

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS)

**KOLOREKTAL KANSERLİ HASTALARDA KONNEKSİN
43 VE E-KADERİN GEN ANLATIMLARININ VE
SELENYUM DÜZEYİNİN İNCELENMESİ**

SAİME TURAN

**DANIŞMAN
PROF. DR. İLHAN YAYLIM**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

İSTANBUL-2013

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında Saime TURAN tarafından hazırlanan Kolorektal Kanseri Hastalarda Konneksin 43 ve E-Kaderin Gen Anlatımlarının ve Selenyum Düzeyinin İncelenmesi" başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

22 / 07 / 2013

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)

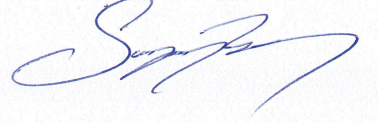
İmzası

- 1.Prof. Dr. İlhan YAYLIM DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı
- 2.Prof. Dr. Bedia ÇAKMAKOĞLU DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı
- 3.Doç Dr. Arzu ERGEN DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı
- 4.Doç Dr. Ş.Ümit ZEYBEK DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı
- 5.Doç Dr. Ali Osman GÜROL DETAE İmmünoloji Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Saime Turan



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Moleküler Tıp Anabilim Dalı kurucusu, emekli öğretim üyesi Prof. Dr. Turgay İsbir'e,

Yüksek lisans eğitimim süresince danışmanlığımı üstlenen ve benden desteğini, iyi niyetini hiçbir zaman esirgemeyen çok kıymetli hocam İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İlhan Yaylın'a, başta Doç. Dr. Arzu Ergen ve tüm Moleküler Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve çalışanlarına,

Tezim için gerekli hastaların seçimi, örneklerin sağlanması ile klinik değerlendirmelerindeki destek ve katkılarından dolayı Doç. Dr. Soykan Arıkan'a

Tezimin yapımı ve yazımı sırasındaki yardımları ve destekleri için çok değerli arkadaşlarım, PhD. Özlem Timirci Kahraman, Bio. Gurbet Korkmaz, M.Bio Nazlı Ezgi Özkan'a, Bio. Hande Karagedik, Bio. Melike Gezen, Msc. M. Bio. P. Allison Eronat'a

Attığım her adımda bana destek ve yardımcı olan, varlıklarıyla hayatıma en değerli anlamları katan, beni hep mutlu eden canım annem, canım babam, kardeşimlerim olmak üzere tüm aileme yürekten teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 24522

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET.....	Xİ
ABSTRACT.....	Xİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. KOLOREKTAL KANSER	3
2.1.1. EPİDEMİYOLOJİ	4
2.1.2. KOLOREKTAL KANSER RİSK FAKTÖRLERİ.....	6
2.1.2.1. Yaş.....	7
2.1.2.2. Beslenme ve Diyet	7
2.1.2.3. Irk	8
2.1.2.4. Sigara	8
2.1.2.5. Fiziksel aktivite ve obezite	8
2.1.2.6. İnflamasyonlu Bağırsak Hastalıkları	9
2.1.2.7. NSAİİ Kullanımı	9
2.1.2.8. Alkol	9
2.1.2.9. Aile Hikayesi	10
2.1.2.10. KALITSAL FAKTÖRLER	10
2.1.3. KOLOREKTAL KANSERİN MOLEKÜLER MEKANİZMASI	11
2.2. E-KADERİN	15
2.3. GAP JUNCTION.....	16
2.4. SELENYUM (Se).....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. GEREÇ.....	21

3.1.1. HASTA ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI	21
3.1.2. KULLANILAN KİMYASALLAR.....	22
3.1.3. KULLANILAN KİTLER.....	22
3.1.4. KULLANILAN CİHAZLAR	22
3.2. YÖNTEM.....	23
3.2.1. RNA İZOLASYONU.....	23
3.2.1.1. Homojenizasyon.....	23
3.2.1.2. Kitle RNA İzolasyonu	23
3.2.2. RNA KONSANTRASYONUNUN BELİRLENMESİ	24
3.2.3. cDNA SENTEZİ.....	24
3.2.4. qRT-PCR YÖNTEMİYLE GEN ANLATIMI	25
3.2.5. SELENYUM ÖLÇÜLMESİ.....	26
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA	43
KAYNAKLAR	50
HAM VERİLER.....	63
FORMLAR	64
ETİK KURUL KARARI.....	67
PATENT HAKKI İZNİ	70
TELİF HAKKI İZNİ	71
ÖZGEÇMİŞ	72

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Tümör, Nod, Metastaz değerlendirmesi (30).....	4
Tablo 3-1: cDNA PCR Karışım içeriği	24
Tablo 3-2: cDNA için PCR Koşulları	24
Tablo 3-3 : q RT-PCR Karışım İçeriği.....	25
Tablo 3-4: qRT-PCR Sıcaklık Koşulları	26
Tablo 4-1: Çalışma Gruplarına ait veriler.....	27
Tablo 4-2: Hasta grubuna ait veriler	28
Tablo 4-3: E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Normale Göre Tümörlü Dokularda Fold Change (Kat Değişimi) Değerleri	30
Tablo 4-4: E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Metastaz Varlığına Göre Fold Change (Kat Değişimi) Değerleri	31
Tablo 4-5: Düşük Grade Tümöre Karşı Yüksek Grade Tümör Varlığında E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Fold Change (Kat Değişimi) Değerleri	33
Tablo 4-6: Lenfatik invazyon Varlığında E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Fold Change (Kat Değişimi) Değerleri	35
Tablo 4-7: Tümör Dokusundaki Diferansiyasyon Varlığına Göre E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Fold Change (Kat Değişimi) Değerleri	37
Tablo 4-8: Tümör Dokusunda Lenf Bezi Tutulumuna Göre E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Fold Change (Kat Değişimi) Değerleri.....	39
Tablo 4-9: Serum Selenyum Verilerinin Patolojik Verilere Göre Değerlendirmesi.....	42
Tablo 4-10: Konneksin-43 'ün Düşük ve Yüksek Ekspresyon Seviyelerine Göre Selenyum Seviyelerinin Karşılaştırılması	42

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Dünya genelinde kolorektal kanserin görülme sıklıkları.....	5
Şekil 2-2: Türkiye’deki kanser türlerinin görülme sıklığı.....	6
Şekil 2-3: Kolorektal kanser mekanizmasındaki 4 temel yolak	11
Şekil 2-4: Kolorektal kanserde MSI ve CIN yolakları.....	13
Şekil 2-5: E-kaderin Yapısı.....	16
Şekil 2-6: Gap Junctionların Yapısı	18
Şekil 7: E-Kaderin geni örnek amplifikasyon eğrileri.....	29
Şekil 8: Konneksin-43 geni örnek amplifikasyon eğrileri.....	29

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

KRK: Kolorektal Kanser

GJIC: Gap Junction Intercellular Communication

NSAİİ: Non-Steroid Anti İnflamatuvar İlaç

APC: Adenomatöz Polipozis Koli

IBH: İnflamasyonlu Bağırsak Hastalığı

COX-2: Cyclooxygenase-2

FAP: Ailesel Adenomatöz Polip

HNPCC: Kalıtsal Polipozis olmayan Kolorektal Kanser

MMR: Miss-match Repair (Tamir Genleri)

CIMP: CpG Adacık Metilatör Fenotipi

MSI: Mikrosatellit Instabilite

LOH: Heterozigotluğun Kaybolması

Se: Selenyum

Tcf: T-cell Faktör

ÖZET

Turan,S. (2013). Kolorektal Kanserli Hastalarda Konneksin ve E-kaderin Gen anlatımlarının ve Selenyum Düzeyinin İncelenmesi İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp ABD. Yüksek Lisans. İstanbul.

Kolorektal kanser (KRK), genellikle sporodik olarak gelişim göstermesine rağmen çevresel ve genetik faktörlerin etkisiyle oluşur. Kolorektal kanserin metastaz yapabilme özelliği ile doğrudan ilişkili olan hücre adezyon molekülleri, hastalığın malignitesini belirleyen en önemli unsurlardan birisidir. Ca bağımlı hücre-hücre adezyon moleküllerinden olan E-kaderin; mide, mesane, kolorektal, meme gibi pek çok kanserde azalmış ekspresyon göstermektedir. Bir gap junction proteinin olan Konneksin-43 hücre döngüsünün düzenlenmesinde oldukça önemlidir ve azalmış anlatımı ya da fonksiyon bozukluğu kanser ile ilişkilendirilmiştir. Konneksin-43 tarafından sağlanan “Gap Junction” aracılı hücresel iletişimin regülasyonu E-kaderin tarafından kontrol edildiği düşünülmektedir. Kanserden koruyucu özelliğe sahip olduğu bilinen selenyum elementinin serumdaki düzeyi, akciğer, kolorektal, özofagus, mide, karaciğer, meme, prostat ve mesane kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir.

Bu çalışmada, KRK vakalarda hücre adezyonu ve hücre büyümesinin kontrolünde önemli role sahip konneksin-43 ve E-kaderin gen anlatım seviyelerinin ve serum selenyum düzeylerinin belirlenmesi ve hastalık riski, klinik ve prognostik parametrelerle birlikte karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yapılan analizlerde, KRK hastalarının normal ve tümörlü doku örneklerinde E-kaderin ekspresyonunun düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ancak hastalar tümör büyüklüğüne göre sınıflandırıldığında yüksek tümör derecesinde E-kaderin ekspresyonunun düşük derecelilere göre 1.33 kat az azaldığı belirlenmiştir. Konneksin 43 gen ekspresyonunun ise tümör dokusunda normal dokularına oranla 14 kat azaldığı belirlenmiş ve istatistiksel anlamlılık saptanmıştır. Ayrıca Lenfatik invazyon varlığı olan tümör dokularında konneksin43 gen ekspresyonunu 2.27 kat daha azaldığı gözlenmiş ve fark istatistiksel anlamlılığa oldukça yakın bulunmuştur. ($p=0.076$)

Hasta (68.1 ± 17.5) ve kontrol ($60.9 \mu\text{L} \pm 16 \mu\text{L}$) selenyum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır. ($p>0.05$)

Ancak uzak metastazı olan KRK hastalarının selenyum düzeyleri metastazı olmayan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşüktür ($p=0.021$).

