, KRK için potansiyel terapötik hedef ve diyagnostik marker niteliği taşıdığı ileri sürülmektedir (169,174–176).

Bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen analiz sonuçlarına göre, Lektin ailesine ait *SIGLEC1* gen ekspresyonunun primer dokuda azaldığı saptanmıştır. Literatüre bakıldığında bu genin makrofajlardaki ekspresyonu, antijen sunumuna aracılık ederek otoimmüniteyi artırmaktadır. Buna bağlı olarak KRK'de koruyucu olduğu, anti-tümör yanıtın takibi için prediktif, aynı zamanda prognostik ve diyagnostik marker potansiyeli taşıdığı ileri sürülmektedir (179–180).

Fibulin ailesine ait bir ECM proteini olan *FBLN5*'in (Fibulin-5), primer dokuda ekspresyon seviyesinin azaldığı saptanmıştır. Bu sonuca paralel olarak literatürde de *FBLN5*, bazı tümör tipleri için potansiyel bir tümör süpresör gen olarak önerilmektedir. KRK'li tümör dokularında, peri tümördeki dokulara göre daha düşük seviyede ifade olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, KRK'li hücrelerde apoptozu teşvik ettiği gösterilmiştir (181).

İntegrin ailesi WNT/ β -katenin sinyalizasyonu ile birlikte ECM'nin gerginliğini düzenlemektedir. Burada, integrin aracılı fokal adezyon yolağının aktivasyonu sonucu, ekspresyon seviyesi artan β -katenin proteini, *WNT1* promotörüne bağlanarak bu sinyalizasyon yolağını aktifleştirmektedir. Bu yolla, dokunun mezenşimal karakter kazanması sağlanmaktadır. İntegrinler, hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonuna katılmaktadır. ECM mekaniği üzerine yapılan bir çalışmada integrinlerin çeşitli yollarla düzenlendiği belirtilmiştir. Örneğin, AKT yolağının inhibisyonu β -katenin sinyalizasyonu üzerinden ECM'nin katılığını kısmen bloke ederken, ERK yolağının aktive edilmesiyle birlikte integrin aracılı WNT/ β -katenin sinyalizasyonu aktive edilmekte ve matriks mekaniği yeniden düzenlenmektedir (182,183)

İntegrin ailesine ait *ITGA8*, *ITGA4*, *ITGA7* ve *ITGAL* (İntegrin alpha-8, 4, 7 ve L), *ITGB3* ve *ITGB7* (İntegrin beta-3,7) ifadelerinin primer dokuda, *ITGAL* ifadesinin ek olarak metastatik dokuda da azaldığı saptanmıştır. Literatürde bizim sonuçlarımıza paralel olarak endotelial marker olarak bilinen *ITGA4*'ün azalan ekspresyonu, KRK'de malign karakterle ilişkilendirilmiştir. Daha önceki çalışmalarda, *ITGA4* metilasyonunun erken evre KRK için kan ve gaita temelli prediktif bir biyomarker olabileceği ileri sürülmektedir. Bununla birlikte *ITGA4*'ün, metastatik KRK'da terapötik yanıtın görüntülenmesi için kullanılabileceği önerilmektedir. *ITGA7*'nin doku ve dolaşımdaki azalan ekspresyonu, metastazla ilişkilendirilmiştir. Kolajene afinite gösteren *ITGA7* ve *ITGA8*'lerin azalan ekspresyonunun, potansiyel diyagnostik marker niteliği taşıdığı ileri sürülmüştür. *ITGB3*'ün ise anjiyogenez markeri olduğu belirtilmektedir (184–187).

Yapılan GO analizinde hücre-matriks adezyon fonksiyon grubu ile ilişkilendirilen *ITGAL*'ın mRNA seviyesinin normal dokuda, tümör dokusuna kıyasla daha yüksek seviyede eksprese edildiği belirtilmiştir. Bununla birlikte, KRK

dokularında, *ITGAL*'ın azalan ekspresyonunun KRK için diyagnostik marker potansiyeli taşıdığı önerilmiştir. $\beta 2$ integrinler genellikle lökositlerde eksprese edilmektedir. Çünkü, sıvı akış stresi altındaki, kan damarlarının etrafında bulunan endotelial dokuda, adezyon için gereklidir. Böylelikle, ekstrasvazasyona öncülük etmektedir. Literatüre bakıldığında, integrin alt birimlerinin farklı kombinasyonlar oluşturduğu görülmektedir. Örneğin $\beta 2$ integrini (*CD18*, *ITGB2*), *ITGAL* (αL , *CDA11*, *LFA1*) ile kompleks oluşturmaktadır (185). Bununla birlikte, farklı $\beta 2$ kombinasyonları, dokudaki ekspresyon seviyelerini farklılaştırmaktadır. Örneğin, *LFA1* ligandı olan *CD11A* ekspresyon seviyesi malignan karakterli epitel hücrelerde artarken, lenfositlerde ifadesinin azaldığı gözlenmiştir. Aynı çalışmada *LFA1*'in hem primer hem de metastatik KRK'lı dokuda ekspresyon seviyesinin arttığı saptanmıştır. Bununla birlikte *LFA1*'in NK hücrelerdeki aşırı ekspresyonunun, KRK'de apoptoza yol açtığı bildirilmiştir. Karaciğer metastazlı KRK'de yapılan bir çalışmaya göre, artan *ITGAL/ITGB2* integrin ekspresyonunun, metastazı indüklediği bildirilmiştir (56,184,188–192).

ITGB7'nin artan ekspresyonu KRK'de iyi prognozla ilişkilendirilmiştir. *ITGB7* anti-tümör etkinin izlenmesi için marker niteliği taşımaktadır. *ITGB3*, endotelial ve anjiyogenez markerı olarak, meme ve melanomada ise prognostik marker olarak önerilmiştir. Bu genin tek başına veya *ITGA2B* ya da *ITGAV* ile oluşturduğu heterodimer yapıların azalan ekspresyonu KRK'de metastazı engellemektedir (193,194).

Çalışmamızda integrin ailesine ait moleküllerden *ITGA2* ve *ITGA11* (Integrin α -2, 11) ekspresyonlarının primer dokuda artış gösterdiği saptanmıştır. Literatüre bakıldığında araştırmamıza paralel şekilde, *ITGA2*'nin KRK'de azaldığı, bununla birlikte KRK için prognostik ve diyagnostik biyomarker niteliği taşıdığı belirtilmektedir (195,196).

Metastatik dokuda ise integrinlerden , *ITGA2B*'nin (Integrin α -IIb) ekspresyon seviyesi artarken, *ITGAD*'ın (Integrin α -D) ve *ITGB2*'nin (Integrin β -2) ise azaldığı saptanmıştır. Literatürde, *ITGAD*'ın *ITGB2*'lerle kombinasyon oluşturduğu bilinmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda $\beta 2$ alt birimlerin, integrin aktivasyonu, adezyon ve sinyalizasyonu için gerekli olduğu ve ekspresyon

seviyelerindeki azalmanın metastatik karakterle ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte, farklı $\beta 2$ kombinasyonları, dokudaki ekspresyon seviyelerini farklılaştırmaktadır. GO analizinde hücre-matriks adezyon fonksiyon grubu ile ilişkilendirilen *ITGB2*'nin *ITGAL* ile oluşturduğu heterodimerik kompleksin KKK'deki rolü yukarıda detaylı olarak açıklanmıştır (184,197).

Literatüre bakıldığında, *ITGB3* integrin alt birimi ile heterodimerik yapı oluşturan *ITGA2B* 'nin, mRNA seviyelerinin normal dokuda, tümör dokusuna kıyasla daha yüksek seviyede eksprese edildiği belirtilmiştir. *ITGA2B* 'nin lökosit adezyonu ve migrasyonunda rolü olduğu bilinmektedir. Bu molekülün literatürde, immün sistemde etkili olan bir fibrinojen reseptörü ve LFA1 ligandı olduğu belirtilmiştir. Nötrofil adezyon kompleksleri için yapılan antikor tanımlama çalışmasında, glikoprotein (IgGP) ile kompleks oluşturan *ITGA2B*, otoimmün nötropeni ile bağlantılı bulunmuştur. Bununla birlikte, kardiyak allogreft üzerine yapılan bir çalışmada, *ITGA2B*'nin inhibisyonu sonucu *ICAM1*'in allogreft rejeksiyonunu engellediği bildirilmiştir. Benzer amaçla yapılan güncel bir araştırmaya göre, *ITGA2B*'nin inhibisyonu, istenmeyen T hücre aktivasyonunu engellediği belirtilmiştir. Çalışmaya göre kullanılan bispesifik antikorların, hem oluşabilecek yan etkileri engellediği, hem de anti-tümör aktiviteyi arttırdığı ileri sürülmüştür. Bu doğrultuda, mevcut tez kapsamında gerçekleştirilen KEGG analizimize göre, *ITGA2B*'nin ve *ITGAL*'in fonksiyonlarının literatüre paralel olduğu ortaya konmuştur (198–200).

EGF benzeri protein ailesine ait olan *ITGBL1* (Integrin beta-like protein 1) geninin, DEG analizine göre, primer dokuda ekspresyon seviyesinin arttığı saptanmıştır. Literatüre bakıldığında, *ITGBL1*'ye ait bilgilerin bu sonuçlara paralel olduğu görülmüştür. *ITGBL1*'in KKK'de invazyon, migrasyon ve metastazı indüklediği bildirilmiştir. Bu genin, WNT/ β -katenin yolağıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir ve potansiyel prediktif biyomarker niteliği taşımaktadır (201,202).

DEG analizi sonucunda koronin aile üyesi *CORO2B* 'nin (Coronin-2B, clipin C), primer dokuda yüksek oranda azalan genlerden biri olduğu gözlenmiştir. Literatürde diğer koronin aile üyelerinden *CORO1C*'nin KKK metastazını teşvik ettiği aydınlatılmış olmakla birlikte, *CORO2B*'nin sadece bazı tümör tiplerinde

disregülasyonu ile ilgili sınırlı bilgi bulunmaktadır. *CORO2B*'nin fokal adezyon birleşimiyle ilgili yolaklarda da rol oynadığı, aktin hücre iskeleti organizasyonunda yer alarak, hücre-matriks adezyon bölgeleri için bağlanma modülü gibi hareket ettiği belirtilmiştir. Bu bakımdan KRK'deki etkisinin detaylı bir şekilde belirlenmesi önem taşımaktadır (203–207).

Multimerin/EMILIN ailesine ait *MMRN1* (platelet-multimerin-human) geninin primer dokudaki azalan ekspresyon seviyesi, sınır değerinin fazlaca üzerinde saptanmıştır. Literatürde, *MMRN1* geninin endotelyal hücrelerde ve ECM'de bulunduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda içerdiği RGD motifleri sayesinde integrin-ECM protein etkileşimlerine ve aktive edilmiş plateletlerde hücre adezyonuna aracılık etmektedir. Bu genin ekspresyonu kanser türlerine göre değişim göstermektedir. Örneğin, rektal kanserde azalan *MMRN1* geni kemoresistansla ilişkili iken kolorektal kanserde *MMRN1* geninin artan ifadesinin mortaliteyle ilişkili olduğu öne sürülmektedir. Bu nedenle *MMRN1* potansiyel bir biyomarker niteliği taşımaktadır. Bu ailenin diğer bir üyesi olan, *EMILIN1*(EMILIN-1) geninin primer dokuda ifadesinin azaldığı saptanmıştır. Literatüre bakıldığında, bu genin ekspresyon kaybı, kolon adenokarsinomunda immün yanıtı etkileyerek, lenfanjiyogenezi indüklediği belirtilmiştir. Bunun yanında $\beta 1$ integrinlerle etkileşime girerek, kolon mikro çevresinde onkosüpresif rol oynamaktadır (208,209).

Yine primer dokuda, BCL2 aile üyesi *BCL2* ve *BCL2L11* (Bcl-2-like protein 11) moleküllerinin ekspresyon seviyelerinin azaldığı saptanmıştır. *BCL2* geninin anti-apoptotik fonksiyonu olduğu bilinmektedir. Bu doğrultuda *BCL2* geninin ekspresyonunun artması, KRK için iyi bir prognostik ve prediktif marker olabileceği öne sürülmektedir. Literatürde *BCL2L11*'in KRK'deki ekspresyon ve fonksiyonu ile ilgili bilginiz dahilinde çalışma bulunmamaktadır (210,211).

Müsin aile üyesi transmembran bir glikoprotein olan *MUC4* (Mucin 4) geninin ekspresyon seviyesinin hem primer hem de metastatik dokuda azaldığı saptanmıştır. *MUC4*'ün, apoptozu engelleyerek tümör oluşumunu indüklediği bilinmektedir. KRK'nin de dahil olduğu pek çok kanserin oluşumuyla ve metastazla ilişkilidir. *MUC4* ekspresyonu, KRK hücre hatlarında genel olarak düşük seviyede olmakla birlikte, değişkenlik göstermektedir. *MUC4* ekspresyonunun azalması, β -katenin

yolağı üzerinden KRK oluşumunu indüklemektedir. *MUC4*'ün artan ekspresyonu ise, KRK erken evrelerinde kısa sağkalımla ilişkilendirilmiştir. Bütün bu çalışmalar *MUC4*'ün prognostik marker olabilme durumunun dokuya, kanser tipine ve hücre hattına bağlı olduğunu göstermektedir (212–214).

VWA2 (von Willebrand factor A domain-containing protein 2) geni, VWA süper ailesine ait bir gendir. Bu tez kapsamında gerçekleştirilen analizler doğrultusunda, bu genin primer dokuda ekspresyonunun arttığı saptanmıştır. Literatüre bakıldığında, genellikle KRK'lı hücrelerde ekspresyonu artan bir ECM proteini olduğu belirtilmektedir. VWA2'nin hücre adezyonu ve migrasyonuna dahil olduğu belirtilmiştir. Bunun yanında, integrinlerle etkileşimde olduğu, bu nedenle integrin aracılı sinyalizasyon yolağıyla, ECM'nin yeniden düzenlenmesinde ve metastatik sürecin indüklenmesinde etkili olabileceği ileri sürülmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda, VWA2 geninin artan ekspresyonu, potansiyel biyomarker niteliği taşımaktadır (215–217).

Protein kinaz süper ailesine ait, *PTK2B* (Protein-tyrosine kinase 2-beta, PYK), *TESK2* (Dual specificity testis-specific protein kinase 2) ve *ILK* (Integrin-linked protein kinase) genlerinin primer dokuda ifadelerinin azaldığı belirlenmiştir. Literatürde *PTK2B*'nin integrin bağımlı hücre içi ve hücreler arası sinyalizasyonlara yanıt verdiği belirtilmiştir *PTK2B* seviyesinin kolon adenokarsinomunda arttığı, bu durumun lenf nodu metastazını teşvik ettiği ortaya konmuştur. Bu nedenle *PTK2B*, KRK için prognostik biyomarker niteliği taşımaktadır. DEG analizinde *PTK2B* için metastatik dokuda ifade değişimi saptanmamıştır. Primer dokuda azaldığını belirlediğimiz *ILK*'nin metastatik dokuda ifade değişimine ait bir sonuç elde edilmemiştir. Bununla birlikte daha önceki çalışmalarda, KRK hücre hatlarındaki ektopik ekspresyonu, , EMT markerlarının artmasına neden olduğundan migrasyon, invazyon ve kemoresistan özelliğini indüklediği ileri sürülmektedir (218–224).