Bu sonuçlar, E-kaderin ve konneksin43 genlerinin KRK gelişiminde önemli rol oynayabileceği ve özellikle kötü prognozu olan hastalarda düşük selenyum düzeyleri ile birlikte potansiyel marker olarak dikkate alınabileceğini önermektedir.

Anahtar Kelimeler : Kolorektal Kanser, Konneksin, E-kaderin, Gen anlatımı, Adezyon

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 24522

ABSTRACT

Turan,S. (2013). Investigating Connexin 43 and E-Cadherin Gene Expression and Serum Levels in Colorectal Cancer Patients. İstanbul University, Institute of Health Science, Molecular Medicine. Yüksek Lisans. İstanbul.

Genetic and environmental factors both have important role in the development of colorectal cancer. Cell adhesion molecules, which are directly related with the metastatic ability of the colorectal cancer, are one of the most important factors in determining malignancy of the disease.

E-cadherin is a member of calcium dependent cell adhesion molecules, whose decreased expression is reported in most of cancers such as bladder, colon, gastric and breast cancer.

Connexin-43 is a gap junction protein and has an important role in cell-cycle regulation and decrease expression or in the function have important roles in carcinogenesis. Regulation of the gap junctional communication that is mediated by Connexin-43 is thought to be controlled by E-cadherin.

Selenium element is known to have cancer preventive properties and serum levels of selenium have been related with most cancers such as breast, lung, prostate, bladder and colon.

The aim of the present study is to establish the expression levels of Connexin-43 and E-cadherin, and serum levels of selenium element in colorectal cancer patients and comparison with clinical and prognostic parameters.

No significant association on E-cadherin expression was found between CRC patients and controls. However, a 1.33 fold decrease in E-cadherin expression was detected in advanced stage tumors when compared to lower stages.

Connexin43 expression was found to be 14 fold decreased in tumor tissues when compared to normal tissues with statistical significance. Beside, 2.27 fold decreased in the tumor with lymphatic invasion. ($p=0.076$)

No significant differences on selenium levels were detected between patients (68.1 ± 17.5) and controls ($60.9\pm16\mu\text{L}$) ($p>0.05$). However, CRC patients with distance metastasis had significantly lower selenium levels. ($p=0.021$).

These results indicate the possible role of E-cadherin and connexin43 gene expressions on CRC progression and suggest the potential predictive function of these genes together with selenium levels specifically in the patients with bad prognosis.

Key Words: Colorectal cancer, connexin, E-cadherin, Gene expression, Adhesion

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 24522

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal kanser (KRK), dünyadaki hastalık ve ölümlerin önemli bir nedeni olup tüm kanser insidansının %9'undan fazlasını oluşturmaktadır (1,2,3). Dünya genelinde kadınlarda 2. erkeklerde 3. en sık görülen kanser türüdür. Ülkemizde ise en sık görülen 4 kanser türünden biridir (4). Kolorektal kanser, etiyolojisinde çevresel faktörlerin de etkili olduğu genetik ve epigenetik değişimlerin birikimi sonucu oluşur (5,6,7).

Kanser hücreleri karsinogenez süresince kendisine komşu yapılara invazyon yeteneği kazanarak bu yolla metastaz yaparlar (8). Kanser hücrelerinin metastaz yapmasında adezyon moleküllerinin rolü vardır. Kalsiyum (Ca) bağımlı hücre adezyon molekülü olan E-kaderin, epitel dokunun gelişmesinde ve korunmasında merkezi rol oynar (9,10). E-kaderin fonksiyon kaybı tümör hücrelerinin invazyon ve metastaz yeteneği kazanmasına neden olur (11).

Hücre adezyon molekülleri aynı zamanda GJIC'lerin (Gap Junction Intercellular Communication) kontrolünde rol oynarlar. İleri metastatik hastalıklarda Gap Junction'ların (GJ) ve E-kaderinin progresif kaybı olduğu bilinmektedir. (12,13,14) İki komşu hücre arasında iletişimi sağlayan kanallar olarak bilinen GJ'lar, konneksinlerden oluşur. Konneksin ifadesinin azalması ya da fonksiyon bozukluğu hücre büyümesini etkilediği ve kanser hücrelerinin kontrollü büyümeden kaçışta önemli rol oynadığı birçok koşul altında gösterilmiştir (15,16,17). Konneksinlerin hücre döngüsünün ve apoptozun düzenlenmesinde rol alan proteinlerle direkt etkileşim halinde olduğu ve bu yolla hücre büyümesini düzenleyebildiği yönünde çalışmalar mevcuttur (18,19,20).

Konneksin gen ailesinin en çok çalışılan üyesi, birçok doku ve hücre tipinde anlatımı olan konneksin-43 izoformudur (21). Yapılan bir çalışmanın sonucunda elde edilen bulgular Konneksin 43'ün kolon kanseri hücre hatlarında ve kolorektal karsinomlarda anormal şekilde lokalize olduğu ya da anlatımının azaldığı yönündedir (18).

Sonuç olarak E-kaderin ve konneksin 43 genlerinin anlatımı anlamlı olarak birbirleriyle ilişkilidir. E-kaderin ve konneksin 43 ifadesi karsinogenezde ve kötü huylu tümör davranışında önemli rol oynayabilir (22).

Kanserden korunma mekanizmalarında rol oynayan önemli bir eser element olan Selenyumun da, apoptozis, hücre döngüsünün durdurulması ve DNA onarımı gibi birçok etki mekanizmalarıyla karsinogenezi inhibe ettiği düşünülmektedir (23).

Ayrıca yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar düşük Se seviyesinin; akciğer, özofagus, mide, karaciğer, meme, prostat, mesane ve kolorektal, kanser riski ile ilişkili olduğu yönündedir (23,24,25,26,27).

Bizim de bu çalışmamızda, hücre adezyonunda ve hücre büyümesinin kontrolünde önemli rol oynayan E-kaderin ve konneksin43'ün gen anlatım seviyelerinin ve serum Se düzeylerinin, kolorektal kanserde hastalık riski, klinik ve prognostik parametrelerle beraber incelenmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KOLOREKTAL KANSER

Kolorektal Kanser hem ülkemizde hem de dünya genelinde görülme sıklığı en yüksek olan kanser türlerinden biridir ve KRK sadece batılı yaşam tarzı olan ülkelerin değil dünyanın diğer bölgelerinde de artan önemli bir sağlık sorunu olarak görülmektedir (4,28).

Gelişiminde çevresel, genetik ve epigenetik faktörlerin etkili olduğu heterojen bir doğaya sahiptir. Kolorektal kanserin moleküler temelini anlaşılmaması, teşhis ve tedavide, hastalık evresinin daha iyi belirlenmesi ve tümörün özelliğine göre tedavilerin geliştirilmesi açısından faydalı olacaktır (29).

Hastalığın yayılım derecesini saptamak, tedavinin planlanması ve prognoz açısından tahminde bulunabilmek amacıyla evreleme sistemleri kullanılmaktadır. Bu amaçla KRK için günümüzde en sık kullanılan evreleme TNM olarak bilinen AJCC (American Joint Committee on Cancer) sınıflandırmasıdır. Bununla beraber Dukes ve Astler-Coller gibi sınıflandırma sistemleri de kullanılmaktadır (30).

Tablo 2-1: Tümör, Nod, Metastaz değerlendirmesi (30)

T: Primer Tümör	
T_x	Primer tümör değerlendirilemiyor.
T₀	Primer tümör yok
T_{is}	Karsinoma in situ
T₁	Tümör submukozaya yayılmış
T₂	Tümör 'muskularis propria' ya yayılmış
T₃	Tümör muskularis propria içinden subserozayı ya da nonperitoneal periferik veya perirektal dokulara yayılmış
T₄	Tümör diğer organlara ya da viseral peritona yayılmış
N: Bölgesel Lenf Nodları	
N_x	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
N₀	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N₁	1-3 bölgesel lenf nodunda metastaz
N₂	4 veya daha fazla bölgesel lenf nodunda metastaz
N₃	Ana arter kökünde lenf nodu tutulumu
M: Uzak Metastaz	
M_x	Uzak metastaz değerlendirilemiyor
M₀	Uzak metastaz yok
M₁	Uzak metastaz var

2.1.1. EPİDEMİYOLOJİ

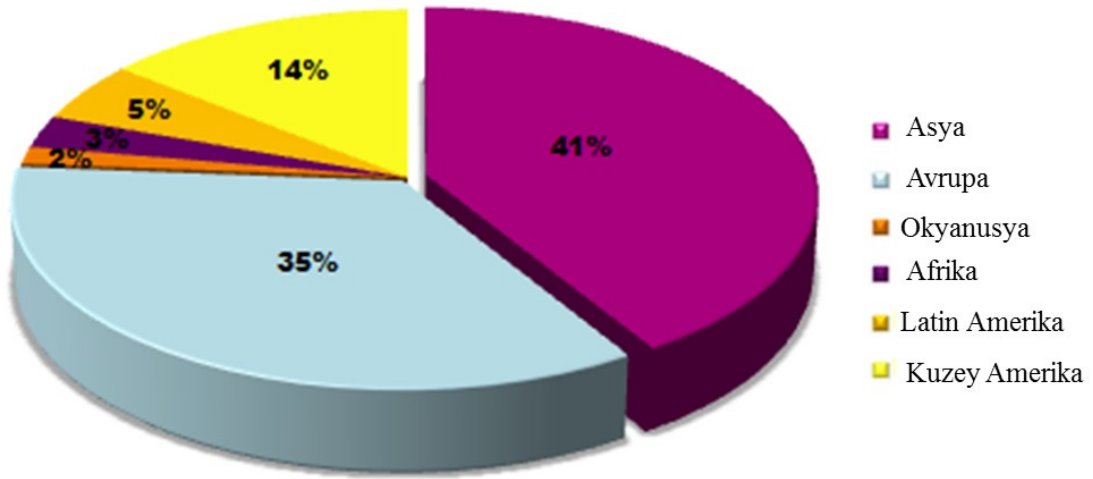
Kanser, ekonomik olarak gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önde gelen ölüm nedenleri arasındadır. (31)

2004-2008 yılları arasında toplam kanser insidans oranları erkeklerde (yılda% 0,6) bir miktar gerilemiş ve kadınlarda stabil iken ölüm oranlarının erkeklerde yılda %1,8, kadınlarda yılda %1,6 azaldığı rapor edilmiştir (32).

2008 globocan tahminlerine göre, 12.7 milyon kanser vakasının ve 7.6 milyon kansere bağlı ölümlerin meydana geldiği, bu vakaların %56 sı ve kansere bağlı ölümlerin %64 ü ekonomik olarak gelişmekte olan ülkelerdedir. Gelişmekte olan ülkelerde prostat, kolorektal, kadın meme ve akciğer kanseri oranları gelişmiş ülkelere kıyasla 2 ila 5 kat daha yüksektir .

Kolorektal kanser ise erkeklerde 3. bayanlarda 2. en yaygın teşhis edilen kanser türüdür. 2008 yılında 1.2 milyon yeni kanser vakası ve 608.700 ölüm rapor edilmiştir (33).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, KRK görülme oranının ülkeler arasında büyük ölçüde değiştiğini göstermektedir (34). Görülme sıklığı en fazla Avustralya, Yeni Zelanda, Avrupa ve Kuzey Amerika’da iken en az Afrika ve Güney-Orta Asya’dadır. (32).

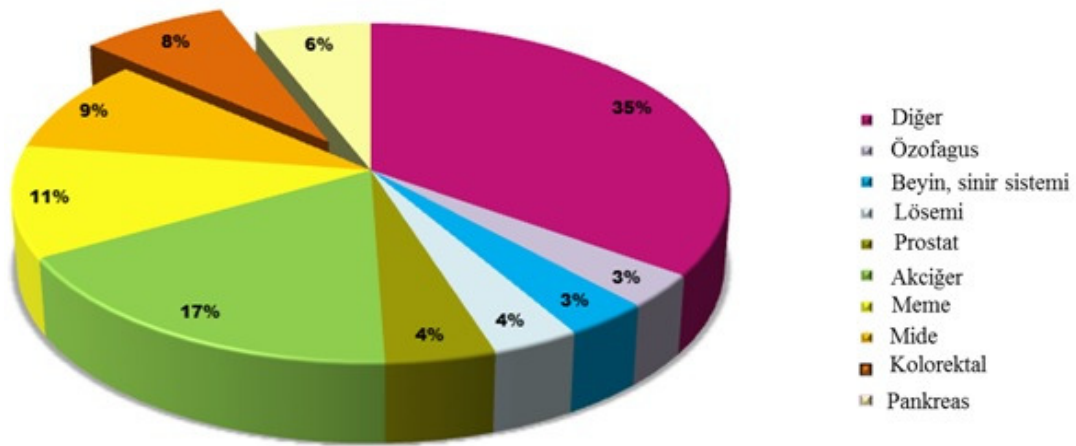


Şekil 2-1: Dünya genelinde kolorektal kanserin görülme sıklıkları (4)

Türkiye’de ise kanserli hasta verilerinin toplanmasındaki sorunlar sebebiyle, bu konuda istatistiki sonuçların güvenilirliği azdır. Verilerin yetersizliği ve çalışmaların azlığı, KKK sıklığı ve yaygınlığı konusunda sağlıklı bilgi edinmeyi engellemektedir (35).

Globocan 2008 verilerine göre Türkiye’de her iki cinsiyet için kolorektal kanser vakası tüm kanser vakalarının %7,6’sını oluşturarak 4. sırada, kansere bağlı ölümlerin ise %7,4’ünü oluşturarak 3. sırada yer almaktadır. Cinsiyete göre kolorektal kanser

erkeklerde 5. sırada ve kadınlarda da 2. sıradadır (36).



Şekil 2-2: Türkiye’deki kanser türlerinin görülme sıklığı (4)

2.1.2. KOLOREKTAL KANSER RİSK FAKTÖRLERİ

Kolorektal kanserin gelişimi çok basamaklı bir süreç olup kalıtımla aktarılan predispozan faktörler ve çevresel etmenlerin biriken etkisi sonucu gelişir. Kalıtsal kolorektal kanserden germline mutasyonlar sorumluyken, sporadik olgulardan ise genetik ve epigenetik değişimler sorumludur. Tüm KKK vakalarının yaklaşık %5’i genetik aktarılan mutasyonlara bağlıdır. Geri kalan %95 vakanın yaklaşık %20’sinde pozitif aile öyküsü mevcuttur. Sporadik kanser vakalarının %90’ından fazlası ise 50 yaş üstü bireylerde görülmektedir. (29,37,38)

Kolorektal kanserin değiştirilebilir risk faktörleri arasında ise sigara ve aşırı alkol kullanımı, kırmızı ve işlenmiş et tüketimi, fiziksel aktivitesizlik, aşırı kilo ve obezite yer almaktadır. (39,40,41)

İrk/etnik grup ve İnflamasyonlu bağırsak hastalıkları da diğer risk gruplarını oluştururken bazı kaynaklara göre NSAİİ (Non-steroid anti inflamatuvar ilaç) kullanımının kolorektal kanser riskini azalttığı yönündedir (42,43,44).

2.1.2.1. Yaş

Kolorektal kanser riski yaşa bağlı olarak artar ve ortalama teşhis yaşı 64'tür . Kolorektal kanser olgularının %90'ından fazlası 50 yaş ve üstü bireylerde görölmektedir. 65-85 yaşları arasındaki bireylerde bu risk 50 yaş altındaki bireylere göre 6 kat daha fazladır. Bununla birlikte kolorektal kansere yakalanma riski genç bireyler arasında da artmaktadır. Amerika Birleşik Devletler'inde 20-49 yaşları arasındaki kadınlarda ve erkeklerde en sık görölen 10 kanserden biridir (1,42,45).

2.1.2.2. Beslenme ve Diyet

Diyetin çeşitli bileşenleri ve diyet alışkanlığının kolon kanseri için risk oluşturabileceği öne sürölmüştür. Kırmızı et ya da sığır ve domuz eti gibi günlük diyet faktörlerinin aşırı tüketimi, bu ürünleri tüketmeyen hastalar ile karşılaştırıldığında, ileri kolorektal kanserli kişilerde artmış rölatif risk ile ilişkilendirilmiştir (46,47). Yüksek oranda meyve, sebze ve lifli besin içeren diyetlerin kolorektal kanser üzerindeki etkileri çelişkili sonuçlar içermektedir (48,49).

Kalsiyumun, kolon epitelyal hiper proliferasyonunun inhibisyonu ile karsinogenezi inhibe ettiği ileri sürölmüştür. Kolorektal adenom öyküsü olan 930 hastayı kapsayan plasebo kontrollü çalışmalarda, kalsiyum takviyesinin epitel hiperproliferasyonu ve yeni adenom oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (50). Yine yapılan bir çalışmada Günde 80 gram ya da daha fazla işlenmiş et (sosis, jambon gibi) tüketimi, günde 10 gram ya da daha az tüketenler ile karşılaştırıldığında rektal kanser oluşumunu %62 arttırdığı (51), ve işlenmiş etlerin uzun süreli ve yüksek alımının distal kolon kanseri riskini %50 arttırdığı belirlenmiştir (52).

Bu yaşam tarzı faktörleri kolorektal kanseri önlemede potansiyel aracı olsalar da, bu diyet faktörlerinin kolorektal kanser için yüksek genetik risk taşıyan hastalardaki koruyucu rolleri hakkında kanıtlara dayalı görüş farklılıkları vardır (53).

2.1.2.3. Irk

Kanser insidansı ve ölüm oranları, ırksal ve etnik gruplara göre değişiklik göstermektedir. 2004-2008 verilerine göre Afrika kökenli Amerikalılarda kolorektal kanser insidansı ve ölüm oranları Amerika'daki diğer tüm gruplara göre yüksektir. (32) Kolorektal kanser Doğu Avrupa Yahudilerinde sık görülmekle birlikte bu grubun %6'sında bu riski %18-%30 artıran I1307K APC (Adenomatöz Polipozis Koli) mutasyonu mevcuttur. (54,55,56,57,58)

2.1.2.4. Sigara

Akciğer kanseri riskini arttıran en önemli etmenlerden biri olan sigara, kolon ve rektum için de risk faktörleri arasındadır. Kolorektal kanser ölümlerinin %12'sinin nedeni sigaraya dayanmaktadır (59). Yapılan birçok çalışmada uzun süreli sigara kullanımının kolorektal adenom riskinin 2-3 kat yüksek olduğu gösterilmiştir (60). Sigara, kolorektal kanser lezyonlarının öncüsü olarak bilinen adenomatöz poliplerin oluşumu ve büyümesinde önemli bir etkiye sahiptir (61).

Sigara dumanı; heterosiklik aminler, polisiklik hidrokarbonlar ve nitrozaminler dahil çeşitli karsinojenler için önemli bir kaynaktır. Sigara dumanıyla kolorektal mukozaya ulaşan bu karsinojenler, ilişkili genlerin anlatımını değiştirebilir veya genetik hasara neden olabilmektedir. Bu bileşikler ile APC geni arasındaki ilişkiyi gösteren hayvan modeli çalışmaları yapılmıştır (42,62).