Yaptığımız analizlere göre, Zyxin/Ajuba ailesine ait *AJUBA* (LIM domain-containing protein ajuba) geninin, primer dokudaki ekspresyon seviyesinin, sınır değerinin fazlaca üzerinde olduğu saptanmıştır. Daha önceki çalışmalarda, epidermal kaderin-katenin adezyonuna öncülük ettiğini ve aktin hücre iskeletiyle etkileşime girdiği ortaya konmuştur. KRK'de N-kaderin ekspresyonunu artırarak, EMT'yi,

migrasyonu ve dolayısıyla metastazı indüklemektedir. Bu nedenle *AJUBA*'nın, KRK için prognostik biyomarker niteliği taşıdığı belirtilmektedir (225–228).

Bu araştırma kapsamında gerçekleştirilen analizlere göre, FRAS1 ailesine ait *FREM1* (FRAS1-related extracellular matrix protein 1) geninin ekspresyon seviyesinin hem primer hem de metastatik dokuda arttığı ve ECM-reseptör etkileşimi ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Bizim verilerimizle uyumlu olarak, KRK'de artan *FREM1* ekspresyonunun, hücrelere radyorezistan özelliği kazandırarak ve apoptotik özelliği azaltarak, kanser gelişimini ve hücre proliferasyonunu indüklediği gözlenmiştir. Bu nedenle, KRK için potansiyel biyomarker özelliği taşımaktadır (226–230).

Bu araştırma kapsamında yapılan analizlere göre, kolajen ailesine ait *COL17A1* (Collagen Type XVII Alpha 1 Chain) geninin primer dokuda ifadesi azalırken, *COL3A1* (Collagen Type III Alpha 1 Chain) ve *COL5A3* ($\alpha 3$ chains of type V collagen) genlerinin ifadelerinde artış olduğu saptanmıştır. Literatüre bakıldığında, tip 17 kolajenlerin artan ekspresyonunun ileri evre KRK ve kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu doğrultuda, *COL17A1*'in KRK'de tümör invazyon ve metastazında görev aldığı belirtilmektedir. (234–236). *COL3A1* geninin ifadesindeki artışın KRK'de tümör gelişimini ve hücre proliferasyonunu indüklediği bildirilmiştir. Bu sebeple, diyagnostik ve prognostik biyomarker niteliği taşıdığı önerilmektedir (234,235). *COL5A3*, GPC1 (glipikan-1) reseptörü ile etkileşime girerek mitojenik etki kazandırmaktadır. GPC1'in inhibisyonu, tümör ECM'inde *COL5A3*'ün ekspresyonunu ve buna bağlı olarak tümör hücre proliferasyonunun azalttığını ortaya koymuştur. Kolorektal kanser progresyonuna olan etkileri henüz tam olarak aydınlatılmamıştır (239,240).

Sarkoglikan ailesine ait, bir transmembran proteini olan *SGCE*'nin (Epsilon-sarcoglycan), primer dokudaki ifadesinin azaldığı saptanmıştır. Bu sonuçlara paralel olarak *SGCE*'nin, daha önceki çalışmalarda, özellikle mikrosatellit instabilitesi olan KRK'de önemli derecede azaldığı belirtilmektedir (241,242).

Analiz sonuçlarına göre, TIAM ailesi üyelerinden *TIAM1*'in (Rho guanine nucleotide exchange factor TIAM1) primer dokuda ekspresyon seviyesinin azaldığı saptanmıştır. Literatüre bakıldığında, *TIAM1*'in yüksek ekspresyon seviyesi KRK'lı

hastalarda kötü prognoz ve kemoterapiye direnç ile ilişkilendirilmiştir. Bu genin inhibisyonu sonucu ise hücrelerin ilaca duyarlılığının arttığı, invazyon ve metastaz sürelerinin geciktiği gözlenmiştir (243–245).

Yaptığımız analizlere göre, hemopeksin ailesi üyelerinden *VTN* (Vitronectin) geninin, metastatik dokuda ekspresyon seviyesinin azaldığı saptanmıştır. Ayrıca bu gen GO analizinde hücre-matriks adezyonu ile ilişkilendirilmiştir. *VTN*, hepatositler tarafından eksprese edilen kanda ve ekstraselüler matrikste görev alan bir glikoproteindir. *VTN*'nin temel görevi, dışarıdan gelen sinyalleri çekirdeğe iletmek, bununla birlikte hücre adezyonuna katılarak dokuyu yeniden düzenlemektir. *VTN*, içerdiği bölgelerle çeşitli sayıda ligandlara bağlanabilmektedir. Örneğin, SBM domaini (somatomedin B), fokal adezyonda bulunan ürokinaz reseptörüne bağlanarak proteoliz aktivasyonunu düzenler. Bu yolla, ECM'nin yapısını degrade etmektedir. *VTN*'nin içerdiği RGD sekansları (Arg-Gly-Asp), integrinlerin bağlanmasından sorumludur. *VTN*, $\alpha\beta3$ (vitronectin reseptörü) $\alpha\beta5$, $\alpha\beta1$, $\alpha\text{IIb}\beta3$, $\alpha\beta6$ ve $\alpha\beta8$ integrinlere bağlanarak hücre adezyonu, integrin aracılı sinyalizasyon, hücre iskeletinin düzenlenmesi ve migrasyonda görev almaktadır. Bunun yanında MMP2'lerin yapısına katılarak katalitik aktiviteyi düzenlediği belirtilmektedir (246–252).

Literatüre bakıldığında, bizim bulgularımıza zıt olarak, *VTN*'nin metastatik KRK'da artan ekspresyonu gözlenmiştir. Bununla birlikte, kolon adenokarsinomunda *VTN*'nin, farklılaşan dokuya bağlı olarak, farklı seviyelerde eksprese edildiği ileri sürülmektedir. Bunun yanında, KRK'nin tümör stromalarında *VTN*'nin αv integrinlerle birlikte, kolajenaz ekspresyonunu artırdığı ve böylelikle kansere invazif potansiyel kazandırdığı düşünülmektedir. Buna ek olarak, $\alpha\beta3$ ve $\alpha5\beta1$ integrinleri ile *VTN*'nin birlikte anjiyogenez indüklediği belirtilmektedir. Bununla birlikte karaciğerde fazlaca eksprese edilen *VTN*'nin, fibrozis markerı ve meme kanserinde erken evre markerı olabileceği ileri sürülmektedir. Sonuçta *VTN* hedefli terapi stratejileri için integrin, MMP2 ve *VTN* antagonistlerinin hedef olarak kullanılabileceği ileri sürülmektedir (247,253–258).

Heparanaz ailesi üyelerinden *HPSE* (Heparanase) geninin, DEG analizine göre, hem primer hem de metastatik dokuda ifadesinin azaldığı saptanmıştır. *HPSE*,

memelilerde bulunan, proteoglikanlardan heparan sülfat zincirlerini parçalayabilen bir enzimdir. ECM aracılığıyla gerçekleştirilen bu mekanizma, hücre adezyonuna olanak tanımaktadır. Yakın zamanda yapılan bir araştırmada, *HPSE*'nin ekspresyon seviyesinin, kendi substratı olan heparan sülfat tarafından düzenlendiği önerilmektedir. Ancak bu mekanizmanın konsantrasyona bağlı olduğu ileri sürülmektedir. Bu substratın *WNT3A*'ya yüksek afinite gösterdiği ve *HPSE* ekspresyonunu düzenlediği bildirilmiştir. *HPSE*'nin artan ifadesi tümör gelişimi, inflamasyon, EMT ve anjiyogenez gibi süreçlerde etkili olmaktadır (259,260).

Literatüre bakıldığında, *HPSE* geninin KRK'de aşırı ekspresyonu, invazyon ve metastazla ilişkilendirilmiştir. Bizim bulgularımızın aksine, artan *HPSE* ekspresyonunun karaciğer metastazıyla arasında pozitif ilişki bulunmuştur. Aynı zamanda bu gen, tümör gelişimini indükleyen biyoaktif sitokinler salgılamakta ve MMP1'in ifadesini artırmaktadır. Yapılan başka bir çalışmada *HPSE*'nin immün sistem tarafından indüklenen tümör oluşumuna dahil olduğu ileri sürülmüştür. Bu gen KRK'de aynı zamanda, *EGFR* sinyalizasyonu üzerinden kemoterapiye direnç oluşturmakta, buna bağlı olarak anjiyogenez indüklemektedir. İlginç bir şekilde *HPSE*'nin kansere spesifik tüm özellikleri düzenlediği bildirilmiştir. Artan *HPSE* ekspresyonu ve enzimatik aktivitesinin, tiroit kanserinde diyagnostik marker olabileceği önerilen *HPSE'nin*, benzer şekilde KRK için potansiyel bir prognostik biyomarker olduğu ileri sürülmektedir (261–264).

Analizlerimizde, parvin ailesi üyelerinden *PARVG* (Gamma-parvin) geninin hem primer hem de metastatik dokuda ifadesinin azaldığı saptanmıştır. Parvinler, aktin bağlanma proteinleridir. Parvin ailesi üyelerinden *PARVG* (Gamma-parvin), yüksek derecede korunmuş 2 kalponin domaini (CH) içermektedir. Bu bölgeler aracılığıyla integrin aracılı hücre-matriks adezyonunda görev almaktadır. Bu genin artan ekspresyonu, meme kanserinde sağkalım ile, azalan ekspresyonu gliomada malignan karakter ile ilişkilendirilmiştir. Rahim kanserinde yapılan bir araştırmada, artan *PARVG* ekspresyonu, immün hücrelerinin sayısı ile pozitif ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle bu kanser türünde *PARVG* geni, immün filtrasyon seviyesi ve prognoz için potansiyel biyomarker niteliği taşımaktadır. Bu tez kapsamında gerçekleştirilen DEG analizine göre, *PARVG* geninin metastatik dokuda ifadesinin azaldığı saptanmıştır. Bazı araştırmacılar azalan *PARVG* ekspresyonunun, KRK'de tümör

süpresör olarak hareket ettiğini ileri sürerken, bu doğrultuda yapılan bazı araştırma sonuçlarına göre, *PARVG*'nin tümör baskılayıcı rol üstlenmediği belirtilmektedir. Bununla birlikte *ILK* ve *PARVG* (CH2 domain aracılığıyla) kompleksinin, hücre polaritesi, integrin aracılı lökosit adezyonu ve migrasyonunda görev aldığı belirtilmiştir. Daha önce yapılan bir araştırmaya göre, CH2 fragmanının artan ifadesinin, erken evrede hücrelerin yayılmasına neden olduğu belirtilmektedir. Bunun yanında, otoimmün hastalıkların tedavisi için önerilen JK273 inhibitörünün *PARVG*'ye bağlanarak, *ITGA4* integrin bağımlı hücre migrasyonunu önlediği belirtilmiştir. Sonuç olarak, *PARVG*'nin konağın allogreft toleransını arttırdığı ve bu mekanizmaların yeni yaklaşımlar sunabileceği; *PARVG* inhibisyonunun, hücrenin sağkalımını düşürdüğü ve hücre adezyonunu azalttığı; integrin aracılı sinyalizasyonun potansiyel hedef olabileceği belirtilmektedir. Ancak KRK'deki rolü henüz tam olarak aydınlatılmamıştır (265–272).

Analizlerimizde, Angiopoietin benzeri ailesi üyelerinden *ANGPTL3* (Angiopoietin-related protein 3) geninin, primer dokuda ifadesinin arttığı saptanmıştır. Aile üyelerinden bazılarının KRK için potansiyel diyagnostik marker olabileceği ileri sürülmektedir, *ANGPTL3* oral kanser için potansiyel biyomarker olarak önerilmektedir (273).

Yaptığımız analizlere göre, SLRP ailesi üyelerinden *ECM2* (Extracellular matrix protein 2) geninin, primer dokuda ifadesinin azaldığı saptanmıştır. Literatüre bakıldığında, ECM organizasyonunda görev aldığı belirtilmektedir. Kolorektal adenokarsinomada *ECM2* ile ilgili yapılan *in silico* bir çalışmada kanser kök hücre oluşumuyla ve immün mikro çevre ile ilişkilendirilmiş olmakla birlikte prognostik biyomarker olabileceği yönünde anlamlı sonuçlar elde edilememiştir (274–278).

Bu tez kapsamında gerçekleştirilen DEG analizine göre, LY6 ailesine ait *LYPD3* (Ly6/PLAUR domain-containing protein 3) geninin, primer dokuda ifadesinin arttığı saptanmıştır. Literatüre bakıldığında, primer ve karaciğer metastazlı KRK'de ekspresyon seviyesinin arttığı belirtilmiştir. *LYPD3* 'ün EMT süreci ve metastazla pozitif ilişkili olduğu ve artan ekspresyonunun kötü prognozla sonuçlandığı belirtilmektedir. *LYPD3* KRK için potansiyel prognostik marker olarak önerilmektedir (279–282).

MSLN mezotelin ailesi üyelerinden membran bağımlı bir glikoproteindir. İlk olarak mezotelyoma ve ovaryan kanserde tanımlanan bu geninin hücre adezyonu ve EMT sürecinde pek çok mekanizmayı etkilediği düşünülmektedir. Analizlerimizde hem primer hem de metastatik dokuda arttığı saptanan ve hücre-matriks adezyon grubu ile ilişkilendirilen *MSLN*'nin normal dokuların çoğunda tespit edilememekle birlikte, neredeyse tüm mezotelyomalarda ve kolon kanserinin de dahil olduğu solid tümörlerde eksprese edildiği gösterilmiştir (283–287).

MSLN'nin KRK'de değişen ekspresyon seviyeleri, ilk olarak Ordenez tarafından tespit edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan KRK'li dokuların yaklaşık %30'unda *MSLN*'nin aşırı eksprese edildiği saptanmıştır. Literatürde Shiraishi ve arkadaşlarının *MSLN*'nin prognostik değeri üzerine yaptığı iki ayrı çalışmada sonucunda bu genin evre II/III/IV KRK'lı dokularda, yüksek seviyede eksprese edildiği; *MSLN* fonksiyonunun, evre II KRK'lı dokuda, invazyon ve tümör gelişiminde, evre III/IV KRK'lı dokuda ise metastazda etkili olduğu belirtilmektedir. Son yıllarda immünoterapi için hedef olarak kullanılan *MSLN*, KRK için potansiyel biyomarker niteliği taşımaktadır. Yakın geçmişte, Çin'de KRK üzerine gerçekleştirilen klinik bir araştırmada, PD-L1 salgılayabilen CAR T hücrelerinin *MSLN* hedefli terapideki etkinliği değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonucunda, geliştirilen bu hücrelerin, kemoterapiye kıyasla daha düşük yan etkiler gösterdiği ve ileri evre KRK'li hastalar için alternatif bir terapi olarak kullanılabileceği önerilmektedir (288-295).

Analizlerimizde, ADAMTS ailesi üyelerinden *ADAMTS12* geninin, primer dokuda ifadesinin arttığı saptanmıştır. *ADAMTS12*'nin KRK progresyonu ve prognoza olan etkileri konusunda yapılan çalışmalar çoğunlukla bu genin ifadesindeki artışın anti tümörijenik etki ve iyi prognozla alakalı olduğuna işaret etmekle birlikte bazı çalışmalarda yüksek *ADAMTS12*'nin EMT'yi indüklemeye yoluyla kötü prognoza neden olduğu belirtilmektedir. KRK'de *ADAMTS12*'nin iyi prognozla ilişkili olduğunu öne süren çalışmalar, bu geni potansiyel prognostik marker olarak önermektedir (296–300).