2.1.2.5. Fiziksel aktivite ve obezite

Fiziksel aktivite ve azalan kolon kanseri arasındaki ilişki en tutarlı bulgular arasındadır

Yapılan kohort ve olgu-kontrol çalışmalarının çoğunda fiziksel aktivite ile kolon kanseri riski arasında ters ilişki bulunmuştur (63,64,44). Sonuçlar düzenli fiziksel aktivite ve sağlıklı beslenmenin kolorektal kanser riskini azalttığı yönündedir. Hayatları boyunca düzenli aktivite gösteren bireyler en düşük riske sahiptir (2,65). Bununla birlikte düşük fiziksel aktivite ve kolorektal kanser riski arasındaki biyolojik mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır (66). Uzun vadede düzenli yapılan fiziksel aktiviteler metabolizma hızını arttırırken, kan basıncını ve insulin direncini azaltır (67).

Obezite de özellikle erkeklerde kolon kanseri riskini arttırabilir (44).

2.1.2.6. İnflamasyonlu Bağırsak Hastalıkları

Inflamatuvar bağırsak hastalığı olan kolorektal kanserli bireylerin ölüm oranı sporadik kolorektal kanserli hastalardan daha yüksektir (68).

İnflamasyonlu bağırsak hastalıklarının en önemli ikisi olan ülserativ kolit ve Crohn hastalığı kolon ve rektum mukozalarının iltihaplanması olarak tanımlanır. Bu durum bireyin kolon kanserine yakalanma riskini 4-20 kat artırır (8). İnflamasyon kolorektal kanser gelişiminde önemli bir risk faktörü olmakla birlikte yıllık görülen tüm kolorektal kanserlerinin %2sinin daha azından sorumludur. IBH tanısı konulduktan 8-10 yıl sonra CRC riski artmaya başlar (68). Ancak bu yatkınlığı açıklayan genetik bir temel tanımlanmamıştır (42).

2.1.2.7. NSAİİ Kullanımı

NSAİİ kolorektal kanser ve adenomatöz poliplere karşı koruyucu ajanlar olarak görev yaptığı bilinmektedir (1). Yapılan vaka-kontrol ve kohort çalışmalarıyla aspirin dahil NSAİİ düzenli ve belirli dozda kullanımının kolorektal kanser riskini ve ölüm oranlarını azalttığı gösterilmiştir (70,71,72,73).

Kolon kanseri insidansını azaltmada, NSAİİ etki mekanizmasının tamamen bilinmemesine rağmen NSAİİ kullanımının KRK üzerindeki etkisini gösteren birçok hayvan deneyi mevcuttur. Kemirgenlerde COX-2'yi (cyclooxygenase-2) inhibe eden NSAİİ'lerin kanser oluşumunu da (karsinogenezi) inhibe ettiği gösterilmiştir (69). NSAİD ler COX-2 yi baskılar ve FAP'li (Ailesel Adenomatöz Polip) bireyler de dahil polip büyümesini inhibe eder. COX-2 inhibisyonu ise, epitelyal çoğalmayı apoptos ve anjiyogenez üzerine etki etmektedir (44).

2.1.2.8. Alkol

Alkol tüketiminin kolorektum dahil çeşitli sindirim sistemi organlarında görülen kanser riski ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Alkolün kendisi karsinojen olmamasına rağmen tümör destekleyici olarak işlev görebilir (74). Önemli bir alkol metaboliti olan asetaldehit karsinojen olabileceği gibi sigara ile etkileşime girerek DNA da spesifik mutasyonlara neden olabilmektedir (59,60). Bunun yanında alkolün çözücü etkisinin olması diğer karsinojenlerin mukoza hücrelerine geçişini kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Ayrıca alkol; lipid peroksidasyonu, prostaglandinler ve serbest O₂ radikali üretimine etki edebilir (60,1).

2.1.2.9. Aile Hikayesi

Kolorektal karsinomaya neden olan 3 temel risk faktörü; kalıtsal, ailesel ve sporadik kolorektal adenomlardır. Kolorektal kansere yakalanan bireylerin %20-25'inin aile bireylerinde bu kanser türüne yakalanma hikayesi mevcuttur. 60 yaş altında olan birinci derece akrabalarında kolon kanseri öyküsü bulunan bireylerin ve herhangi bir yaşta olup iki veya daha fazla birinci derece akrabasına kolon kanseri teşhisi konmuş olan bireylerde KRK riski oldukça yüksektir. Etkilenen aile bireylerinin yaşları küçüldükçe bu risk de oldukça artmaktadır (42,75,76,77,1). Bu risk artışının nedenleri açık olmasa da büyük olasılıkla kalıtılan genler, paylaşılan çevresel faktörler veya bunların bir kombinasyonunun etkili olduğu düşünülmektedir (1).

2.1.2.10. KALITSAL FAKTÖRLER

Kolorektal kanserlerin yaklaşık %5-10'u kalıtsal faktörlere dayanır. Bunların en bilinenleri Ailesel Adenomatöz Polipozis (FAP) ve Kalıtsal polipozis olmayan kolorektal kanser (HNPCC) diğer adıyla Lynch Sendromudur (2,78).

HPNCC

Lynch sendromu olarak da bilinen HNPCC, en sık görülen herediter KRK sendromudur ve tüm vakaların %2-3'ünü oluşturur. HNPCC ye yol açan tüm mutasyonlar içinde en sık görülenler DNA tamir genlerinden MLH1 ve MSH2 deki mutasyonlardır (79,80). HNPCC ilişkili mutasyonları taşıyan bireyler yaşam boyu %80 risk (81) taşımaktadırlar. MLH1 ve MSH2 genlerindeki mutasyonlar diğer kanser türleri için de riski artırmaktadır (2)

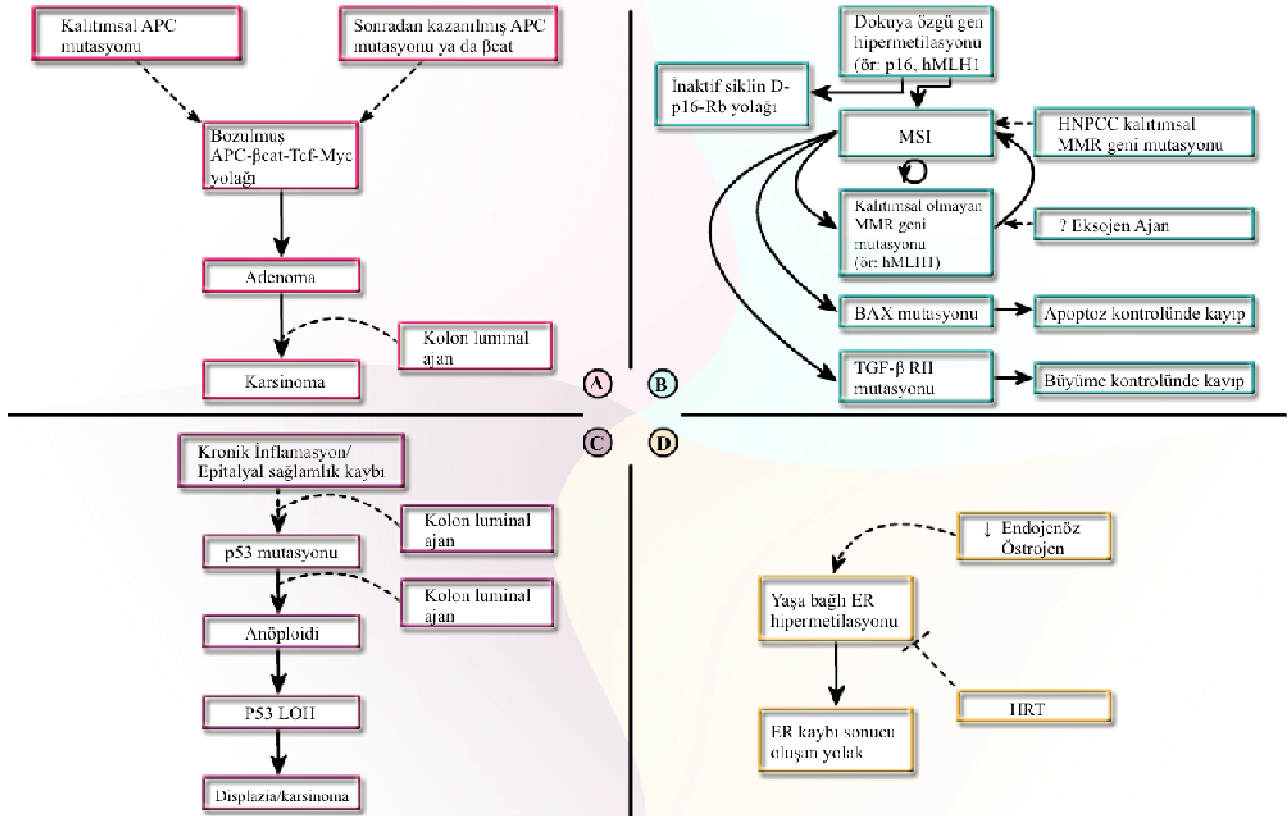
FAP (Ailesel Adematöz Polip)

FAP tüm kanser olguları arasında %1'inden daha az görülür. (7) KRK gelişimi için yaşam boyu risk oldukça yüksektir (83). FAP, otozomal dominant kalıtılır (84). FAP ile ilişkili mutasyon, kromozom 5q21 uzun kolundaki tümör baskılayıcı gen olan APC geninde oluşur. Genellikle bağırsak lümeni boyunca yüzlerden binlere kadar değişen sayıda kolorektal adenomatöz polipe rastlanır ve polipler erken yaşta ortaya çıkar. (85,86)

2.1.3. KOLOREKTAL KANSERİN MOLEKÜLER MEKANİZMASI

Farklı fenotipleri barındıran çeşitli moleküler yollara sahip heterojen bir hastalık olarak tanımlanan kolorektal kanser, normal kolon mukozasının invaziv kansere dönüşümüne yol açan genetik ve epigenetik değişikliklerin adım adım birikimleri sonucu gelişir. Genetik ve epigenetik düzenlemeler ve modifikasyonlar hücre metabolizması, proliferasyon, diferansiyasyon, sağkalım ve apoptoz gibi sinyal yolları regülasyonunun kaybına yol açarlar (29,87).

Kolorektal kanser oluşumunda, KRK hücrelerinde ‘adeno-karsinoma sekansı’ adı verilen olaylar serisi gelişir. Bu olaylar serisi normal kolonik epitelin transformasyonu ile başlar ve adenomatöz ve adnokarsinomaya kadar devam eder (30,5).

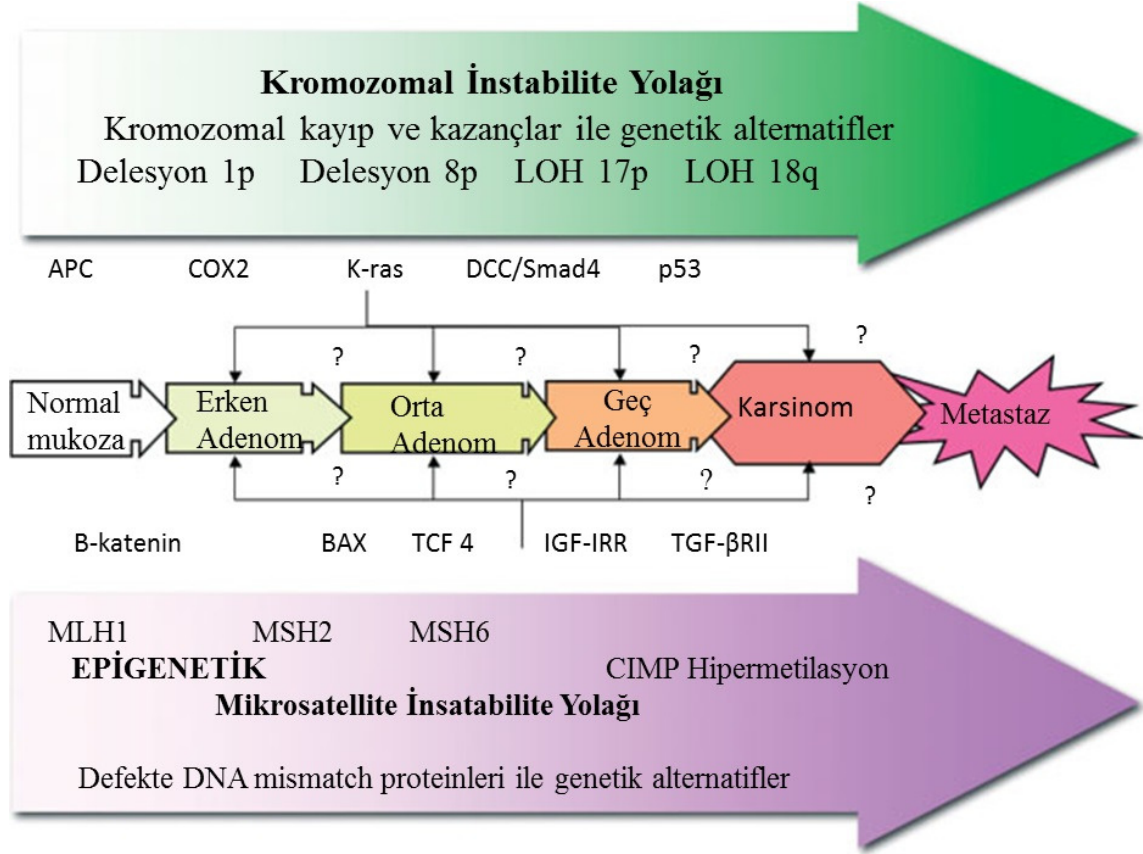


Şekil 2-3: Kolorektal kanser mekanizmasındaki 4 temel yolak (44)

Bu süreçte önemli rol oynayan genomik instabilitenin oluşumu ile ilgili günümüze kadar, 3 moleküler mekanizma tanımlanmıştır. Bunlardan birincisi, CRC'deki genomik instabilitenin en sık nedenlerinden biri olan Kromozomal instabilitedir (CIN). İkincisi, herediter kanserlerin bir alt grubunda ve sporadik CRC olgularının %20'sinde gözlenen ve hasar onarım genlerindeki (MMR-Miss-match tamir) defektlerin yarattığı mikrosatellit instabilitedir (MSI). Üçüncü yolak ise birçok genin promoter bölgelerindeki CG dinükleotidlerinin uyumlu metilasyonudur ve CpG Adacık Metilatör Fenotipi (CIMP) olarak tanımlanır. (29,88)

MSI, kolorektal kanserlerin %6-15'inde meydana gelir ve DNA yanlış-eşleşme (miss-match) tamir genlerinde inaktivasyona neden olur (89). Mikrosatellit instabilite (MSI) HNPCC oluşumundaki temel olaylardan biridir. HNPCC MMR genlerinden birinde meydana gelen germline mutasyonlar sonucu oluşur (90) Bu mutasyonlar, 3p21 kromozomundaki yer alan MLH1 geninde, 2p21-22 kromozomunda yer alan MSH2 geninde, 7p22 kromozomunda bulunan PMS2 geninde ve 2p16 kromozomunda yer alan MSH6 geninde meydana gelebilir (29,78,91,92).

MMR genlerindeki somatik mutasyonlar ve MMR lerin hipermetilasyon yoluyla susturulmaları ise sporadik CRC lerin %15 inden sorumlu tutulmaktadır. Tanımlanmış MMR ailesi üyeleri, MSH2, MLH1, MSH6, PMS2, MLH3, MSH3, PMS1 ve Exo1 dir. (2,93,7) Sporadik CRC genelde MLH1 geninin hipermetilasyonla susturulması sonucu oluşur.



Şekil 2-4: Kolorektal kanserde MSI ve CIN yolakları (7)

KRK vakalarının %50'sinden daha fazla görülen kromozomal instabilite; (89) kolorektal karsinogeneizde önemli rol oynayan genlerin bulunduğu kromozom bölgelerinde ya da kromozomun tümünde kayıp ya da kazançların oluşumuna neden olur. Kromozomal instabilite; anöploidi, telomer disfonksiyonu ya da DNA hasar onarım cevabındaki defektler sonucu oluşur. Bu durum; kromozom sayısında dengesizliğe, kromozomal genomik amplifikasyonlara ve yüksek oranda LOH'ye (heterozigotluğun kaybolmasına) yol açar (29,94,30). 7,8q,13q,20 ve X kromozomlarında kromozom kolunun yarısından fazlasını içeren amplifikasyonlar; 1,4,5,8p,15q,17p,18,20 ve 22q da ise aynı şekilde delesyonlar saptanmıştır (95). 5q, 17p, 18q ve allel kaybı APC, DCC/SMAD4 ve TP53 inaktivasyonunu kolaylaştırırken, 18q allel kaybı aynı zamanda evre II ve III CRC'ler için kötü prognoz belirticidir (94,96,97,98).

CpG adaları, sıklıkla genlerin transkripsiyon başlangıç bölgelerindeki yüksek frekansta 'CG' dinükleotidlerini içeren nükleik asit bölgeleridir. Bu bölgelerde hipermetilasyon yaygındır (99). Kolorektal karsinogenezde yer alan APC, MCC, MLH1, MGMT ve diğer bazı genlerin DNA hipermetilasyonu yoluyla susturuldukları keşfedilmiştir. CIMP-yüksek olan kolorektal kanserler tüm CRC'lerin %15-20'sini oluşturur (29,100,101).

5.kromozomun uzun kolunda (5q21) yer alan APC geninde hem sporadik hem de kalıtsal kolorektal kanserin gelişiminde önemli role sahip mutasyonlar belirlenmiştir. (102,103).

APC geni, epitelyal homeostazın önemli bir regülatörü olan APC proteinini kodlar. APC özellikle sitoplazmik beta kateninin yıkımını düzenler (104,105). APC ve beta katenin, kolorektal tümörögenizde önemli rol oynayan Wnt sinyal yolunun bileşenlerindendir (106,107). APC mutasyona uğradığında, sitoplazmada beta katenin birikir ve Tcf ailesi transkripsiyon faktörlerine bağlanır. Bu yolla, proliferasyon, diferansiyasyon, migrasyon ve apoptozdan sorumlu çeşitli genlerin anlatım durumlarını değiştirir.

APC ayrıca, mikrotübül stabilizasyonunu ve hücre döngüsünün ilerleyişinin kontrolünü sağlayarak kromozomal stabilitenin devamlılığında rol oynar (107).

Kolorektal karsinogenez normal epitel hücrelerinin premalign lezyonlara ardından invaziv ve metastatik kansere dönüştüğü çok basamaklı süreçtir (108,8). Karsinogenez süresince, kanser hücreleri kan ve lenf damarları gibi kendisine komşu yapılara invazyon yeteneği kazanırlar ve bu yolla metastaz yaparlar. Kolorektal kanserin invazyon ve metastaz sürecinde hücre adezyon molekülleri rol almaktadır (8,109). Adezyon molekülleri hücrelerin kendi aralarında ve hücrelerin alt tabakaları arasındaki etkileşimi sağlarlar. Adezyon molekülleri tümör invazyonu ve metastazının yanı sıra embriyogenesis ve hücre büyümesi ve farklılaşması, lökosit göçü, yara iyileşmesi, kan pıhtılaşması ve inflamasyon süreçlerinde de yer alır (9). Adezyon moleküllerinin bilinen 5 ailesi vardır. Bunlar: İntegrinler, kaderinler, immünglobulin süper gen ailesi, selektinler ve CD44 (110).

Kaderinler, hücre hücre adezyonunun majör belirleyicisidir. Kalsiyum bağımlı hücre-hücre adezyon molekülleri olan kaderinler transmembran özellikte glikoprotein yapılı moleküllerdir. Birbirleriyle genellikle homofilik, homotipik etkileşim içindedirler (111,112). Karşılıklı hücrelerde bulunan aynı kaderinler birbirine bağlanarak hücre-hücre adezyonunu sağlarlar (113). Klasik kaderin süper ailesine ait üyeler farklı genler tarafından kodlanmasına rağmen filogenetik ve yapısal olarak birbirleriyle ilişkili 16'dan fazla molekülden oluşurlar. Moleküler ağırlıkları yaklaşık olarak 120kDa'dur (8). Kaderinlerin bugün bilinen beş grubu vardır ve kaderinler üzerinde bulundukları dokulara göre isimlendirilirler. E-kaderinler epitel hücrelerinde, P-kaderinler plasentada, V-kaderinler vasküler endotelial hücreleri üzerinde, N-kaderinler nöral dokularda ve kas hücrelerinde, R-kaderinler retinada ifade edilirler (114).