Bu araştırma kapsamında gerçekleştirilen DEG analizine göre, TNF ailesi üyelerinden *EDA* (Ectodysplasin-A) geninin, metastatik dokuda ifadesinin azaldığı

saptanmıştır. Literatürde *EDA* molekülünün, reseptörü *EDAR* ile oluşturduğu *EDA/EDAR* kompleksinin artan ekspresyonu, *KRK*'de *WNT/β-katenin* yolacağını aktive ederek tümör oluşumunu, proliferasyonu ve migrasyonu düzenlediği gösterilmiştir. Dokunun patolojik sınıflandırmasına bağlı olarak ekspresyon seviyesinde değişiklik gözlenen *EDAR*'ın, *KRK* için potansiyel prognostik marker olabileceği, bunun yanında terapötik hedef olarak kullanılabileceği ileri sürülmektedir (301–307).

SOHO ailesine ait *SORBS1* 'in (Sorbin and SH3 domain-containing protein 1) hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonuyla ilgili görevleri bulunmaktadır. Bu süreçte hücre iskeleti regülatörleri ile etkileşime girdiği bilinmektedir. Bizim analizlerimizde primer dokuda ekspresyon seviyesinin azaldığı belirlenen *SORBS1* 'in, primer ve metastatik evredeki farklı *KRK*'li hücre hatlarında farklı düzeylerde ifade olduğu gösterilmekle birlikte ekspresyon seviyesinin tümör evresiyle herhangi bir korelasyonu bulunmamıştır. *SORBS1* 'in, hücre migrasyonunu negatif düzenlediği önerilmektedir. Buna paralel olarak *SORBS1* inhibisyonunun metastazı negatif yönde regüle ettiği gösterilmiştir (305,308–311).

Bu araştırma kapsamında gerçekleştirilen DEG analizine göre, hücre yüzey adezyon molekül süper ailesinden, hiyalüronat reseptör alt ailesine ait *CD44* (*CD44* antigen) geninin, primer dokuda ekspresyon seviyesinin arttığı saptanmıştır. Transmembran glikoproteini olan *CD44*, hücre sinyalizasyonu, hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonu ile ilişkilidir. Dolayısıyla EMT, hücre migrasyonu ve proliferasyonu mekanizmalarını da etkilemektedir. Bu reseptör, ECM ligandları ile etkileşime girerek metastazı indüklemektedir. *KRK* kök hücreleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu genin aynı zamanda *KRK* hücrelerinin agresifliğini de arttıran bir marker olduğu ileri sürülmektedir. *CD44* rs187116 polimorfizminin, evre III ve yüksek riskli evre II *KRK* için, artan *CD44v6* ekspresyonunun ise prognostik marker niteliği taşıdığı, yüksek *CD44* ekspresyonunun ise lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve doku farklılaşması için *KRK*'de prediktif marker olabileceği ileri sürülmektedir (308,309,312–315).

Analizlerimize göre, fibrinojen oluşumunda rol oynayan fibrin prekürsörü, *FGA*, *FGB* ve *FGG* (Fibrinogen alpha, beta and gamma chain), genlerinin primer

dokuda ifadelerinin arttığı *FGA*'nın metastatik dokuda da ifadesinin belirlenen katlanma sınır değerinin (0,5) altında kalacak bir düzeyde (0,38) artış gösterdiği saptanmıştır. *FGA*, içerdği RGD sekanslarıyla integrin $\alpha 5\beta 3$ 'e bağlanarak, hücre matriks adezyonuna ve migrasyonuna katılmaktadır. Hepatik metastazlı KRK'lı dokularda artan *FGA*'nın sağkalımla ilişkili olduğu raporlanmıştır. Metastatik olmayan KRK'de yapılan farklı bir araştırmaya göre, *FGA* seviyesinin serumda arttığı belirlenmiş ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. Ek olarak KRK'de yapılan başka bir *in silico* çalışmanın bu sonuçları doğrular nitelikte olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda *FGA*, potansiyel prediktif marker olarak önerilmektedir. Bizim verilerimizin aksine, *FGB* ifadesinin, normal doku ile kıyaslandığında adenomatöz poliplerde ve adenomatöz poliplere kıyasla KRK'lı dokuda ekspresyon seviyesinin azaldığı bildirilmiştir. Literatürde, KRK için *FGB* ile birlikte C4A'nın serumda, potansiyel diyagnostik biyomarker niteliği taşımaktadır. *FGG*'nin KRK üzerine ola etkisi henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Bununla birlikte *FGG*, hepatoselüler karsinom için potansiyel prognostik marker niteliği taşıdığı ileri sürülmektedir (221,316–324).

Ekspresyon seviyesi değişen genlere KEGG ve MSigDB analizleri uygulandı. Bu genlerden katlanma sınır değerine dahil olanların ilişkileri incelenmiştir. KEGG analizimize göre (Bölüm 4.2.2), primer ve metastatik dokudaki genlerin, hücre adezyon molekülü, ECM-reseptör etkileşimi, fokal adezyon ve aktin hücre iskeletinin düzenlenmesi yollarıyla ilişkili olduğu saptanmıştır (Tablo 4.4). Fokal adezyon etkileşimleri, hücre-matriks adezyonların temel dinamiklerinden biridir. Fokal adezyonun matriks ile etkileşimi, integrin aracılığı ile gerçekleşmektedir. ECM komponentleri farklı integrin moleküllerine bağlanarak spesifik hücre sel sinyal yanıt oluşturmaktadır. Hücre iskeleti ise, hücrenin hareketini, şeklini, gerginliğini kısacası mekanik desteğini sağlamaktadır. Hücre iskeleti organizasyonunun bozulması, genlerin ekspresyon seviyesini ve oluşan biyolojik yanıtı yeniden düzenlemektedir (183). MSigDB analizimize göre (Bölüm 4.2.3), primer dokuda ekspresyon seviyesi değişen genlerin, kansere spesifik özelliklerden, apikal bağlantı ve EMT ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu özellikler, EMT süreçleri ile ilişkilendirilmiştir. Metastatik dokuda ifadesi değişen genlere bakıldığında, kansere spesifik özelliklerden, allograft rejeksiyonu ile bağlantılı olduğu saptanmıştır. Bu özelliğin, immün kontrol noktaları ile ilişkili olduğu belirtilmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Metastaz, kanserin en önemli karakteristik özelliklerinden biridir. Metastaz mekanizmalarını anlamak, kanserin erken teşhisi ve uygun tedavi seçimi için oldukça önemlidir. Bu süreçte gerçekleşen, dokunun epitel karakterini kaybederek mezenşimal özellik kazanması oldukça karmaşık fonksiyonları kapsamaktadır. Bu doğrultuda yapılan araştırmalar günden güne artmaktadır. Dolayısıyla verilerin depolanması ve analiz edilmesi de karşılaşılan güçlüklerden biridir. Bunun için biyoloji ve matematik disiplinlerinin bilgisayar ortamında bir araya gelerek geliştirdiği teknikler, araştırmaların seyri ve verimliliği için büyük önem arz etmektedir.

Bu araştırma kapsamında gerçekleştirilen, normal dokuya göre primer dokuda ekspresyon seviyesi değişen genlere bakıldığında, *JAM3*, *VCAM1*, *THY1*, *CCL21*, *TNXB*, *FERMT1*, *FERMT2*, *SIGLEC1*, *ITGA2*, *ITGA4*, *ITGA7*, *ITGA8*, *ITGB7*, *ITGBL2*, *MMRN1*, *BCL2*, *VWA2*, *PTKB2*, *AJUBA*, *FREM1*, *COL3A1*, *LYPD3*, *ADAMTS12*, *EDA*, *CD44*, *FGA*, *FGB* moleküllerinin KRK için potansiyel prognostik ve diyagnostik biyomarker niteliği taşıdığı literatürde bildirilen araştırmalar doğrultusunda ileri sürülmektedir. Bununla birlikte, *FBLN5*, *ITGA2B*, *ITGAD*, *CORO2B*, *BCL2L11*, *COL5A3*, *SGCE*, *TIAM1*, *ANGPTL3*, *SORBS1* ve *FGA* moleküllerinin KRK'deki fonksiyonlarının daha iyi anlaşılması için; *MADCAM1*, *ITGB3*, *EMILIN1*, *MUC4*, *ILK*, *COL17A1*, *TIAM1*, *ECM2* moleküllerinin ise KRK'deki biyomarker potansiyellerinin saptanabilmesi için *in vitro* ve *in vivo* araştırmalara ihtiyaç vardır.

Bunun yanında, *MADCAM1-ITGB7* kompleksinin, liken planus ve kronik plak tip psoriasis hastalarında immün yanıt sürecinin tespit edilebilmesi için marker potansiyeli olduğu önerilmektedir (118). Benzer mekanizmalarla ilerleyen bu yaklaşımın, bu tez kapsamında KRK için potansiyel marker niteliğinin araştırılması önerilmektedir.

Mevcut tez kapsamında gerçekleştirilen *in silico* analizlere göre, kolorektal kanserde bulunan ve metastatik süreci yönlendiren, hücre-matriks adezyon molekülleri, *L1CAM*, *MSLN*, *VTN*, *CD96*, *ITGAL*, *ITGB2*, *FERMT3*, *PARVG* ve

HPSE olarak saptanmıştır. *L1CAM* ve *VTN*, KRK histopatolojisine bağılı olarak farklı ekspresyon seviyelerinde gözlenmektedir. Dolayısıyla *L1CAM* için, serumda ve dokudaki marker seviyelerinin saptanması için farklı yöntemler önerilmektedir. *MSLN*'nin kromozomda duplikasyona uğradığı fikri, bazı engeller yaratsa da geliştirilecek olan yöntemler için önemli bir referans sunmaktadır. *ITGAL*, *ITGB2* integrinlerin birbirine olan afinitesi, araştırma dizaynlarını ve hedeflemeyi kolaylaştıran unsurlardan biri olduğu düşünülebilir. *MSLN*'nin henüz bilinmeyen fonksiyonları olduğu literatürde belirtilmiştir. Benzer şekilde *FERMT3*'ün KRK için aday marker olabileceği önerilmesine karşın, KRK'deki fonksiyonu tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, *PARVG*'nin marker değerinin anlaşılabilmesi için, yapısal organizasyonu ve fonksiyonunun anlaşılması gerekmektedir.

Sonuç olarak, bu genlerin evrimsel mekanizmalarla korunmuş olması, hedefe yönelik araştırmalar için avantaj sağlamaktadır. Bu tez kapsamında gerçekleştirilen DEG analizi ve moleküler fonksiyon gruplarının GO analizi doğrultusunda, ifadelerinin değiştiğini belirlediğimiz ve metastatik dokuda, hücre-matriks adezyon fonksiyon grubuyla ilişkilendirilen *L1CAM*, *MSLN*, *CD96*, *ITGAL*, *ITGB2*, *FERMT3*, *HPSE*, *PARVG* ve *VTN* genlerinin KRK için potansiyel biyomarker niteliği taşıdığı önerilmektedir. Bu moleküllerden *L1CAM*, *MSLN*, *CD96*, *ITGAL*, *ITGB2*, *FERMT3*, *HPSE*'nin potansiyel biyomarker niteliği taşıdıkları literatürde de belirtilmektedir. Ancak çalışmamızda anlamlı bulunan *PARVG* ve *VTN* genlerinin KRK progresyonu ve metastazına olan etkileri henüz aydınlatılmamıştır. Bu nedenle in vitro ve in vivo araştırmaların yapılması, bu genlerin KRK üzerine etkileri ve biyomarker nitelikleri hususunda bilgi sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Przegląd Gastroenterologiczny. Gastroenterology Rev.* 2019; 14 (2): 89–103.
2. Age standardized (World) incidence rates, colorectal cancer, males, all ages. International Agency for Research on Cancer [Internet]. 2022. Erişim tarihi 20 Kasım 2022) Erişim adresi: <https://gco.iarc.fr/today>
3. Mahasneh A, Al-Shaheri F, Jamal E. Molecular biomarkers for an early diagnosis, effective treatment and prognosis of colorectal cancer. *Experimental and Molecular Pathology.* 2017; 102 (3): 475-483.
4. Whitaker K. Earlier diagnosis: the importance of cancer symptoms. *The Lancet Oncology.* 2020; 21 (1): 6-8.
5. Guan X. Cancer metastases: Challenges and opportunities. *Acta Pharmaceutica Sinica B (APSB).* 2015; 5(5): 402–18.
6. Tang XJ, Wang W, Hann SS. Interactions among lncRNAs, miRNAs and mRNA in colorectal cancer. *Biochimie.* 2019; 163: 58–72.
7. Deasy SK, Erez N. A glitch in the matrix: organ-specific matrisomes in metastatic niches. *Trends in Cell Biology.* 2022; 32 (2): 110–23.
8. Sakiroglu M. Genomik Analiz İçin Biyoinformatik Yöntemler. Ankara: Palme Yayınları; 2020.
9. Mattiuzzi C, Lippi G. Current Cancer Epidemiology. *Journal of Epidemiology and Global Health.* 2019; 9(4): 217–22.
10. Management of chemotherapy dose intensity for metastatic colorectal cancer. *Oncol Lett.* 2022; 23 (5): 141.
11. TC Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Türkiye Kanseri İstatistikleri [Internet]. 2022 (Erişim tarihi 29 Aralık 2022). Erişim adresi: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2016.pdf
12. Li M, Zhang N, Li M. Capecitabine treatment of HCT-15 colon cancer cells induces apoptosis via mitochondrial pathway. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 2017; 16(7): 1529–36.
13. Lotfollahzadeh S, Kashyap S, Tsores A, Recio-Boiles A, Babiker HM. Rectal Cancer. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.
14. Lauby-Secretan B, Vilahur N, Bianchini F, Guha N, Straif K. The IARC Perspective on Colorectal Cancer Screening. *New England Journal of Medicine (NEJM).* 2018; 378 (18): 1734-1740.
15. Gaiani F, Marchesi F, Negri F, Greco L, Malesci A, Luigi De’angelis G, ve ark. Molecular Sciences Heterogeneity of Colorectal Cancer Progression:

Molecular Gas and Brakes. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22 (10): 5246.

16. Finlay A Macrae M. UpToDate [İnternet]. 2022 (Erişim tarihi 10 Aralık 2022) Erişim adresi: <https://www.uptodate.com/contents/colorectal-cancer-epidemiology-risk-factors-and-protective-factors>
17. Hossain MS, Karuniawati H, Jairoun AA, Urbi Z, ve ark. A Review of Carcinogenesis, Global Epidemiology, Current Challenges, Risk Factors, Preventive and Treatment Strategies. *Cancers (Basel)*. 2022; 14 (7):1732.
18. Alzahrani SM, al Doghaither HA, Al-Ghafar AB. General insight into cancer: An overview of colorectal cancer. *Molecular and Clinic Oncology*. 2021; 15 (6): 1–8.
19. Mármol I, Sánchez-De-Diego C, Dieste AP, Cerrada E, Jesús M, Yoldi R. Molecular Sciences Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Science*. 2017; 18 (1): 197.
20. Knowlton CA, Mackay MK, Speer TW, Vera RB, Arthur DW, Wazer DE, ve ark. Colon Cancer. *Encyclopedia of Radiation Oncology*. 2013; 77–106.
21. Nojadeh JN, Sharif SB, Sakhinia E. Microsatellite instability in colorectal cancer. *EXCLI Journal Experimental and Clinical Sciences (EXCLIJ)*. 2018; 17: 159–68.
22. Worthley DL, Legget AB. Molecular Features and Clinical Opportunities. *The Clinical Biochemist Reviews*. 2010; 31(2): 31-38.
23. Al-Sohaily S, Biankin A, Leong R, Kohonen-Corish M, Warusavitarne J. Molecular pathways in colorectal cancer. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (JGHF)*. 2012; 27 (9): 1423-31.
24. Colussi D, Brandi G, Bazzoli F, Ricciardiello L. Molecular Pathways Involved in Colorectal Cancer: Implications for Disease Behavior and Prevention. *Int J Mol Sci*. 2013; 14 (8): 16365-85.
25. Chen K, Collins G, Wang H, Toh JWT. Pathological Features and Prognostication in Colorectal Cancer. *Current Oncology (CO)*. 2021; 28 (6) 5356-5383.
26. Fadaka AO, Pretorius A, Klein A. Biomarkers for Stratification in Colorectal Cancer: MicroRNAs. *Cancer Control*. 2019; 26(1).
27. Obrocea FL, Sajin M, Marinescu EC, Stoica D. Colorectal cancer and the 7 th revision of the TNM staging system: review of changes and suggestions for uniform pathologic reporting. *Romanian Journal of Morphology Embryology*. 2011; 52 (2): 537–44.
28. Hanahan D, Weinberg RA. Leading Edge Review Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. 2011;144 (5):646–74.

29. Hong Y, Rao Y. Current status of nanoscale drug delivery systems for colorectal cancer liver metastasis. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2019; 114: 108764.
30. Alan I Valderrama-Treviño ve ark. *Euroasian Journal of Hepato-Gastroenteroloji*. 2017; 7 (2): 166-175.
31. Vatandoust S, Price TJ, Karapetis CS. Colorectal cancer: Metastases to a single organ. *World Journal of Gastroenteroloji*. 2015 ;21(41):11767–11776.
32. Mitry E, Guiu B, Coscinea S, Jooste V, Faivre J, Bouvier AM. Epidemiology, management and prognosis of colorectal cancer with lung metastases: a 30-year population-based study. *Gut*. 2010; 59 (10):1383–8.
33. Herszenyi L, Tulassay Z. Epidemiology of gastrointestinal and liver tumors. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2010; 14 (4): 249-58.
34. Ribeiro Gomes J, Belotto M, D’Alpino Peixoto R. The role of surgery for unusual sites of metastases from colorectal cancer: A review of the literature. *European Journal of Surgical Oncology*. 2017; 43 (1): 15–9.
35. Baek SJ, Hur H, Min BS, Baik SH, Lee KY, Kim NK. The Characteristics of Bone Metastasis in Patients with Colorectal Cancer: A Long-Term Report from a Single Institution. *World J Surg*. 2016; 40 (4): 982–6.
36. Yue B. Biology of the Extracellular Matrix: An Overview. *Journal of Glaucoma*. 2014; 23 (8): 20–3.
37. Karamanos NK, Theocharis AD, Piperigkou Z, Manou D, Passi A, Skandalis SS, ve ark. A guide to the composition and functions of the extracellular matrix. *The FEBS Journal*. 2021; 288 (24): 6850–912.
38. Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, Karamanos NK. Extracellular matrix structure. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016; 97 (1): 4–27.
39. Kular JK, Basu S, Sharma RI. The extracellular matrix: Structure, composition, age-related differences, tools for analysis and applications for tissue engineering. *Journal of Tissue Engineering*. 2014; 5: 2041731414557112.
40. Sephel GC, Davidson JM. Elastin production in human skin fibroblast cultures and its decline with age. *Journal of Investigative Dermatology*. 1986; 86(3): 279–85.
41. Üçgül İ, Aras S, Elibüyük U. Ekstraselüler Matris Yapısı ve Görevleri. *DergiPark Akademik* 2018; 23 (1).
42. Kusindarta DL, Wihadmadyatami H. The Role of Extracellular Matrix in Tissue Regeneration. *Tissue Regeneration*. 2018.
43. Laronha H, Caldeira J. cells Structure and Function of Human Matrix Metalloproteinases. *Cells*. 2020; 9 (5): 1076.

44. Çam M, Bağış H. Matriks Metalloproteinaz İnhibitörleri ve Adezyondaki Önemi. Ankara Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Dergisi. 2018; 45(3):191–9.
45. Cruz-Acuña R, Vunjak-Novakovic G, Burdick JA, Rustgi AK. Emerging technologies provide insights on cancer extracellular matrix biology and therapeutics. iScience. 2021; 24 (5): 102475.
46. Murai T, Calderwood D, Sanchez-Madrid F, Fagerholm SC, Harjunpää H, Asens ML, ve ark. Cell Adhesion Molecules and Their Roles and Regulation in the Immune and Tumor Microenvironment. Frontiers in Immunology. 2019; 1: 1078.
47. Koh Y, Park J. Cell adhesion molecules and exercise. Journal of Inflammation Research. 2018; 11–297.
48. McEver RP, Zhu C. Rolling Cell Adhesion. Annual Review of Cell and Developmental Biology. 2010; 26: 363–396.
49. Hynes RO. Integrins: Bidirectional, Allosteric Signaling Machines. Cell. 2002; 110 (6): 673–87.
50. Marsico G, Russo L, Quondamatteo F, Pandit A. Glycosylation and Integrin Regulation in Cancer. Trends in Cancer. 2018; 4 (8): 537–52.
51. Paschos KA, Canovas D, Bird NC. The role of cell adhesion molecules in the progression of colorectal cancer and the development of liver metastasis. Cellular Signalling. 2009; 21 (5): 665–74.
52. Mannori G, Crottet P, Cecconi O, Hanasaki K, Aruffo A, Nelson RM, ve ark. Differential Colon Cancer Cell Adhesion to E-, P-, and L-selectin: Role of Mucin-type Glycoproteins. Cancer Research. 1995; 55: 4425–31.
53. Gulubova M, Vlaykova T. Immunohistochemical assessment of fibronectin and tenascin and their integrin receptors $\alpha 5\beta 1$ and $\alpha 9\beta 1$ in gastric and colorectal cancers with lymph node and liver metastases. Acta Histochemica. 2006; 108 (1): 25–35.
54. Stein U, Stanojević G, Walther W, Augusto B, Martins A, Fonseca De Bulhões G, ve ark. Biomarkers in Colorectal Cancer: The Role of Translational Proteomics Research. Frontiers in Oncology. 2019; 9: 1284.
55. Vega P, Valentín F, Cubiella J. Colorectal cancer diagnosis: Pitfalls and opportunities. World Journal of Gastrointestinal Oncology. 2015; 7 (12): 422-433.
56. Vieira de Assis J, Antunes Coutinho L, Temitayo Oyeyemi I, Timothy Oyeyemi O, Fortini Queiroz Grenfell R. Diagnostic and therapeutic biomarkers in colorectal cancer: a review. American Journal of Cancer Research. 2022; 12 (2): 661–80.

57. Khalili AA, Ahmad MR. A Review of Cell Adhesion Studies for Biomedical and Biological Applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015; 16: 18150.
58. Liu X, Li N, Zhang C, Wu X, Zhang S, Dong G, ve ark. Identification of metastasis-associated exoDEPs in colorectal cancer using label-free proteomics. *Translational Oncology*. 2022; 19: 101389.
59. Bruun J, Eide PW, Bergsland CH, Bruck O, Svindland A, Arjama M, ve ark. E-cadherin is a robust prognostic biomarker in colorectal cancer and low expression is associated with sensitivity to inhibitors of topoisomerase, aurora, and HSP90 in preclinical models. *Molecular Oncology*. 2021; 16 (12): 2312-2329.
60. Yang W, Dong HP, Wang P, Xu ZG, Xian J, Chen J, ve ark. IL-36 γ and IL-36Ra Reciprocally Regulate Colon Inflammation and Tumorigenesis by Modulating the Cell–Matrix Adhesion Network and Wnt Signaling. *Advanced Science*. 2022; 9 (10).
61. Kö Hler S, Ullrich S, Richter U, Schumacher U. E-/P-selectins and colon carcinoma metastasis: first in vivo evidence for their crucial role in a clinically relevant model of spontaneous metastasis formation in the lung. *British Journal of Cancer* . 2010; 102: 602–9.
62. Bates RC, Bellovin DI, Brown C, Maynard E, Wu B, Kawakatsu H, ve ark. Transcriptional activation of integrin $\beta 6$ during the epithelial-mesenchymal transition defines a novel prognostic indicator of aggressive colon carcinoma. *Journal of Clinical Investigation*. 2005; 115 (2): 339–47.
63. Chen H, Cheng Y, Wang X, Wang J, Shi X, Li X, ve ark. 3D printed in vitro tumor tissue model of colorectal cancer. *Theranostics*. 2020; 10 (26): 12127–43.
64. Tourneau CL, Faivre S, Raymond E. The Role of Integrins in Colorectal Cancer. *Oncology*. 2007; 21 (9).
65. Li M, Wang Y, Li M, Wu X, Setrerrahmane S, Xu H. Integrins as attractive targets for cancer therapeutics. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2021; 11 (9): 2726–37.
66. Dayan A, Fleminger G, Osnat Ashur-Fabian Targeting the Achilles' heel of cancer cells via integrin-mediated delivery of ROS-generating dihydrolipoamide dehydrogenase. *Oncogene*. 2019; 38 (25): 5050-5061.
67. Porporato PE, Mandai K, Yu X, Zhang Y, Yu W, Yang L, ve ark. Cadherin Signaling in Cancer: Its Functions and Role as a Therapeutic Target. *Frontiers in Oncology*. 2019; 9: 989.
68. Song Y, Ye M, Zhou J, Wang Z wei, Zhu X. Restoring E-cadherin Expression by Natural Compounds for Anticancer Therapies in Genital and Urinary Cancers. *Molecular Therapy Oncolytics*. 2019; 14: 130–8.

69. Christou N, Peruluda A, Blondy S, Jaubertau MO, Battu S, Mathonnet M. E-cadherin: A potential biomarker of colorectal cancer prognosis. *Oncology Letters*. 2017; 13 (6): 4571-4576.
70. Yan X, Yan L, Liu S, Shan Z, Tian Y, Jin Z. N-cadherin, a novel prognostic biomarker, drives malignant progression of colorectal cancer. *Molecular Medicine Reports*. 2015; 12 (2): 2999–3006.
71. Harris AL, Generali DG. 2008; Inhibitors of tumor angiogenesis. *Cancer Drug Design and Discovery*. 2008; 351–381.
72. Borsig L. Selectins in cancer immunity. *Glycobiology*. 2018; 28 (9): 648-655.
73. Shamay Y, Elkabets M, Li H, Shah J, Brook S, Wang F, et al. P-selectin is a nanotherapeutic delivery target in the tumor microenvironment. *Science Translational Medicine*. 2016; 8 (345): 345ra87.
74. King MR, Marques L, Fonseca D, O'dwyer ME, Natoni A, Macauley MS. Targeting Selectins and Their Ligands in Cancer. *Frontiers in Oncology*. 2016; 6: 93.
75. Barbier V, Erhani J, Fiveash C, Davies JM, Tay J, Tallack MR, et al. Endothelial E-selectin inhibition improves acute myeloid leukaemia therapy by disrupting vascular niche-mediated chemoresistance. 2020; 11 (1): 2042.
76. Korniluk A, Kamińska J, Kiszło P, Kemonia H, Dymicka-Piekarska V. Lectin adhesion proteins (P-, L- and E-selectins) as biomarkers in colorectal cancer. *Biomarkers*. 2017; 22 (7): 629-634.
77. Mann AP, Tanaka T. E-selectin: Its Role in Cancer and Potential as a Biomarker Biological Role of E-selectin. *Translational Medicine*. 2012; 1:1-4.
78. Burdick MM, Chu JT, Godar S, Sackstein R. HCELL is the major E- and L-selectin ligand expressed on LS174T colon carcinoma cells. *Journal of Biological Chemistry*. 2006; 281 (20):13899–905.
79. Li Y, Guo M, Fu Z, Wang P, Zhang Y, Gao Y, et al. Immunoglobulin superfamily genes are novel prognostic biomarkers for breast cancer. *Oncotarget*. 2017; 8 (2): 2444–56.
80. Johdi NA, Sukor NF. Colorectal Cancer Immunotherapy: Options and Strategies. *Frontiers in Immunology*. 2020; 11:1624.
81. Schreiber J, Langhorst H, Jüttner R, Rathjen FG. The IgCAMs CAR, BT-IgSF, and CLMP: structure, function, and diseases. *The Advances in Neurobiology*. 2014; 8: 21-45.
82. Walkiewicz K, Kozieł P, Bednarczyk M, Bbahelonis A, Mazurek U, Muc-Wierżgon M. Expression of Migration-Related Genes in Human Colorectal Cancer and Activity of a Disintegrin and Metalloproteinase 17. *Biomedical Research International*. 2016; 2016: 8208904.

83. Siyasi M, Mahjoubi F, Mahjoubi B, Shabani S. Study of VCAM-1 Gene Expression in Normal and Tumoral Tissues in Patients with Colorectal Cancer. *Journal of Biotechnology and Biomedical Science*. 2017; 1 (1): 19–26.
84. Han S, Zong S, Shi Q, Li H, Liu S, Yang W, ve ark. Is Ep-CAM Expression a Diagnostic and Prognostic Biomarker for Colorectal Cancer? A Systematic Meta-Analysis. *EBioMedicine*. 2017; 20: 61–9.
85. Tampakis A, Tampaki C, Nonni A, Tsourouflis G, Posabella A, Patsouris E, ve ark. L1CAM expression in colorectal cancer identifies a high-risk group of patients with dismal prognosis already in early-stage disease. *Acta Oncologica*. 2020; 59 (1): 55-59.
86. Overman MJ, McDermott R, Leach JL, Lonardi S, Lenz HJ, Morse MA, ve ark. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *The Lancet Oncology*. 2017; 18 (9): 1182-1191.
87. Le DT, Kim TW, van Cutsem E, Geva R, Jäger D, Hara H, ve ark. Phase II Open-Label Study of Pembrolizumab in Treatment-Refractory, Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer: KEYNOTE-164. *Journal of Clinical Oncology*. 2020; 38 (1): 11–9.
88. Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM, Lenz HJ, Gelsomino F, Aglietta M, ve ark. Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-High Metastatic Colorectal Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2018; 36 (8): 773–9.
89. Cao H, Fang Y, Liang Q, Wang J, Luo B, Zeng G, ve ark. TRIM2 is a novel promoter of human colorectal cancer TRIM2 is a novel promoter of human colorectal cancer. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2019; 54 (2): 210-218.
90. Yamada K, Hazama S, Suzuki N, Xu M, Nakagami Y, Fujiwaran N ve ark. Siglec-7 is a predictive biomarker for the efficacy of cancer vaccination against metastatic colorectal cancer. *Oncology Letters*. 2021; 21 (1): 10.
91. Demir M, Cizmecioglu O. ZAP70 Activation Compensates for Loss of Class IA PI3K Isoforms Through Activation of the JAK–STAT3 Pathway. *Cancer Diagnosis and Prognosis*. 2022; 2 (3): 391-404.
92. Mizan S, Al-Shibli SM, Harun N, Ashour AE, Hanif M, Kasmuri BM. Expression of leptin and leptin receptors in colorectal cancer-an immunohistochemical study. *PeerJ*. 2019; 7: e7624.
93. Gavert N, Sheffer M, Raveh S, Spaderna S, Shtutman M, Brabletz T, ve ark. Expression of L1-CAM and ADAM10 in Human Colon Cancer Cells Induces Metastasis. *Cancer Research*. 2007; 67 (16): 7703-7712.