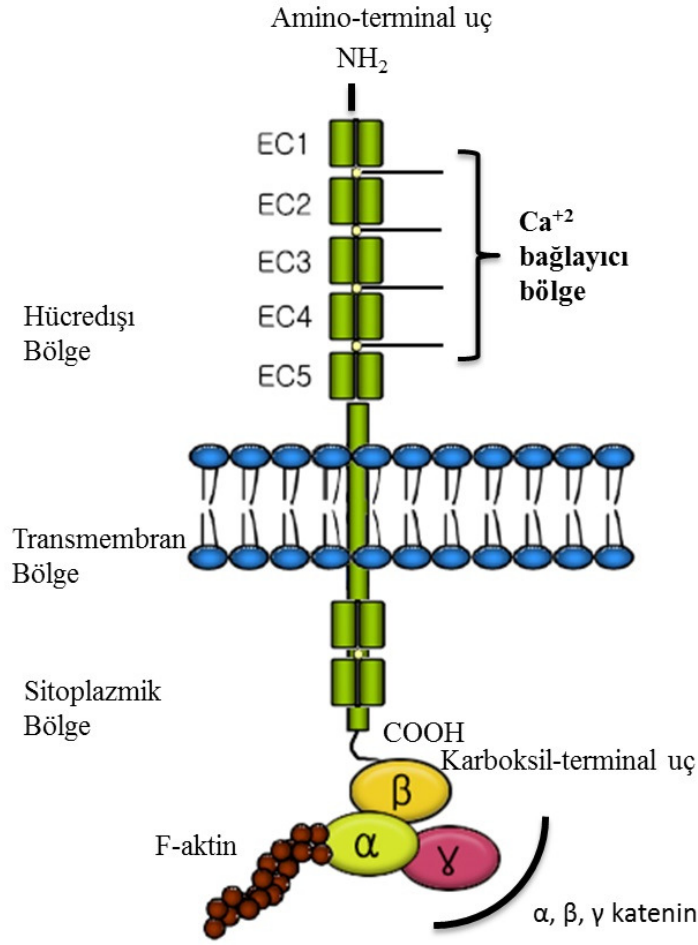
2.2. E-KADERİN

16q22 kromozomunda yer alan CDH-1 geni tarafından kodlanan E-kaderin, epitelyal hücrelerde ifade edilen transmembran bir proteindir ve esas olarak hücreler arasındaki tutunma bağlantılarının kurulmasından ve bu sayede doku bütünlüğünün devamından sorumludur. E-kaderin kompleks elementlerinin fonksiyon kaybı normal doku bütünlüğünün azalmasıyla sonuçlanır (114).

E-kaderin hücre yüzeyinde zonula adherens tipindeki bağlantılarda lokalize olma eğiliminde olup fermuar (zipper) konformasyonunun moleküler yapısının oluşturulmasında önemli rol üstlenir (8).

Kaderinlerin sitoplazmik yapısı kateninler olarak adlandırılan 3 sitoplazmik proteinle (α , β , γ) etkileşim içindedir (115). Alfa katenin, E-kaderin/katenin kompleksinin hücre iskeletine bağlanmasında önemli rol oynar. Alfa katenin, E-kaderine direkt olarak bağlanmaz ancak beta ve gama kateninler vasıtasıyla E-kaderin ile etkileşir (116).

E-kaderin-katenin kompleksi adherens junction yada zonula adherens olarak bilinen hücre-hücre temas bölgelerinde bulunur ve E-kaderinin normal fonksiyon görmesi için esastır (117).



Şekil 2-5: E-kaderin Yapısı (Rivard N. 2009)

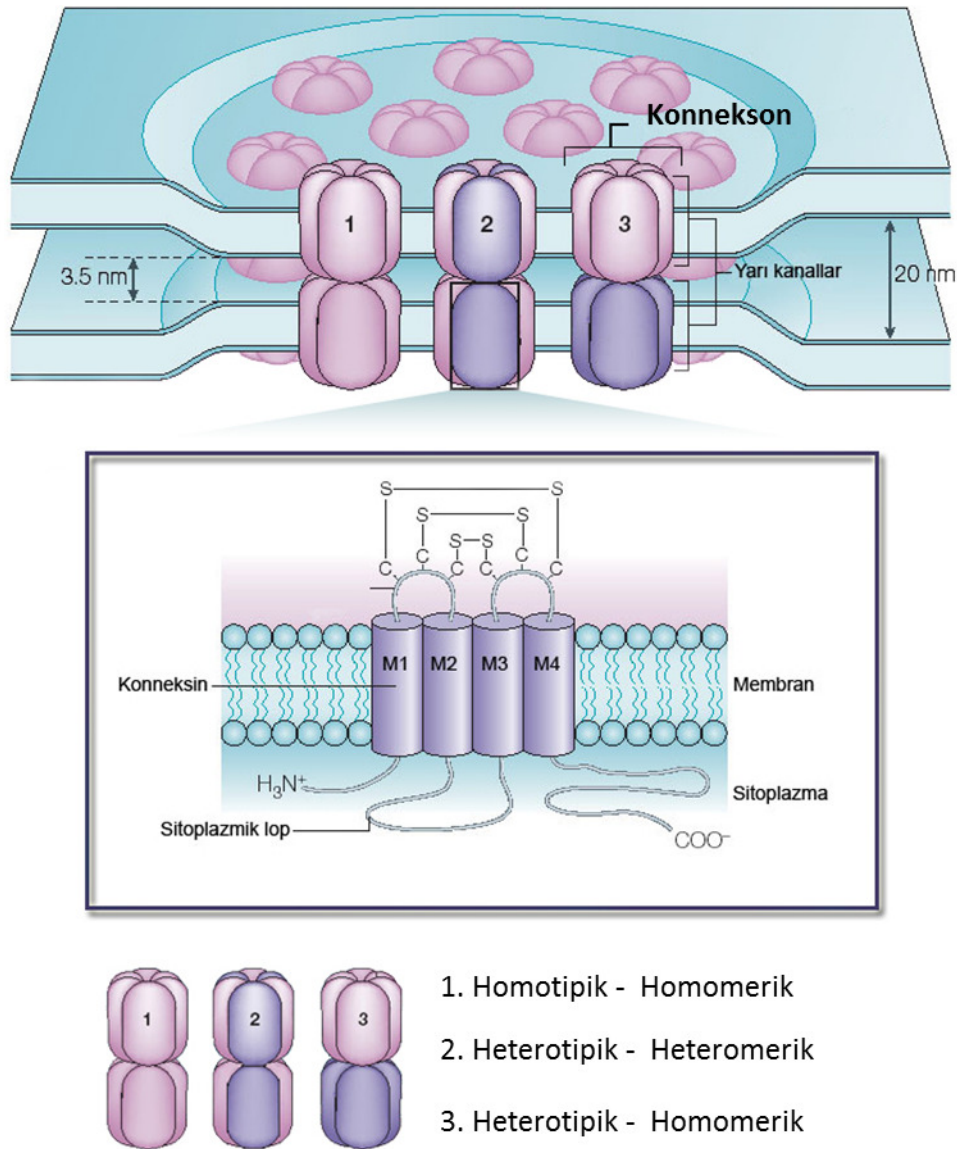
Mide, pankreas, baş ve boyun, mesane, prostat, kolorektal ve meme kanserlerinde azalmış ya da düzensiz E-kaderin ifadesi olduğu bilinmektedir (110). E-kaderin anlatımının azalması karsinomlarda kötü prognozla sonuçlanan potansiyel invazyon yeteneği ile korelasyon göstermektedir (8). Bu yüzden, E-kaderin gen anlatımının düzenlendiği moleküler mekanizmanın tanımlanması önemlidir.

2.3. GAP JUNCTION

WHO'nun yaptığı tanıma göre kanser, hücrelerin kontrolsüz büyümesi ve yayılmasıdır (118). GJIC lerin hücre büyümesi ve farklılaşmasındaki rolü nedeniyle kanser ve GJIC ler arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir (12).

Çok hücreli organizmaların büyümesi, farklılaşması, fonksiyon görme gibi birbirine bağlı süreçlerde esansiyel rol oynayan gap junctionlar, en basit şekliyle küçük moleküllerin komşu hücrelere geçmesini sağlayan hücre içi kanallar olarak tanımlanır (120). Başka bir ifadeyle birbirine yakın 2 hücrenin sitoplazmaları arasında bağlantı sağlayan aköz transmembran kanallardır (121)

Gap Junctionlar, konneksin adı verilen integral proteinlerden oluşur. Konneksinler hücre dışında 6 sistein kalıntısı içeren 2 düğüm (loop) den, hücre içinde ise bir sitoplazmik düğüm ve sitoplazma içine lokalize olmuş N ve C terminal uçlardan oluşur. Tüm konneksinlerin peptid zincirleri aynı N-terminal yapısına sahip olup 1 kez hücre içi, 2 kez hücre dışı döngü yaparak membranı 4 kez geçer. Konneksinler arasındaki en önemli farklılık sitoplazmik C-terminal domeninin uzunluğudur (122). C-terminal uç anahtar rol oynar ve protein protein etkileşimini sağlar (16). Sitoplazma içine gömülü olan amino ve karboksil uçlarında Protein kinaz C (PKC) ve Protein kinaz A (PKA)'nın fosforilasyonunu sağlayan özel kısımlar vardır.



Şekil 2-6: Gap Junctionların Yapısı (Söhl ve ark. 2004)

Birçok doku ve hücre tipi iki ya da daha fazla konneksin üyesini eksprese eder. 6 konneksin 1 konneksiona oligomerize olur. Farklı ya da aynı konneksinler birleşerek homotipik, heterotipik veya heterotipik/heteromerik düzenlemeler içinde kenetlebilir. Toplamda, konneksin ailesinin iki üyesi birleştğinde 14 kadar değişik konneksion düzenlemesi oluşabilir (123).

Konneksin ailesi üyeleri genel olarak küçük metabolitlerin, ikincil mesajcılarının, elektrik sinyallerinin hücre içi değişimine izin vermekle görevlidir ve kanalların fonksiyon çeşitliliği konneksinlerin eksprese edildiği hücrenin yerine göre değişir (124). Bu kanalların yapıları farklı olmasına rağmen hepsi sadece cAMP, cGMP, IP3, adenosine, ADP ve ATP gibi 1kDa'dan küçük moleküllerin geçişine izin verir (120). Özellikle, küçük moleküller boyut, şekil ve elektriksel yük bakımından değişkenlik gösterdiklerinden değişik türdeki gap junctionlardan geçirilirler veya geçirilmezler, bu da boşluklar arasından geçme konusunda geniş bir seçicilik olmasına sebep olur (125,126,127).

Konneksinlerin hücre döngüsünün ve apoptozun düzenlenmesinde rol alan proteinlerle direkt etkileşim halinde olduğu ve bu yolla hücre büyümesini düzenleyebildiği yönünde çalışmalar mevcuttur (18,19,20).

20 den fazla gen içeren konneksin süper ailesinin insanlarda 21 üyesi bulunmaktadır. Konneksin ailesi üyelerinden en yaygın şekilde eksprese edilen ise konneksin Cx43'tür (21). Cx43'ün 35 ayrı dokuda ve kardiyomisit, keratinosit, astrosit, endotel hücreleri ve düz kas hücrelerinin de dahil olduğu 35ten fazla hücre türünde anlatımının yapıldığı bilinmektedir (123).

Cx43 ve diğer konneksin izoformlarının, tümörlerde sıklıkla baskılanmış olması, hücreler arası ara bağlantılar yoluyla iletişimin azalmasına neden olur. Birçok çalışmada Cx43'ün hücre büyümesi kontrolü ve farklılaşmasında önemli rol oynadığı ve insan kanserlerinde düzenlenmesinde bozukluk olduğu gösterilmiştir.

Çalışmalarda kolorektal kanserin önlenmesi ve tedavisinde prognostik bir işaret ve hedef olarak Cx43'ün değerlendirilmesi önemli olacaktır (18).

Bu sebepten dolayı Cx43'ün biyosentezine, post-translasyon modifikasyonlarına, sentezlenmesine, turn-over ve kanal oluşumuna dair birçok çalışma yapılmıştır. (123).

2.4. SELENYUM (Se)

Coğrafya ve göçe bağlı olarak kolorektal kanserin görülme sıklığındaki değişimler beslenme şeklinin kolon kanseri etiyolojisinde önemli rol oynayabileceğini akla getirmektedir (128,129,130). Selenyum, başlıca tahıllarda, buğdayda, süt ürünlerinde, ette ve balıkta bulunur (131). Diyet ve içme suyu ile alınan günlük ortalama selenyum miktarı 71µg-152µg arasında değişmektedir (132).

Se, kanser önleyici bir madde olarak uzun bir geçmişe sahip önemli bir eser elementtir. Selenyumun kanseri önleyici etkileri olduğunu gösteren çok sayıda çalışma yapılmıştır (133,134).

Se, konsantrasyonuna ve kimyasal şekline bağlı olarak bazı kanserlerde tedavi edici bazı kanserlerde de önleyici olabilir. Se, hücre büyümesini düzenler ve düşük konsantrasyonda büyüme için gerekli iken yüksek konsantrasyonda olduğunda hücre büyümesini engeller. Engelleyici etkileri tümöre özeldir ve selenyumun normal hücrelerin canlılığını etkilemeyen konsantrasyonları malignan hücrelerde apoptoza neden olur (135).

Selenyum birçok biyokimyasal yolda yer alır, çeşitli formlarda var olabilir ve farklı metabolitler oluşturabilir (136). Birçok biyokimyasal/biyolojik süreç belirlenmiş olsa da temel moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir (137). Epidemiyolojik çalışmalar, selenyum (Se) alımı ve kanser sıklığı ve / veya ölüm arasında ters bir ilişki olduğunu göstermiştir (138). Apoptozis, hücre döngüsünün durdurulması ve DNA onarımı gibi birçok etki mekanizmalarıyla karsinogenezi inhibe ettiği düşünülmektedir (23,139). Selenyum bileşenleri karsinogenez sürecinin farklı aşamalarını etkileyebilir ve selenyumun formuna göre bu süreç değişebilir (135,137).

Yapılan bazı çalışmalar, serum Se seviyelerinin düşük olmasının özellikle meme, mide-barsak ve prostat kanserlerinin görülme riskini arttırdığı yönünde bulgular sunmaktadır (140,141,142). Yine Selenyumun bazı antioksidanların önemli bir bileşeni olarak, kolorektal adenomlara karşı koruyucu etkileri olduğu öne sürülmüştür (143).

Sonuçta Se konsantrasyona ve kimyasal şekline bağlı olarak tümör hastalıklarının tedavisinde ya da tümöral oluşumların önlenmesinde kullanılan etkin bir element olarak yer alabilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. HASTA ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI

Bu çalışmada, 3 örnek grubu kullanılmıştır. Birinci ve ikinci grup gen anlatımı için kolorektal kanser tanısı konmuş 31 hastanın cerrahi operasyonla alınan, tümörlü ve tümörlü olmayan çevre dokularından ve selenyum ölçümü için bu hastaların 10ml'lik kuru tüpe alınan kan örneklerinden oluşmaktadır. Üçüncü grup ise selenyum ölçümü için kontrol olarak kullanılan ailesinde kanser öyküsü olmayan bireylerin kan örneklerinden oluşmaktadır.

Kolorektal kanserli bireyler, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Cerrahi Kliniği tarafından takip edilen kadın ve erkek hastalardan seçilmiştir. Hastaların klinik parametrelerine göre değerlendirilmeleri, doku örneklerinin sağlandığı klinik tarafından yapılmıştır.

Çalışmaya katılacak olan gönüllülere ameliyat öncesi, yapılacak araştırma ile ilgili bilgilendirilmiş gönüllü onam formu okutularak imzalatıldı. Hastalardan operasyon sırasında alınan doku örnekleri RNA later içeren kriyojenik tüplere alınarak, İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı'na soğuk zincirle ulaştırıldı.

Doku örneklerinden kit protokolü uygulanarak RNA izolasyonu yapıldı. Nanodrop spektrofotometresi kullanılarak, elde edilen RNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları ölçüldü. RNA'lar konsantrasyonları 100ng/µl olacak şekilde sulandırıldı. İzole edilen RNA'lar çalışma yapılana kadar -80°C derin dondurucuda saklandı. Selenyum ölçümü için ise hasta ve kontrol grubundan toplanan kanlar 3000rpm'de 5dk santrifüj yapıp serumlarına ayrılarak çalışma süresince -80°C derin dondurucuda saklandı.

İSTATİSTİK ANALİZ

Elde edilen datanın analizi SPSS 11.0 programıyla incelenerek yapıldı. İncelemede ekspresyonel değerlendirmelerin gösterimlerinde Mann-Whitney U-testi ve Selenyum ölçüm sonuçları için de student t-testi kullanıldı.

3.1.2. KULLANILAN KİMYASALLAR

Etil Alkol %99'luk	(MERCK)
Beta Merkapt Etanol	(GIBCO)
RNasezap	(AMBION)
HCl	(MERCK)
NaBH ₃	(MERCK)
NaOH	(MERCK)

3.1.3. KULLANILAN KİTLER

Applied Biosystems cDNAsentez kiti

Ambion RNA İzolasyon Kiti

3.1.4. KULLANILAN CİHAZLAR

Derin Dondurucu	(-80) DaihanScientefic
Buzdolabı	(-20) Regal
Buzdolabı	(+4) Arçelik
Real Time PCR Cihazı	AgilentTecnologiesStratagene Mx3005p
Hassas Terazı	Shimatzu
Santrifüj	Nüve Mf 048
Magnalyser	Roche
AAS Cihazı	ThermoScientific
DNA/RNA UV Cleaner Kabin	Biosan
Vorteks-Mikrospin	Biosan
Termal Cycler	Biorad
Spektrofotometre	Nanodrop
Otomatik Pipet Seti	Gilson

3.2. YÖNTEM

3.2.1. RNA İZOLASYONU

3.2.1.1. Homojenizasyon

Donmuş doku örnekleri küçük parçalara ayrılır. $\approx 700-1000\mu\text{l}$ Lysis Buffer eklenerek MagnaLyser da 3000 rpm de 20-30sn süreyle homojenize edilir.

3.2.1.2. Kitle RNA İzolasyonu

Doku homojenatlarının her birine %70 etilalkol eklenir ve vorteks yapılır.

Homojenattan $700\mu\text{l}$ spin kolona alınır.

$12000g$ 'de 15sn santrifüj yapılır. Toplama tüpü boşaltılarak tekrar kullanılır.

2. ve 3. adım tekrarlanır (homojenat $700\mu\text{l}$ den fazla ise)

$700\mu\text{l}$ WashBuffer I eklenir.

$12000g$ de 15sn santrifüj yapılır ve yeni bir toplama tüpüne alınır.

$500\mu\text{l}$ WashBuffer II eklenir.

$12000g$ de 15sn ve toplama tüpü boşaltılarak tekrar kullanılır.

7. ve 8. adım tekrar edilir.

Membrana bağlı RNA'yı kurutmak için $12000g$ de 1-2dk santrifüj yapılır.

$30-100\mu\text{l}$ RNase-free su eklenir.

$12000g$ de 2dk santrifüj yapılır.

Elde edilen RNA -80°C 'de saklanır.