94. Wang GH, Yao L, Xu HW, Tang WT, Fu JH, Hu XF, ve ark. Identification of MXRA5 as a novel biomarker in colorectal cancer. *Oncology Letters*. 2013; 5 (2): 544–8.
95. Identification of New Diagnostic Protein Markers for Colorectal Cancer. Klinik araştırma [İnternet]. 2022 (Erişim tarihi 19 Eylül 2022). Erişim adresi: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04394572>.
96. Study of α PD1-MSLN-CAR T Cells to Evaluate the Safety, Tolerability, and Effectiveness for Patients With MSLN-positive Advanced Solid Tumors. Cancer. Klinik araştırma [İnternet]. 2022 (Erişim tarihi 19 Eylül 2022). Erişim adresi: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05089266?cond=NCT05089266&draw=2&rank=1>
97. Study of CM-24 (MK-6018) Alone and In Combination With Pembrolizumab (MK-3475) in Participants With Selected Advanced or Recurrent Malignancies (MK-6018-001). Klinik araştırma [İnternet]. 2022 (Erişim tarihi 19 Eylül 2022). Erişim adresi: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02346955?cond=NCT02346955&draw=2&rank=1>
98. A Phase Ib Study to Evaluate the Safety, Efficacy, and Pharmacokinetics of Cibisatamab in Combination With Atezolizumab After Pretreatment With Obinutuzumab in Participants With Previously Treated Metastatic Colorectal Adenocarcinoma. Klinik araştırma [İnternet]. 2022 (Erişim tarihi 19 Eylül 2022). Erişim adresi: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03866239?cond=NCT03866239&draw=2&rank=1>
99. Characterization of Circulating Tumor Cells Captured by c-MET (CTC-MET). Klinik araştırma [İnternet]. 2022 (Erişim tarihi 19 Eylül 2022). Erişim adresi: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02080650?cond=NCT02080650&draw=2&rank=1>
100. Validation of Colon Biomarkers for the Early Detection of Colorectal Adenocarcinoma. Klinik araştırma [İnternet]. 2022 (Erişim tarihi 19 Eylül 2022). Erişim adresi: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01511653?cond=NCT01511653&draw=2&rank=1>.
101. To Assess the Safety of Continuous IV Administration of Plerixafor in Patients With Advanced Pancreatic, Ovarian and Colorectal Cancers. Klinik araştırma [İnternet]. 2022 (Erişim tarihi 19 Eylül 2022). Erişim adresi: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02179970?cond=NCT02179970&draw=2&rank=1>
102. Tegavivint for the Treatment of Recurrent or Refractory Solid Tumors, Including Lymphomas and Desmoid Tumors. Klinik araştırma [İnternet]. 2022

(Erişim tarihi 19 Eylöl 2022). Erişim adresi: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04851119?cond=NCT04851119&draw=2&rank=1>.

103. Biological Sciences Curriculum Study (BSC), NIH Curriculum Supplement Series. Understanding Cancer. National Institutes of Health (US), Bethesda (MD). 2007.
104. Fisher R, Pusztai L, Swanton C. Cancer heterogeneity: implications for targeted therapeutics. *British Journal of Cancer*. 2013; 108 (3): 479–85.
105. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery*. 2022; 12 (1): 31–46.
106. Harris TJC, Tepass U. Adherens junctions: from molecules to morphogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2010; 11 (7): 502–14.
107. Miyoshi J, Takai Y. Structural and functional associations of apical junctions with cytoskeleton. *Biochimica et Biophysica Acta- Biomembranes*. 2008; 1778 (3): 670–91.
108. Hartsock A, Nelson WJ. Adherens and Tight Junctions: Structure, Function and Connections to the Actin Cytoskeleton. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Biomembranes*. 2008; 1778 (3): 660-669.
109. Akkuş D, Sönmez FM. Hücre adezyon molekülü: Nektin. *Journal of Health Sciences*. 2012; 21 (3): 206.
110. González-Mariscal L, Miranda J, Gallego-Gutiérrez H, Cano-Cortina M, Amaya E. Relationship between apical junction proteins, gene expression and cancer. *Biochimica et Biophysica Acta- Biomembranes*. 2020; 1862 (9): 183278.
111. Oshi M, Le L, Angarita FA, Tokumaru Y, Yan L, Matsuyama R, ve ark. Association of allograft rejection response score with biological cancer aggressiveness and with better survival in triple-negative breast cancer (TNBC). *Journal of Clinic Oncology*. 2021; 39 (15): 561-561.
112. Aguirre LE, Guzman ME, Lopes G, Hurley J. Immune Checkpoint Inhibitors and the Risk of Allograft Rejection: A Comprehensive Analysis on an Emerging Issue. *The Oncologist*. 2019; 24 (3): 394-401.
113. Safaeian M, Robbins HA, Berndt SI, Lynch CF, Fraumeni JF, Engels EA. Risk of Colorectal Cancer After Solid Organ Transplantation in the United States. *American Journal of Transplatation*. 2016; 16 (3): 960-7.
114. Kato Y, Yamataka A, Yagita H, Okumura K, Fujiwara T, Miyano T. Specific Acceptance of Fetal Bowel Allograft in Mice After Combined Treatment with Anti-Intercellular Adhesion Molecule-i and Leukocyte Function-Associated Antigen-i Antibodies. *Annals of Surgery*. 1996; 223 (1): 94-100.

115. Yamagami S, Tsuru T, Isobe M, Obata H, Suzuki J, Yamagami S, ve ark. The role of cell adhesion molecules in allograft rejection after penetrating keratoplasty in mice. Clinical and immunohistochemical study. Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology. 1996; 234 (6): 382-7.
116. Bedke J, Kiss E, Bennes CL, Popovic Z v., Heuser M, Stojanovic T, ve ark. Anti-Inflammatory Effects of α v Integrin Antagonism in Acute Kidney Allograft Rejection. The American Journal of Pathology. 2007; 171 (4): 1127.
117. Ogunwobi OO, Mahmood F, Akingboye A. Biomarkers in Colorectal Cancer: Current Research and Future Prospects. International Journal of Molecular Sciences. 2020; 21 (15): 1–20.
118. DeBerg HA, Konecny AJ, Shows DM, Lord JD. MAdCAM-1 Costimulates T Cells through Integrin α 4 β 7 to Cause Gene Expression Events Resembling Costimulation through CD28 . Immunohorizons. 2022; 6 (3): 211–23.
119. Berlin C, Berg EL, Briskin MJ, Andrew DP, Kilshaw PJ, Holzmann B, ve ark. α 4 β 7 integrin mediates lymphocyte binding to the mucosal vascular addressin MAdCAM-1. Cell. 1993; 74 (1): 185–95.
120. Zhang Y, Xie R, Zhang H, Zheng Y, Lin C, Yang L, ve ark. Integrin β 7 Inhibits Colorectal Cancer Pathogenesis via Maintaining Antitumor Immunity. Cancer Immunology Research. 2021; 9 (8): 967–80.
121. Baran A, Nowowiejska J, Kamiński TW, Krahel JA, Flisiak I. Circulating MAdCAM-1 and ITGB7 in Patients with Plaque Psoriasis and Eruptive Lichen Planus—Preliminary Data. Biology. 2021; 10 (11): 1129.
122. Zhou D, Tang W, Zhang Y, An HX. JAM3 functions as a novel tumor suppressor and is inactivated by DNA methylation in colorectal cancer. Cancer Management and Research. 2019; 11: 2457–70.
123. Nassar FJ, Msheik ZS, Nasr RR, Temraz SN. Methylated circulating tumor DNA as a biomarker for colorectal cancer diagnosis, prognosis, and prediction. Clinical Epigenetics. 2021; 13 (1): 111.
124. Kummer D, Ebnet K. Junctional Adhesion Molecules (JAMs): The JAM-Integrin Connection. Cells. 2018; 7 (4): 25.
125. Anghel SA, Ioniță-Mîndrican CB, Luca I, Pop AL. Promising epigenetic biomarkers for the early detection of colorectal cancer: A systematic review. Cancers. 2021; 13 (19): 4965.
126. Zhang D, Bi J, Liang Q, Wang S, Zhang L, Han F, ve ark. VCAM1 Promotes Tumor Cell Invasion and Metastasis by Inducing EMT and Transendothelial Migration in Colorectal Cancer. Frontiers in Oncology. 2020; 10.
127. Wu Y, Liu Y. The expression and clinical significance of ICAM-1 and VCAM-1 in colorectal carcinoma. Acta Universitatis Medicinalis Anhui. 2015; 6: 1124–7.

128. Okugawa Y, Miki C, Toiyama Y, Koike Y, Yokoe T, Saigusa S, ve ark. Soluble VCAM-1 and its relation to disease progression in colorectal carcinoma. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2010; 1 (3): 463–9.
129. Yamada Y, Arao T, Matsumoto K, Gupta V, Tan W, Fedynyshyn J, ve ark. Plasma concentrations of VCAM-1 and PAI-1: A predictive biomarker for post-operative recurrence in colorectal cancer. *Cancer Science*. 2010; 101 (8): 1886–90.
130. Meyer D, Seth S, Albrecht J, Maier MK, du Pasquier L, Ravens I, ve ark. CD96 interaction with CD155 via its first Ig-like domain is modulated by alternative splicing or mutations in distal Ig-like domains. *J Biol Chem*. 2009; 284 (4): 2235–44.
131. Ye W, Luo C, Liu F, Liu Z, Chen F, Tsang K, ve ark. CD96 Correlates With Immune Infiltration and Impacts Patient Prognosis: A Pan-Cancer Analysis potential biomarker for determining patient prognosis and immune infiltration in multiple cancers, especially in glioma and melanoma. *Frontiers in Oncology*. 2021; 11: 634617.
132. Feng M, Wu Z, Zhou Y, Wei Z, Tian E, Mei S, ve ark. BCL9 regulates CD226 and CD96 checkpoints in CD8⁺ T cells to improve PD-1 response in cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2021; 6 (1): 1–14.
133. Wang Y, Wang C, Qiu J, Qu X, Peng J, Lu C, ve ark. Targeting CD96 overcomes PD-1 blockade resistance by enhancing CD8⁺ TIL function in cervical cancer. *Journal for Immunotherapy of Cancer*. 2022; 10 (3): e003667.
134. Xin BC, Tao SC, Li C, Xin F, Lei LA, Corresponding Z, ve ark. CBX8 and CD96 Are Important Prognostic Biomarkers of Colorectal Cancer. *Medical Science Monitor*. 2018; 24: 7820-7827.
135. Zhang DH, Yang ZL, Zhou EX, Miao XY, Zou Q, Li JH, ve ark. Overexpression of Thy1 and ITGA6 is associated with invasion, metastasis and poor prognosis in human gallbladder carcinoma. *Oncology Letters*. 2016; 12 (6): 5136–44.
136. Huynh PT, Beswick EJ, Coronado YA, Johnson P, O’Connell MR, Watts T, ve ark. CD90⁺ stromal cells are the major source of IL-6 which supports cancer stem-like cells and inflammation in colorectal cancer. *International Journal of Cancer (IJC)*. 2016; 138 (8): 1971.
137. Zhang X, Hu F, Li G, Li G, Yang X, Liu L, ve ark. Human colorectal cancer-derived mesenchymal stem cells promote colorectal cancer progression through IL-6/JAK2/STAT3 signaling. *Cell Death & Disease*. 2018; 9 (2): 1–13.
138. He J, Liu Y, Zhu T, Zhu J, DiMeco F, Vescovi AL, ve ark. CD90 is identified as a candidate marker for cancer stem cells in primary high-grade gliomas using tissue microarrays. *Molecular and Cellular Proteomics*. 2012; 11 (6): M111.010744.

139. Pirozzi G, Tirino V, Camerlingo R, la Rocca A, Martucci N, Scognamiglio G, ve ark. Prognostic value of cancer stem cells, epithelial-mesenchymal transition and circulating tumor cells in lung cancer. *Oncology Reports*. 2013; 29 (5): 1763–8.
140. True LD, Zhang H, Ye M, Huang CY, Nelson PS, von Haller PD, ve ark. CD90/THY1 is overexpressed in prostate cancer-associated fibroblasts and could serve as a cancer biomarker. *Modern Pathology*. 2010; 23 (10): 1346–56.
141. Bahnassy AA, Fawzy M, El-Wakil M, Zekri ARN, Abdel-Sayed A, Sheta M. Aberrant expression of cancer stem cell markers (CD44, CD90, and CD133) contributes to disease progression and reduced survival in hepatoblastoma patients: 4-year survival data. *Translational Research*. 2015; 165 (3): 396–406.
142. Karpus ON, Westendorp BF, Vermeulen JLM, Meisner S, Koster J, Muncan V, ve ark. Colonic CD90+ Crypt Fibroblasts Secrete Semaphorins to Support Epithelial Growth. *Cell Reports*. 2019; 26 (13): 3698-3708.e5.
143. Felley-Bosco E, G Quest AF, William Blaschuk O, Avril T, Sauzay C, Voutetakis K, ve ark. CD90/Thy-1, a Cancer-Associated Cell Surface Signaling Molecule. *Frontiers in Cell Developmental Biology*. 2019; 7: 66.
144. Reinmuth N, Liu W, Ahmad SA, Fan F, Stoeltzing O, Parikh AA ve ark. $\alpha\beta 3$ Integrin Antagonist S247 Decreases Colon Cancer Metastasis and Angiogenesis and Improves Survival in Mice¹. *Cancer Research-American Association for Cancer Research*. 2003; 63 (9): 2079-2087.
145. Lei Y, Huang K, Gao C, Lau QC, Pan H, Xie K, ve ark. Proteomics Identification of ITGB3 as a Key Regulator in Reactive Oxygen Species-induced Migration and Invasion of Colorectal Cancer Cells. *Molecular and Cellular Proteomics*. 2011; 10 (10): M110.005397.
146. Samatov TR, Wicklein D, Tonevitsky AG. L1CAM: Cell adhesion and more. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry*. 2016; 51 (2): 25–32.
147. Brabletz T, Jung A, Spaderna S, Hlubek F, Kirchner T. Migrating cancer stem cells — an integrated concept of malignant tumour progression. *Nature Reviews Cancer*. 2005; 5 (9): 744–9.
148. Kato K, Maesawa C, Itabashi T, Fujisawa K, Otsuka K, Kanno S, ve ark. DNA hypomethylation at the CpG island is involved in aberrant expression of the L1 cell adhesion molecule gene in colorectal cancer. *International Journal of Oncology*. 2009; 35 (3): 467–76.
149. Gavert N, Vivanti A, Hazin J, Brabletz T, Ben-Ze'ev A. L1-Mediated colon cancer cell metastasis does not require changes in EMT and cancer stem cell markers. *Molecular Cancer Research*. 2011; 9 (1): 14–24.
150. Chu LY, Guo DM, Chen JT, Fang WK, Xie JJ, Peng YH, ve ark. The Diagnostic Value of Serum L1CAM in Patients With Colorectal Cancer.

Special Collection on Advances in Serum Tumor Markers-Original Article.
2020; 19: 153303382092097.

151. Fu Tieng FY, Abu N, Sukor S, Mohd Azman ZA, Nadzir NM, Lee LH, ve ark. L1CAM, CA9, KLK6, HPN, and ALDH1A1 as Potential Serum Markers in Primary and Metastatic Colorectal Cancer Screening. *Diagnostics*. 2020; 10 (7): 444.
152. Li J, Sun R, Tao K, Wang G. The CCL21/CCR7 pathway plays a key role in human colon cancer metastasis through regulation of matrix metalloproteinase-9. *Digestive and Liver Disease*. 2011; 43 (1): 40–7.
153. Zou Y, Chen Y, Wu X, Yuan R, Cai Z, He X, ve ark. CCL21 as an independent favorable prognostic factor for stage III/IV colorectal cancer. *Oncology Reports*. 2013; 30 (2): 659–66.
154. Correale P, Rotundo MS, Botta C, Vecchio MT del, Ginanneschi C, Licchetta A, ve ark. Tumor infiltration by T lymphocytes expressing chemokine receptor 7 (CCR7) is predictive of favorable outcome in patients with advanced colorectal carcinoma. *Clinical Cancer Research*. 2012; 18 (3): 850–7.
155. Lin Y, Sharma S, St John M. CCL21 Cancer Immunotherapy. *Cancers*. 2014; 6 (2): 1098–1110.
156. Singh R, James W. Lilladr J, Singh S. Chemokines: key players in cancer progression and metastasis. *Frontiers in Bioscience*. 2011; 3 (1): 1569.
157. Pączek S, Łukaszewicz-Zajac M, Mroczo B. Chemokines—What Is Their Role in Colorectal Cancer? *Cancer Control*. 2020; 27 (1): 1073274820903384.
158. Parr C, Jiang WG. Quantitative analysis of lymphangiogenic markers in human colorectal cancer. *International Journal of Oncology*. 2003; 23 (2): 533–9.
159. Gao F, Lu YM, Cao ML, Liu YW, He YQ, Wang Y. Expression and quantification of LYVE-1 in human colorectal cancer. *Clinical and Experimental Medicine*. 2006; 6 (2): 65-71.
160. Liot S, Aubert A, Hervieu V, Kholti N el, Schalkwijk J, Verrier B, ve ark. Loss of Tenascin-X expression during tumor progression: A new pan-cancer marker. *Matrix Biology Plus*. 2020; 6–7:100021.
161. Hui L, Zhang J, Ding X, Guo X, Jang X. Identification of potentially critical differentially methylated genes in nasopharyngeal carcinoma: A comprehensive analysis of methylation profiling and gene expression profiling. *Oncology Letters*. 2017; 14 (6): 7171–8.
162. Yuan Y, Nymoer DA, Stavnes HT, Rossnes AK, Bjørang O, Wu C, ve ark. Tenascin-X is a novel diagnostic marker of malignant mesothelioma. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2009; 33 (11): 1673-82.

163. Baharudin R, Ishak M, Yusof AM, Saidin S, Syafruddin SE, Nazarie WFWM, ve ark. Epigenome-Wide DNA Methylation Profiling in Colorectal Cancer and Normal Adjacent Colon Using Infinium Human Methylation 450K. *Diagnostics*. 2022; 12 (1): 198.
164. Lascorz J, Bevier M, v. Schönfels W, Kalthoff H, Aselmann H, Beckmann J, ve ark. Association study identifying polymorphisms in CD47 and other extracellular matrix pathway genes as putative prognostic markers for colorectal cancer. *International Journal of Colorectal Disease*. 2013; 28 (2): 173–81.
165. Weinstein EJ, Bournier M, Head R, Zakeri H, Bauer C, Mazzarella R. URP1: a member of a novel family of PH and FERM domain-containing membrane-associated proteins is significantly over-expressed in lung and colon carcinomas. *Biochimica et Biophysica Acta- Molecular Basis of Disease*. 2003; 1637 (3): 207–16.
166. Kong J, Du J, Wang Y, Yang M, Gao J, Wei X, ve ark. Focal adhesion molecule Kindlin-1 mediates activation of TGF- β signaling by interacting with TGF- β RI, SARA and Smad3 in colorectal cancer cells. *Oncotarget*. 2016; 7 (46): 76224-76237.
167. Liu CC, Cai DL, Sun F, Wu ZH, Yue B, Zhao SL, ve ark. FERMT1 mediates epithelial–mesenchymal transition to promote colon cancer metastasis via modulation of β -catenin transcriptional activity. *Oncogene*. 2017; 36 (13): 1779-1792.
168. Fan J, Yan D, Teng M, Tang H, Zhou C, Wang X, ve ark. Digital transcript profile analysis with aRNA-LongSAGE validates FERMT1 as a potential novel prognostic marker for colon cancer. *Clinical Cancer Research*. 2011; 17 (9): 2908–18.
169. Kiriya K, Hirohashi Y, Torigoe T, Kubo T, Tamura Y, Kanaseki T. Expression and Function of FERMT Genes in Colon Carcinoma Cells. *Anticancer Research*. 2013; 33 (1): 167-73
170. Ren Y, Jin H, Xue Z, Xu Q, Wang S, Zhao G, ve ark. Kindlin-2 inhibited the growth and migration of colorectal cancer cells. *Tumor Biology*. 2015; 36 (6): 4107–14.
171. Liu G, Bao Y, Liu C, Zhu Q, Zhao L, Lu X, ve ark. IKK ϵ phosphorylates kindlin-2 to induce invadopodia formation and promote colorectal cancer metastasis. *Theranostics*. 2020; 10 (5): 2358.
172. Rognoni E, Ruppert R, Fässler R. The kindlin family: functions, signaling properties and implications for human disease. *Journal of Cell Science*. 2016; 129 (1): 17–27.
173. Zhan J, Zhang H. Kindlins: Roles in development and cancer progression. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2018; 98: 93–103.

174. Plow EF, Das M, Bialkowska K, Sossey-Alaoui K. Of Kindlins and Cancer. *Discoveries*. 2016; 4 (2): e59.
175. Djaafri I, Khayati F, Menashi S, Tost J, Podgorniak MP, Sadoux A, ve ark. A novel tumor suppressor function of Kindlin-3 in solid cancer. *Oncotarget*. 2014; 5 (19): 8970–85.
176. Lu C, Cui C, Liu B, Zou S, Song H, Tian H, ve ark. FERMT3 contributes to glioblastoma cell proliferation and chemoresistance to temozolomide through integrin mediated Wnt signaling. *Neuroscience Letters*. 2017; 657: 77–83.
177. Jiang KY, Qi LL, Kang FB, Wang L. The intriguing roles of Siglec family members in the tumor microenvironment. *Biomarker Research*. 2022; 10 (1): 1–14.
178. Ohnishi K, Komohara Y, Saito Y, Miyamoto Y, Watanabe M, Baba H, ve ark. CD169-positive macrophages in regional lymph nodes are associated with a favorable prognosis in patients with colorectal carcinoma. *Cancer Science (JCA)*. 2013; 104 (9): 1237–44.
179. Li C, Luo X, Lin Y, Tang X, Ling L, Wang L, ve ark. A Higher Frequency of CD14+CD169+ Monocytes/Macrophages in Patients with Colorectal Cancer. *Plos One*; 10 (10): e0141817.
180. Zhang Y, Li JQ, Jiang ZZ, Li L, Wu Y, Zheng L. CD169 identifies an anti-tumour macrophage subpopulation in human hepatocellular carcinoma. *The Journal of Pathology*. 2016; 239 (2): 231–41.
181. Chen Z, Wang Z, Chen J, Li Z. Fibulin-5 is Down-Regulated in Colorectal Cancer and Correlated with Clinicopathologic Characteristics. *Clinical Laboratory*. 2018; 64 (1): 25–31.
182. Macaulay IC, Thon JN, Tijssen MR, Steele BM, MacDonald BT, Meade G, ve ark. Canonical Wnt signaling in megakaryocytes regulates proplatelet formation. *Blood*. 2013; 121 (1): 188.
183. Martino F, Perestrelo AR, Vinarský V, Pagliari S, Forte G. Cellular mechanotransduction: From tension to function. *Frontiers in Physiology*. 2018; 9: 824.
184. Gong YZ, Ruan GT, Liao XW, Wang XK, Liao C, Wang S, ve ark. Diagnostic and prognostic values of integrin α subfamily mRNA expression in colon adenocarcinoma. *Oncology Reports*. 2019; 42 (3): 923–36.
185. Mo J, Zhang J, Huang H, Liu C, Cheng Y, Mo Y, ve ark. The early predictive effect of low expression of the ITGA4 in colorectal cancer. *Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2022; 13 (1): 265–78.
186. Jafarpour S, Saberi F, Yazdi M, Nedaeinia R, Amini G, Ferns GA, ve ark. Association between colorectal cancer and the degree of ITGA4 promoter methylation in peripheral blood mononuclear cells. *Gene Reports*. 2022; 27: 101580.

187. Li X, Wang J, Zhang C, Lin C, Zhang J, Zhang W, ve ark. Circular RNA circITGA7 inhibits colorectal cancer growth and metastasis by modulating the Ras pathway and upregulating transcription of its host gene ITGA7. *The Journal of Pathology*. 2018; 246 (2): 166–79.
188. Schittenhelm L, Hilkens CM, Morrison VL. $\beta 2$ integrins as regulators of dendritic cell, monocyte, and macrophage function. *Frontiers in Immunology*. 2017; 8: 1866.
189. Nicolls MR, Gill RG. LFA-1 (CD11a) as a Therapeutic Target. *American Journal of Transplantation*. 2006; 6 (1): 27–36.
190. Papas MG, Karatzas PS, Papanikolaou IS, Karamitopoulou E, Delicha EM, Adler A, ve ark. LFA-1 expression in a series of colorectal adenocarcinomas. *J Gastrointest Cancer*. 2012; 43 (3): 462–6.
191. Sun Z, Dang Q, Liu Z, Shao B, Chen C, Guo Y, ve ark. axis facilitates the metastasis of colorectal cancer via epithelial-mesenchymal transition. *J Cancer*. 2021; 12 (13): 3909–19.
192. Gorczynski RM, Fu XM, Issekutz T, Cohen Z. Differential Regulation of Rejection of Small Intestinal and Skin Allografts in Rats by Injection of Antibodies to ICAM-1 or the Integrins $\alpha 4$, αL , or $\beta 2$. *Cell Immunol*. 1998; 184 (1): 74–82.
193. Brooks PC, Montgomery AMP, Rosenfeld M, Reisfeld RA, Hu T, Klier G, ve ark. Integrin $\alpha \beta 3$ antagonists promote tumor regression by inducing apoptosis of angiogenic blood vessels. *Cell*. 1994; 79 (7): 1157–64.
194. Moreno A, Lucena C, Llanes D, Garrido JJ. 12 Role of CD-61 (Beta-3 Integrin) glycoprotein in colon carcinoma. *Handbook of Immunohistochemistry and in Situ Hybridization of Human Carcinomas*. 2002; 2: 227–35.
195. Ren D, Zhao J, Sun Y, Li D, Meng Z, Wang B, ve ark. Overexpressed ITGA2 promotes malignant tumor aggression by up-regulating PD-L1 expression through the activation of the STAT3 signaling pathway. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. 2019; 38 (1): 1–18.
196. Xu Y, Shen L, Li F, Yang J, Wan X, Ouyang M. microRNA-16-5p-containing exosomes derived from bone marrow-derived mesenchymal stem cells inhibit proliferation, migration, and invasion, while promoting apoptosis of colorectal cancer cells by downregulating ITGA2. *J Cell Physiol*. 2019; 234 (11): 21380–94.
197. Bednarczyk M, Stege H, Grabbe S, Bros M. $\beta 2$ Integrins—Multi-Functional Leukocyte Receptors in Health and Disease. *International Journal of Molecular Science*. 2020; 21 (4): 1402.

198. Kauer J, Vogt F, Hagelstein I, Hörner S, Märklin M, Maurer S, ve ark. CD18 antibody application blocks unwanted off-target T cell activation caused by bispecific antibodies. *Cancers*. 2021; 13 (18): 4596.
199. Hartman KR, Wright DG. Identification of Autoantibodies Specific for the Neutrophil Adhesion Glycoproteins CD11b/CD18 in Patients With Autoimmune Neutropenia. *Blood*. 1991; 78 (4): 1096–104.
200. Sadahiro M, McDonald TO, Allen MD. Reduction in cellular and vascular rejection by blocking leukocyte adhesion molecule receptors. *The American Journal Pathology*. 1993; 142 (3): 675.
201. Qiu X, Feng JR, Qiu J, Liu L, Xie Y, Zhang YP, ve ark. ITGBL1 promotes migration, invasion and predicts a poor prognosis in colorectal cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018; 104: 172–80.
202. Caracciolo D, Graecia of Catanzaro M, Juan José Garcés I, Qi kuuga L, Yanqing Ding qqcom, Qi L, ve ark. Regulatory Mechanism of ITGBL1 in the Metastasis of Colorectal Cancer. *Frontiers in Oncology*. 2020; 1:259.
203. Kase-Kato I, Asai S, Minemura C, Tsuneizumi K, Oshima S, Koma A, ve ark. Molecular pathogenesis of the coronin family: Coro2a facilitates migration and invasion abilities in oral squamous cell carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (23): 12684.
204. Rogg M, Yasuda-Yamahara M, Abed A, Dinse P, Helmstädter M, Conzelmann AC, ve ark. The WD40-domain containing protein CORO2B is specifically enriched in glomerular podocytes and regulates the ventral actin cytoskeleton. *Scientific Reports*. 2017; 7 (1): 15910.
205. Samarin SN, Koch S, Ivanov AI, Parkos CA, Nusrat A. Coronin 1C negatively regulates cell-matrix adhesion and motility of intestinal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010; 391 (1): 394–400.
206. Zhang D, Qian C, Wei H, Qian X. Identification of the Prognostic Value of Tumor Microenvironment-Related Genes in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Front Mol Biosci*. 2020; 14; 7.
207. Nakamura T, Takeuchi K, Muraoka S, Takezoe H, Takahashi N, Mori N. A Neurally Enriched Coronin-like Protein, ClipinC, Is a Novel Candidate for an Actin Cytoskeleton-Cortical Membrane-linking Protein. *J Biol Chem*. 1999; 274 (19): 13322-7.
208. Posner MG. Multimerin-1 and cancer: a review. *Biosci Rep*. 2022; 42 (2): BSR20211248.
209. Capuano A, Pivetta E, Sartori G, Bosisio G, Favero A, Cover E, ve ark. Abrogation of EMILIN1- β 1 integrin interaction promotes experimental colitis and colon carcinogenesis. *Matrix Biology*. 2019; 83: 97–115.
210. Ramesh P, Medema JP. BCL-2 family deregulation in colorectal cancer: potential for BH3 mimetics in therapy. *Springer*; 2020; 23: 305–20.

211. Huang Q, Li S, Cheng P, Deng M, He X, Wang Z, ve ark. High expression of anti-apoptotic protein Bcl-2 is a good prognostic factor in colorectal cancer: Result of a meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology*. Baishideng Publishing Group Co. 2017; 23: 5018–33.
212. Shanmugam C, Jhala NC, Katkoori VR, Wan W, Meleth S, Grizzle WE, ve ark. Prognostic value of mucin 4 expression in colorectal adenocarcinomas. *Cancer*. 2010; 116 (15): 3577–86.
213. Pai P, Rachagani S, Dhawan P, Sheinin YM, Macha MA, Qazi A K, ve ark. MUC4 is negatively regulated through the Wnt/ β -catenin pathway via the notch effector hath1 in colorectal cancer. *Genes Cancer*. 2016; 7 (5–6): 154–168.
214. Lu S, Catalano C, Huhn S, Pardini B, Partu L, Vymetalkova V, ve ark. Single nucleotide polymorphisms within MUC4 are associated with colorectal cancer survival. *Plos One* . 2019; 14 (5): 0216666.
215. Kim J, Do E ju, Moinova H, Bae SM, Kang JY, Hong SM, ve ark. Molecular Imaging of Colorectal Tumors by Targeting Colon Cancer Secreted Protein-2 (CCSP-2). *Neoplasia (United States)*. 2017; 19 (10): 805–16.
216. González B, Fece De La Cruz F, Samuelsson JK, Alibés A, Alonso S. Epigenetic and transcriptional dysregulation of VWA2 associated with a MYC-driven oncogenic program in colorectal cancer. *Scientific Reports*. 2018; 8 (1): 11097.
217. Gebauer JM, Keene DR, Olsen BR, Sorokin LM, Paulsson M, Wagener R. Mouse AMACO, a kidney and skin basement membrane associated molecule that mediates RGD-dependent cell attachment. *Matrix Biology*. 2009; 28 (8): 456–62.
218. Shen TE, Guo Corresponding Author Q, Guo Q. Role of Pyk2 in Human Cancers. *Medical Science Monitor*. 2018; 24: 8172-8182.
219. Luo J, McGinnis LK, Carlton C, Beggs HE, Kinsey WH. PTK2b function during fertilization of the mouse oocyte. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014; 450 (3): 1212–7.
220. Liu S, Chen L, Xu Y. OncoTargets and Therapy Dovepress Significance of PYK2 level as a prognosis predictor in patients with colon adenocarcinoma after surgical resection. *Onco Targets Ther*. 2018; 11–7625.
221. Golubovskaya VM. Targeting FAK in human cancer: from finding to first clinical trials. *Frontiers in Bioscience-Landmark*. 2014; 19 (4): 687-706.
222. Avizienyte E, Wyke AW, Jones RJ, McLean GW, Westhoff MA, Brunton VG, ve ark. Src-induced de-regulation of E-cadherin in colon cancer cells requires integrin signalling. *Nature Cell Biology*. 2002; 4 (8): 632–8.
223. Hauck CR, Hsia DA, Schlaepfer DD. The Focal Adhesion Kinase-A Regulator of Cell Migration and Invasion Structural Characteristics of FAK-like Protein

Tyrosine Kinases Focal adhesion kinase (FAK) 1 together with Pyk2 (1) form a subfamily of FAK-like protein-tyrosine kinases (PTKs). FAK. *IUBMB Life*. 2002; 53: 115–9.

224. Chudakova D, Saleh T, Shtutman M, Williams BRG, Almasabi S, Ahmed AU, ve ark. A Potential Role for Integrin-Linked Kinase in Colorectal Cancer Growth and Progression via Regulating Senescence and Immunity. *Frontiers in Genetics*. 2021; 12: 638558.
225. Yang D, Hou T, Li L, Chu Y, Zhou F, Xu Y, ve ark. Smad1 promotes colorectal cancer cell migration through Ajuba transactivation. *Oncotarget*. 2017; 8 (66): 110415–25.
226. Marie H, Pratt SJ, Betson M, Epple H, Kittler JT, Meek L, ve ark. The LIM Protein Ajuba Is Recruited to Cadherin-dependent Cell Junctions through an Association with α -Catenin. *Journal of Biological Chemistry*. 2003; 278(2): 1220–8.
227. Dommann N, Sánchez-Taltavull D, Eggs L, Birrer F, Brodie T, Salm L, ve ark. The lim protein ajuba augments tumor metastasis in colon cancer. *Cancers*. 2020; 12 (7): 1–21.
228. Schleicher K, Schramek D. AJUBA: A regulator of epidermal homeostasis and cancer. *Experimental Dermatology*. 2020; 30 (4): 546-559.
229. Xu XY, Guo WJ, Pan SH, Zhang Y, Gao FL, Wang JT, ve ark. TILRR (FREM1 isoform 2) is a prognostic biomarker correlated with immune infiltration in breast cancer. *Aging*. 2020; 12 (19): 19335–51.
230. Li H ning, Li X rui, Lv Z tao, Cai M miao, Wang G, Yang Z fang. Elevated expression of FREM1 in breast cancer indicates favorable prognosis and high-level immune infiltration status. *Cancer Med*. 2020; 9 (24): 9554–70.
231. Deng Y, Dai Y, Zhang H, Zhang J, Li G, Shen L, ve ark. 102P Colorectal cancer organoids culture exploits new neoadjuvant therapy resistance mechanisms and therapeutic targets. *Annals of Oncology*. 2020; 31: 1281.
232. Ko CY; Chu TH; Hsu CC; Chen HP; Huang SC. Bioinformatics Analyses Identify the Therapeutic Potential of ST8SIA6 for Colon Cancer. *Journal of Personal Medicine*. 2022; 12 (3): 401.
233. Umeda S, Kanda M, Miwa T, Tanaka H, Tanaka C, Kobayashi D, ve ark. Fraser extracellular matrix complex subunit 1 promotes liver metastasis of gastric cancer. *International Journal of Cancer*. 2019; 146 (10): 2865-2876.
234. Moilanen JM, Kokkonen N, Löffek S, Väyrynen JP, Syväniemi E, Hurskainen T, ve ark. Collagen XVII expression correlates with the invasion and metastasis of colorectal cancer. *Hum Pathol*. 2015; 46 (3): 434–42.
235. Thangavelu PU, Krenács T, Dray E, Duijf PHG. In epithelial cancers, aberrant COL17A1 promoter methylation predicts its misexpression and increased invasion. *Clin Epigenetics*. 2016; 8 (1): 1–13.

236. Hsu HS, Liu CC, Lin JH, Hsu TW, Hsu JW, Li AFY, ve ark. Involvement of collagen XVII in pluripotency gene expression and metabolic reprogramming of lung cancer stem cells. *J Biomed Sci.* 2020; 27 (1): 5.
237. Wang XQ, Tang ZX, Yu D, Cui SJ, Jiang YH, Zhang Q, ve ark. Epithelial but not stromal expression of collagen alpha-1 (III) is a diagnostic and prognostic indicator of colorectal carcinoma. *Oncotarget.* 2022; 7 (8): 8823-38.
238. Wang J, Liu F. COL3A1 promotes colorectal cancer growth and its potential regulation mechanism. *Fudan University Journal of Medical Sciences.* 2018; 45 (3): 285–90.
239. Huang G, Ge G, Izzi V, Greenspan DS. $\alpha 3$ Chains of type V collagen regulate breast tumour growth via glypican-1. *Nature Communications.* 2017; 8: 14351.
240. Druzhkova I, Shirmanova M, Ignatova N, Dudenkova V, Lukina M, Zagaynova E, ve ark. Expression of EMT-Related Genes in Hybrid E/M Colorectal Cancer Cells Determines Fibroblast Activation and Collagen Remodeling. *International Journal of Molecular Sciences .* 2020; 21: 8119.
241. Ting Zhou T, Lin W, Zhu Q, Renaud H, Liu X, Li R, ve ark. The role of PEG3 in the occurrence and prognosis of colon cancer. *OncoTargets and Therapy.* 2019; 12: 6001-6012.
242. Ortega P, Moran A, Fernandez-Marcelo T, de Juan C, Frias C, Lopez-Asenjo JA, ve ark. MMP-7 and SGCE as distinctive molecular factors in sporadic colorectal cancers from the mutator phenotype pathway. *International Journal of Oncology.* 2010; 36 (5): 1209–15.
243. Yu LN, Zhang QL, Li X, Hua X, Cui YM, Zhang NJ, ve ark. Tiam1 Transgenic Mice Display Increased Tumor Invasive and Metastatic Potential of Colorectal Cancer after 1,2-Dimethylhydrazine Treatment. *PLoS One.* 2013; 8 (9): 73077.
244. Liu L, Wu DH, Ding YQ. Tiam1 gene expression and its significance in colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2005; 11 (5) :705–7
245. Izumi D, Toden S, Ureta E, Ishimoto T, Baba H, Goel A. TIAM1 promotes chemoresistance and tumor invasiveness in colorectal cancer. *Cell Death & Disease.* 2019; 10 (4): 1–12.
246. Schwartz I, Seger D, Shaltiel S. Vitronectin. *Int J Biochem Cell Biol.* 1999; 31 (5): 539–44.
247. Su YC, Riesbeck K. Vitronectin. *The Complement Factsbook: Second Edition.* Elsevier. 2018; 351–60.
248. Barnes DW, Silnutzer j, See C. Characterization of Human Serum Spreading Factor with Monoclonal Antibody on JSTOR. *PNAS.* 2022; 80 (5): 1362-1366.

249. Shin K, Lechtenberg BC, Fujimoto LM, Yao Y, Bartra SS, Plano G v., ve ark. Structure of human Vitronectin C-terminal domain and interaction with Yersinia pestis outer membrane protein Ail. *Sci Adv*. 2019; 5(9): 5068–79.
250. Ylanne J, Cheresh DA, Virtanen I. Localization of $\beta 1$, $\beta 3$, $\alpha 5$ s, αv , and αIIb Subunits of the Integrin Family in Spreading Human Erythroleukemia Cells. *Blood*. 1990; 76 (3): 570–7.
251. Koukoulis GK, Shen J, Virtanen I, Gould VE. Vitronectin in the cirrhotic liver: an immunomarker of mature fibrosis. *Hum Pathol*. 2001; 32 (12): 1356–62.
252. Bierbaum S, Hintze V, Scharnweber D. 2.8. Artificial extracellular matrices to functionalize biomaterial surfaces. Reference Module in Materials Science and Materials Engineering. *Comprehensive Biomaterials II*. 2017; 2: 147–78.
253. Shen J, Zhu Y, Zhang S, Lyu S, Lyu C, Feng Z, ve ark. Vitronectin-activated $\alpha v \beta 3$ and $\alpha v \beta 5$ integrin signalling specifies haematopoietic fate in human pluripotent stem cells. *Cell Prolif*. 2021; 54 (4): 13012.
254. Imai K, Shikata H, Okada Y. Degradation of vitronectin by matrix metalloproteinases-1, -2, -3, -7 and -9. *FEBS Lett*. 1995; 369 (2-3): 249-51.
255. Yin X, Zhang Y, Guo S, Jin H, Wang W, Yang P. Large scale systematic proteomic quantification from non-metastatic to metastatic colorectal cancer. *Scientific Reports*. 2015; 5 (1): 1–9.
256. Zhang T, Yuan K, Wang Y, Xu M, Cai S, Chen C, ve ark. Identification of Candidate Biomarkers and Prognostic Analysis in Colorectal Cancer Liver Metastases. *Frontiers in Oncology*. 2021; 11: 652354.
257. Tomasini-Johansson BR, Sundberg C, Lindmark G, Gailit JO, Rubin K. Vitronectin in Colorectal Adenocarcinoma—Synthesis by Stromal Cells in Culture. *Exp Cell Res*. 1994; 214 (1): 303–12.
258. Stoeltzing O, Liu W, Reinmuth N, Fan F, Parry GC, Parikh AA, ve ark. Inhibition of integrin $\alpha 5 \beta 1$ function with a small peptide (ATN-161) plus continuous 5-FU infusion reduces colorectal liver metastases and improves survival in mice. *Int J Cancer*. 2003; 104 (4): 496–503.
259. Melo CM, Nader HB, Justo GZ, Aparecida M, Pinhal S. Heparanase Modulation by Wntless/INT (Wnt). *Mol Biol Rep*. 2021; 48 (4): 3117-3125.
260. I V, N I, A N, B C. Heparanase: structure, biological functions, and inhibition by heparin-derived mimetics of heparan sulfate. *Curr Pharm Des*. 2007; 13 (20): 2057–73
261. Liu M, Liu Q, Yuan Y, Li S, Dong Y, Liang L, ve ark. Heparanase (HPSE) Associates with the Tumor Immune Microenvironment in Colorectal Cancer. *Processes*. 2021; 9 (9):1605.

262. Sato T, Yamaguchi A, Goi T, Hirono Y, Takeuchi K, Katayama K, ve ark. Heparanase expression in human colorectal cancer and its relationship to tumor angiogenesis, hematogenous metastasis, and prognosis. *J Surg Oncol*. 2004; 87 (4): 174–81.
263. Cassinelli G, Onisto M, Yan J, M-j Z, J-w S, Liu X, ve ark. Heparanase Promotes Tumor Growth and Liver Metastasis of Colorectal Cancer Cells by Activating the p38/MMP1 Axis. *Frontiers in Oncology*. 2019; 1: 216.
264. Jayatilke KM, Hulett MD. Heparanase and the hallmarks of cancer. *J Transl Med*. 2020; 18: 453.
265. Yoshimi R, Yamaji S, Suzuki A, Mishima W, Okamura M, Obana T, ve ark. The γ -Parvin-Integrin-Linked Kinase Complex Is Critically Involved in Leukocyte-Substrate Interaction. *The Journal of Immunology*. 2006; 176 (6): 3611–24.
266. Korenbaum E, Olski TM, Noegel AA. Genomic organization and expression profile of the parvin family of focal adhesion proteins in mice and humans. *Gene*. 2001; 279 (1): 69–79.
267. Castellví-Bel S, Castells A, Johnstone CN, Piñol V, Pellisé M, Elizalde JI, ve ark. Evaluation of PARVG located on 22q13 as a candidate tumor suppressor gene for colorectal and breast cancer. *Cancer Genet Cytogenet*. 2003; 144 (1): 80–2.
268. Castells A, Ino Y, Louis DN, Ramesh V, Gusella JF, Rustgi AK. Mapping of a target region of allelic loss to a 0.5-cm interval on chromosome 22q13 in human colorectal cancer. *Gastroenterology*. 1999; 117 (4): 831–7.
269. Sun Y, Ding Y, Guo C ve ark. α -Parvin promotes breast cancer progression and metastasis through interaction with G3BP2 and regulation of TWIST1 signaling. *Oncogene* 2019; 38: 4856–4874.
270. Alonso ME, Bello MJ, de Campos JM, Isla A, Vaquero J, Gutierrez M, ve ark. No evidence of INI1hSNF5 (SMARCB1) and PARVG point mutations in oligodendroglial neoplasms. *Cancer Genet Cytogenet*. 2005; 160 (2): 169–73.
271. Wang F, Bi J, Yi C, Zhang Y, Zhang Y, Yue Q. Relationship between Prognosis, Immune Infiltration Level, and Differential Expression of PARVG Gene in Uterine Corpus Endometrial Carcinoma. *Contrast Media Mol Imaging*. 2022; 2022: 7376588.
272. Danger R, Thervet E, Grisoni ML, Puig PL, Pallier A, Tregouet D, ve ark. PARVG Gene Polymorphism and Operational Renal Allograft Tolerance. *Transplant Proc*. 2012; 44 (9): 2845–8.
273. Koyama T, Ogawara K, Kasamatsu A, Okamoto A, Kasama H, Minakawa Y, ve ark. ANGPTL3 is a novel biomarker as it activates ERK/MAPK pathway in oral cancer. *Cancer Med*. 2015; 4 (5): 759-69.

274. Solis-Hernandez MP, Martín C, García B, Pérez-López N, García-Mesa Y, González-Fernández S, ve ark. The Genes Encoding Small Leucine-Rich Proteoglycans Undergo Differential Expression Alterations in Colorectal Cancer, Depending on Tumor Location. *Cells*. 2021; 10 (8): 2002.
275. Wang W, Xu C, Ren Y, Wang S, Liao C, Fu X, ve ark. A Novel Cancer Stemness-Related Signature for Predicting Prognosis in Patients with Colon Adenocarcinoma. *Stem Cells Int*. 2021; 2021: 7036059
276. Bergamaschi A, Tagliabue E, Sørli T, Naume B, Triulzi T, Orlandi R, ve ark. Extracellular matrix signature identifies breast cancer subgroups with different clinical outcome. *J Pathol*. 2008; 214 (3): 357–67.
277. Kadkhoda S, Darbeheshti F, Tavakkoly-Bazzaz J. Identification of dysregulated miRNAs-genes network in ovarian cancer: An integrative approach to uncover the molecular interactions and oncomechanisms. *Cancer Rep*. 2020; 3 (6): 1286.
278. Hernandez MDPS, Lopez NP, Mesa YG, Fernandez-Vega I, García-Suárez O, Iturbe VL, ve ark. Small leucine-rich proteoglycans expression in colorectal cancer: Differences by primary tumor location. *Cells*. 2021; 10 (8): 2002.
279. Wang L, Hirohashi Y, Ogawa T, Shen M, Takeda R, Murai A, ve ark. LY6/PLAUR domain containing 3 has a role in the maintenance of colorectal cancer stem-like cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017; 486(2): 232–8.
280. Thuma F, Ngora HE, Oller MZ€. The metastasis-associated molecule C4.4A promotes tissue invasion and anchorage independence by associating with the alpha6beta4 integrin. 2013; 7 (5): 917-28
281. Oshiro R, Yamamoto H, Takahashi H, Ohtsuka M, Wu X, Nishimura J, ve ark. C4.4A is associated with tumor budding and epithelial-mesenchymal transition of colorectal cancer. 2012; 103 (6): 1155-64
282. Konishi K, Yamamoto H, Mimori K, Takemasa I, Mizushima T, Ikeda M, ve ark. Expression of C4.4A at the invasive front is a novel prognostic marker for disease recurrence of colorectal cancer. *Cancer Sci*. 2010; 101 (10): 2269–77.
283. Scholler N, Fu N, Yang Y, Ye Z, Goodman GE, Hellström KE, ve ark. Soluble member(s) of the mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family are detectable in sera from patients with ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96 (20): 11531–6.
284. Chang K, Pastan I. Molecular cloning of mesothelin, a differentiation antigen present on mesothelium, mesotheliomas, and ovarian cancers. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93 (1): 136.
285. Tang Z, Qian M, Ho M. The role of mesothelin in tumor progression and targeted therapy. *Anticancer Agents Med Chem*. 2013; 13 (2): 276.

286. Chang K, Pastan I, Willingham MC. Isolation and characterization of a monoclonal antibody, K1, reactive with ovarian cancers and normal mesothelium. *Int J Cancer*. 1992; 50 (3): 373–81.
287. Kim DS, Hahn Y. Exon deletion in the MSLN gene encoding MPF/mesothelin precursor protein during Laurasiatherian mammal evolution. *Int J Mol Med*. 2011; 27 (2): 289–93.
288. αPD1-MSLN-CAR T Cells for the Treatment of MSLN-positive Advanced Solid Tumors. *Klinik Araştırma* [Internet]. 2022 (Erişim Tarihi 22 Kasım 2022) Erişim adresi: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05373147>
289. Xia Y, Zhang1 F, Wang P, Guan X, ve ark. Safety and Efficacy Evaluation of MSLN-Chimeric Antigen Receptor T Cells Secreting Anti-PD-1 Antibodies in the Treatment of Advanced Metastatic Cancers. *World Journal of Surgery and Surgical Research*. 2022; 5 (1): 1369.
290. Shiraishi T, Shinto E, Mochizuki S, Tsuda H, Kajiwaraya Y, Okamoto K, ve ark. Mesothelin expression has prognostic value in stage II/III colorectal cancer. *Virchows Archiv*. 2019; 474(3): 297–307.
291. Shiraishi T, Shinto E, Nearchou IP, Tsuda H, Kajiwaraya Y, Einama T, ve ark. Prognostic significance of mesothelin expression in colorectal cancer disclosed by area-specific four-point tissue microarrays. *Virchows Archiv*. 2020; 477 (3): 409–20.
292. Ordóñez NG. Application of mesothelin immunostaining in tumor diagnosis. *Am J Surg Pathol* . 2003; 27 (11): 1418–28.
293. Inoue S, Tsunoda T, Riku M, Ito H, Inoko A, Murakami H, ve ark. Diffuse mesothelin expression leads to worse prognosis through enhanced cellular proliferation in colorectal cancer. *Oncol Lett*. 2020; 19 (3): 1741.
294. Morello A, Sadelain M, Adusumilli PS. Mesothelin-Targeted CARs: Driving T Cells to Solid Tumors.. 2016; 6 (2):133-46.
295. Li C, Luo X, Huang B, Wang X, Deng Y, Zhong Z. ADAMTS12 acts as a cancer promoter in colorectal cancer via activating the Wnt/β-catenin signaling pathway in vitro. *Ann Transl Med*. 2020; 8 (6):301.
296. Liu C ju, Kong W, Xu K, Luan Y, Ilalov K, Sehgal B, ve ark. ADAMTS-12 Associates with and Degrades Cartilage Oligomeric Matrix Protein. *J Biol Chem*. 2006; 28 (23): 15800–8.
297. Llamazares M, Obaya AJ, Moncada-Pazos A, Heljasvaara R, Espada J, López-Otín C, ve ark. The ADAMTS12 metalloproteinase exhibits anti-tumorigenic properties through modulation of the Ras-dependent ERK signalling pathway. *J Cell Sci*. 2007; 120 (20): 3544–52.
298. Wang D, Zhu T, Zhang FB, He C. Expression of ADAMTS12 in colorectal cancer-associated stroma prevents cancer development and is a good prognostic indicator of colorectal cancer. *Dig Dis Sci*. 2011; 56 (11): 3281–7.

299. Moncada-Pazos A, Obaya AJ, Fraga MF, Vilorio CG, Capellá G, Gausachs M, ve ark. The ADAMTS12 metalloprotease gene is epigenetically silenced in tumor cells and transcriptionally activated in the stroma during progression of colon cancer. *J Cell Sci.* 2009; 122 (16): 2906–13.
300. Yang R, Mei Y, Jiang Y, Li H, Zhao R, Sima J, ve ark. Ectodysplasin A (EDA) Signaling: From Skin Appendage to Multiple Diseases. *International Journal of Molecular Sciences.* NLM (Medline); 2022; 23 (16): 8911.
301. Cai Z, Deng X, Jia J, Wang D, Yuan G. Ectodysplasin A/Ectodysplasin A Receptor System and Their Roles in Multiple Diseases. *Front Physiol.* 2021; 12: 2256.
302. Wang B, Liang Y, Chai X, Chen S, Ye Z, Li R, ve ark. Ectodysplasin A receptor (EDAR) promotes colorectal cancer cell proliferation via regulation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Exp Cell Res.* 2020; 395 (1): 112170.
303. Manabe RI, Oh-E N, Maeda T, Fukuda T, Sekiguchi K. Modulation of Cell-adhesive Activity of Fibronectin by the Alternatively Spliced EDA Segment. *J Cell Biol.* 1997; 139 (1): 295–307.
304. Cui CY, Schlessinger D. EDA Signaling and Skin Appendage Development. *Cell Cycle.* 2006; 5 (21): 2477-83.
305. Mikkola ML, Pispä J, Pekkanen M, Paulin L, Nieminen P, Kere J, ve ark. Ectodysplasin, a protein required for epithelial morphogenesis, is a novel TNF homologue and promotes cell-matrix adhesion. *Mech Dev.* 1999; 88 (2): 133–46.
306. Nishioka E, Tanaka T, Yoshida H, Matsumura K, Nishikawa S, Naito A, ve ark. Mucosal addressin cell adhesion molecule 1 plays an unexpected role in the development of mouse guard hair. *Journal of Investigative Dermatology.* 2002; 119 (3): 632–8.
307. Kostic C, Shaw PH. Isolation and characterization of sixteen novel p53 response genes. *Oncogene.* 2000; 19(35): 3978–87.
308. Song L, Chang R, Dai C, Wu Y, Guo J, Qi M, ve ark. SORBS1 suppresses tumor metastasis and improves the sensitivity of cancer to chemotherapy drug. *Oncotarget.* 2017; 8 (6): 9108–22.
309. Zhang M, Liu J, Cheng A, Deyoung SM, Chen X, Dold LH, ve ark. CAP interacts with cytoskeletal proteins and regulates adhesion-mediated ERK activation and motility. *EMBO J.* 2006; 25: 5284–93.
310. Cho WC, Jang JE, Kim KH, Yoo BC, Ku JL. SORBS1 serves a metastatic role via suppression of AHNK in colorectal cancer cell lines. *Int J Oncol.* 2020; 56 (5): 1140–51.
311. Syed Sameer A, Zaffar Banday M, Reddy Parine N, Wang Z, Tang Y, Xie L, ve ark. The Prognostic and Clinical Value of CD44 in Colorectal Cancer: A Meta-Analysis. *Analysis Front Oncol.* 2019; 9: 309.

312. Xia P, Xu XY. Oncotarget 45538 www.impactjournals.com/oncotarget Prognostic significance of CD44 in human colon cancer and gastric cancer: Evidence from bioinformatic analyses. *Oncotarget*. 2016; 7 (29): 45538-45546.
313. Gerger A, Zhang W, Yang D, Bohanes P, Ning Y, Winder T, ve ark. Common cancer stem cell gene variants predict colon cancer recurrence. *Clinical Cancer Research*. 2011; 17 (21): 6934–43.
314. Kelemen A, Carmi I, Seress I, Lőrincz P, Tölgyes T, Dede K, ve ark. CD44 Expression Intensity Marks Colorectal Cancer Cell Subpopulations with Different Extracellular Vesicle Release Capacity. *Int J Mol Sci*. 2022; 23 (4): 2180.
315. Zhang X, Wang F, Huang Y, Ke K, Zhao B, Chen L, ve ark. Fgg promotes migration and invasion in hepatocellular carcinoma cells through activating epithelial to mesenchymal transition. *Cancer Management and Research*. 2019; 11: 1653-1665.
316. Beierle EA, Massoll NA, Hartwich J, Kurenova E v, Golubovskaya VM, Cance WG, ve ark. Focal Adhesion Kinase Expression in Human Neuroblastoma: Immunohistochemical and Real-time PCR Analyses. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2018; 14 (11), 3299–3305.
317. Yu HG, Tong SL, Ding YM, Ding J, Fang XM, Zhang XF, ve ark. Enhanced expression of cholecystikinin-2 receptor promotes the progression of colon cancer through activation of focal adhesion kinase. *International Journal of Cancer*. 2006; 119 (12): 2724–2732.
318. Jeong KY. Inhibiting focal adhesion kinase: A potential target for enhancing therapeutic efficacy in colorectal cancer therapy. *World J Gastrointest Oncol*. 2018; 10 (10): 290.
319. Shi F, Wu H, Qu K, Sun Q, Li F, Shi C, ve ark. Identification of serum proteins AHSG, FGA and APOA-I as diagnostic biomarkers for gastric cancer. *Clin Proteomics*. 2018; 15: 18.
320. Liu G, Xu X, Geng H, Li J, Zou S, Li X. FGA inhibits metastases and induces autophagic cell death in gastric cancer via inhibiting ITGA5 to regulate the FAK/ERK pathway. *Tissue Cell*. 2022; 76: 101767.
321. Mehta KR, Nakao K, Zuraek MB, Ruan DT, Bergsland EK, Venook AP, ve ark. Fractional genomic alteration detected by array-based comparative genomic hybridization independently predicts survival after hepatic resection for metastatic colorectal cancer. *Clinical Cancer Research*. 2005; 11 (5): 1791–7.
322. Li H, Ma RQ, Cheng HY, Ye X, Zhu HL, Chang XH. Fibrinogen alpha chain promotes the migration and invasion of human endometrial stromal cells in

- endometriosis through focal adhesion kinase/protein kinase B/matrix metalloproteinase 2 pathway. *Biol Reprod.* 2020; 103 (4): 779–90
323. Khan U, Chowdhury S, Billah M, Mohammed K, Islam D, Thorlacius H, ve ark. Molecular Sciences Neutrophil Extracellular Traps in Colorectal Cancer Progression and Metastasis. 2021; 2 (14): 7260.
324. Wang M, Zhang G, Zhang Y, Cui X, Wang S, Gao S, ve ark. Fibrinogen alpha chain knockout promotes tumor growth and metastasis through integrin-akt signaling pathway in lung cancer. *Molecular Cancer Research* . 2020; 18 (7): 943–54.



8. EKLER

Ek- 1:

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Sayın Prof.Dr. Fatma Duygu Özel Demiralp

Araştırmanıza ilişkin Kurulumuz kararı aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

ETİK KOMİSYONUN ADI	DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
AÇIK ADRES	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2. Kat İnciraltı-İZMİR
TELEFON	0 232 412 22 54-0 232 412 22 58
FAKS	0 232 412 22 43
E-POSTA	goaek@deu.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	DOSYA NO:	6971-GOA
	ARAŞTIRMA	UZMANLIK TEZİ ☐ MÜNFERİT ARAŞTIRMA ☐ ÖÇM ☐ YÜKSEKLİSANS ☒ DOKTORA ☐
	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kolorektal Kanserde Metastatik Süreçleri Yönlendiren Hücre Matriks Adezyonu İfade Değişimleri
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI ve UZMANLIK ALANI	Prof.Dr. Fatma Duygu Özel Demiralp Onkoloji Enstitüsü, Translasyonel-Onkoloji AD
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐ ÇOK MERKEZLİ ☒

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA İLE İLGİLİ LİTERATÜR	Mevcut		Türkçe ☐ İngilizce ☒ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2022/05-10	Tarih:09.02.2022				
	Prof.Dr. Fatma Duygu Özel Demiralp'in sorumlusu olduğu "Kolorektal Kanserde Metastatik Süreçleri Yönlendiren Hücre Matrisi Adezyonu İfade Değişimleri" isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmanın mevcut haliyle etik yönden uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.					
ETİK KURUL BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu					
ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkili mi?		İmza
Prof.Dr.Mehmet Birhan Yılmaz (Başkan)	Kardiyoloji	DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Emel Çalıkoğlu (Başkan Yardımcısı)	Preventif Onkoloji	Onkoloji Enstitüsü	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Ahmet Okay Çağlayan	Moleküler Tıp	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Suna Asilsoy	Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları	DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Seher Özyürek	Muskuloskeletal Fizyoterapi	DEÜ Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Fakültesi	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Nil Hocaoglu Aksay	Tıbbi Farmakoloji	DEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Meryem Öztürk Haney	Halk Sağlığı Hemşireliği	Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Aylin Özgen Alpaydın	Göğüs Hastalıkları	DEÜ Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Aliye Akcalı	Periodontoloji	Diş Hekimliği Fakültesi	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Şule Özbilgin	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	DEÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü	Kadın	E ☐	H ☒	
Dr.Öğr.Üyesi Özlenen Şimşek Papur	Tıbbi Biyoloji ve Genetik	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Kadın	E ☐	H ☒	
Dr.Öğr.Üyesi Tolga Şahin	Spor Yönetim Bilimleri	Necat Hepkon Spor Bilimleri Fakültesi	Erkek	E ☐	H ☒	
Öğr.Gör.Dr.Kıvanç Yüksel	Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Bilişim A.D	Erkek	E ☐	H ☒	

Ek- 2:



SELİN İŞİDOĞRU

Kişisel Bilgiler

İletişim Bilgileri

İletişim Adresi

Telefon

E-posta

İnternet Sayfası

Öğrenim Bilgileri

02 Eylül 2013 - 05 Temmuz 2017 (3 yıl 11 ay)

Lisans, Anadal/Normal Öğretim, BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK PR.

Diploma Numarası: 2017-2880

Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 2.82 / 4.0

Yabancı Dil Bilgileri

İNGİLİZCE (Okuma: İyi, Yazma: İyi, Konuşma: İyi)

Ar-Ge Yetkinlik

Makaleler

O. BAYRAK, M. E. ARAYICI, N. KAYACIK, S. İŞİDOĞRU, S. YESİL, H. ELLİDOKUZ & E. ELLİDOKUZ, COLORECTAL CANCER RISK ASSESSMENT ; AWARENESS, MEDITERRANEAN DIET, AND EARLY DETECTION, JOURNAL OF BASIC AND CLINICAL HEALTH SCIENCES, 2022, 2458-8938, 6, 1, 286-295.

J. CHMIELOWSKA-BAK, R. HOLUBEK, M. FRONTASYEVA, I. ZINICOVSCAIA, S. İŞİDOĞRU & J. DECKERT, Tough Sprouting - Impact of Cadmium on Physiological State and Germination Rate of Soybean Seeds, ACTA SOCIETATIS BOTANICORUM POLONIAE, 2020, 0001-6977, 89, 2.

TÜBİTAK Burs ve Destekleri

Panelistlik/İzleyicilik/Raportörlük Sayısı

Hakemlik/Panelistlik/Dış Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0
İzleyicilik/Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0
Raportörlük Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0