3.2.2. RNA KONSANTRASYONUNUN BELİRLENMESİ

RNA konsantrasyonunun ve saflığının tespit edilmesi için spektrofotometrede 260nm ve 280nm’de dalga boyunda ışığı soğurma(O.D) ölçümü yapıldı. 260nm’deki O.D/280nm’deki O.D oranı hesaplanarak RNA’nın saflık derecesi bulundu.

3.2.3. cDNA SENTEZİ

İzole edilen total RNA’dan uygun kitlerle cDNA sentezi gerçekleştirildi. cDNA sentezi sırasında kullanılan malzemeler ve miktarları tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3-1: cDNA PCR Karışım içeriği

Bileşenler	2X RT Tampon	20X Enzim Karışımı	RNA Örneği	Ultra saf steril su (H ₂ O)
Miktar	10µl	1 µl	1 µl	8 µl
Toplam Hacim	20 µl			

cDNA için PCR karışımı ve her biri 100ng/µl olan RNA örnekleri 0,2’lik tüplere dağıtıldıktan sonra Tablo 3.2’de belirtilen koşullardaki PCR cihazına yerleştirildi.

Tablo 3-2: cDNA için PCR Koşulları

	1.Adım	2.Adım	3.Adım
Sıcaklık (°C)	37	95	4
Zaman (Dk)	60	5	∞

Reaksiyon sonucu cDNA örnekleri Real-Time PCR’da kullanılıncaya kadar -20°C’ saklandı.

3.2.4. qRT-PCR YÖNTEMİYLE GEN ANLATIMI

E-Kaderin ve Konneksin-43 gen ifadelerinin Real-Time PCR ölçümü için Agilent Technologies Stratagene Mx3005p cihazı kullanıldı. Amplifikasyonlar 20 µL toplam reaksiyon hacmi içerisinde, cDNA, bölgeye özgü primerler, gen ekspresyon TaqMan probu ve TaqMan master mix kullanılarak gerçekleştirildi. E-kaderin ve Konneksin-43 gen ifadelerini normalize etmek için elde edilen cDNA örnekleri, β-aktin genine özgü primer ve gen ekspresyon TaqMan prob ve master mix kullanılarak çalışıldı. Real-time PCR tepkimesi karışımını hazırlamak için kullanılan maddeler Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3-3 : qRT-PCR Karışım İçeriği

Materyal	İlk Hacim
Steril Su	8µL
PZR-Hazır Karışımı	10µL
Primer (20X)	1µL
cDNA	1µL
Toplam Hacim	20µL

Tablo 3-4: qRT-PCR Sıcaklık Koşulları

qRT-PCR	Sıcaklık	Zaman	Döngü Sayısı
UDG İnkübasyonu	50°C	2dk	1
AmpliTaq Gold, UP Enzim Aktivasyonu	95°C	10dk	
Denatürasyon	95°C	15sn	40
Uzama	60°C	1dk	

3.2.5. SELENYUM ÖLÇÜLMESİ

Selenyum ölçümleri için Thermo Scientific Atomik absorpsiyon Spektrofotometresi ve cihaza ölçümü yapmak istediğimiz elemente özel ‘Se’ lambası kullanıldı. Kalibrasyon için ise bakır standardı referans alındı. 3,5 mg/L (ppm) bakır standardı 0,4 A verir.

Cihazın çalışma prensibi, temel düzeydeki element atomlarının UV-Görünür bölgedeki monokromatik ışınları Lambert-Beer yasasına göre absorblaması ilkesine dayanmaktadır. ASS’de, örnek sulu ortamda çözülür ve bu sıvının aerosola dönüştürüleceği havalı bir nebülazör ile aleve püskürtülür ve kaynaktan gelen ışın demetine maruz bırakılır. Işığı absorplayan atomlarda temel seviyedeki elektronlar, kararsız uyarılmış enerji düzeylerine geçerler ve absorpsiyon miktarı, temel düzeydeki atom sayısına bağlıdır.

Hazırladığımız standartlar insan serumundaki minimum ve maximum değerleri içine alacak şekilde hazırlanır. Standart çözeltiden yararlanarak çizilen standart eğrisinden örneğin absorbans değeri için gözlenen değer okunur ve konsantrasyon bulunur.

4. BULGULAR

İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Cerrahi Kliniği tarafından kolorektal kanseri tanısı konulan 15'i kadın 40'ı erkek toplam 55 olgu dahil edilmiştir. Gönüllülere önce yapılacak araştırma ile ilgili bilgilendirilmiş gönüllü onam formu okutularak imzalatıldı.

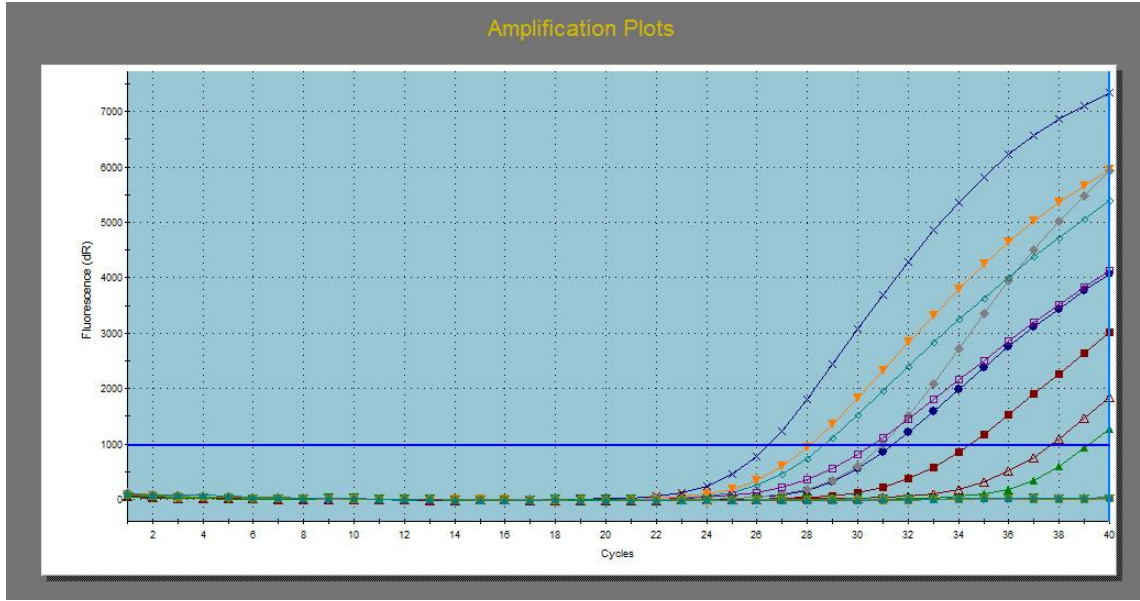
Tablo 4-1: Çalışma Gruplarına ait veriler

	Frekans	Yüzde (%)
Hasta		
Erkek	40	72.7
Kadın	15	27.3
Kontrol		
Kadın	18	40.9
Erkek	26	59.1
Yaş		
Hasta	62.9±11.8	
Kontrol	59.6±11.5	
Öz geçmiş		
<u>Hasta</u>		
Evet	4	7.3
Hayır	51	92.7
<u>Kontrol</u>		
Evet	0	0
Hayır	100	100

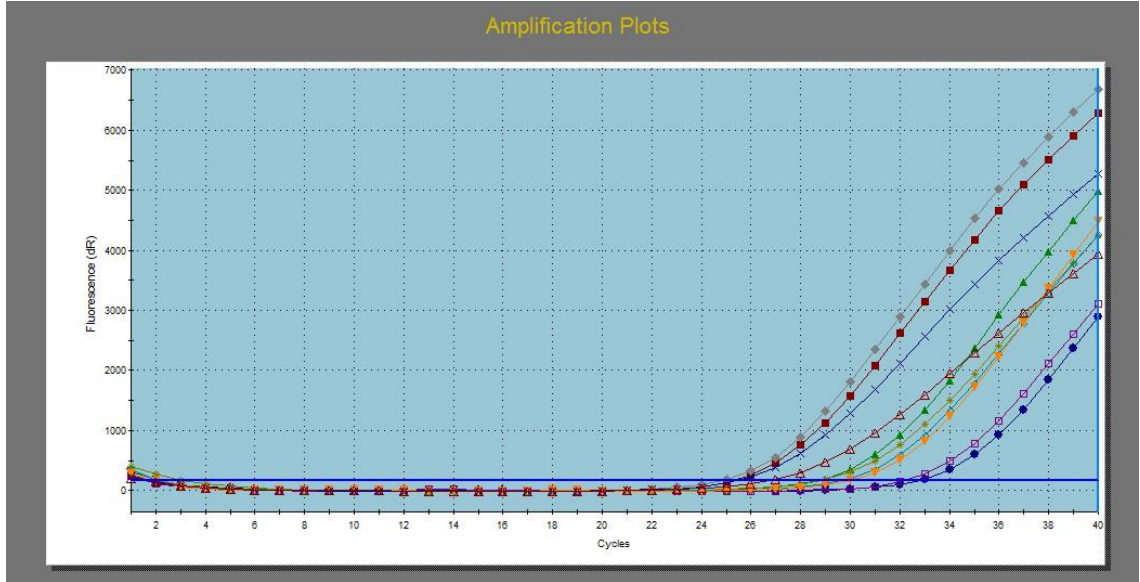
Tablo 4-2: Hasta grubuna ait veriler

Tümör Yerleşimi	Frekans	Yüzde (%)
Sol Kolon	3	6.8
Sağ Kolon	9	20.5
Transvers Kolon	3	6.8
Çekum	1	2.3
Rektum	6	13.6
Sigmoid	22	50
T Evresi		
T1	2	4.3
T2	8	17
T3	22	46.8
T4	15	31.9
Lenf Nodu Tutulumu		
N0	21	44.7
N1	17	36.2
N2	9	19.1
Uzak Metastaz Varlığı		
Var	23	48.9
Yok	24	51.1
Perinöral invazyon		
Var	12	26.7
Yok	33	73.3
Diferansiyasyon		
iyi	5	17.9
orta	18	64.3
kötü	5	17.9

Gen Anlatım Sonuçları:



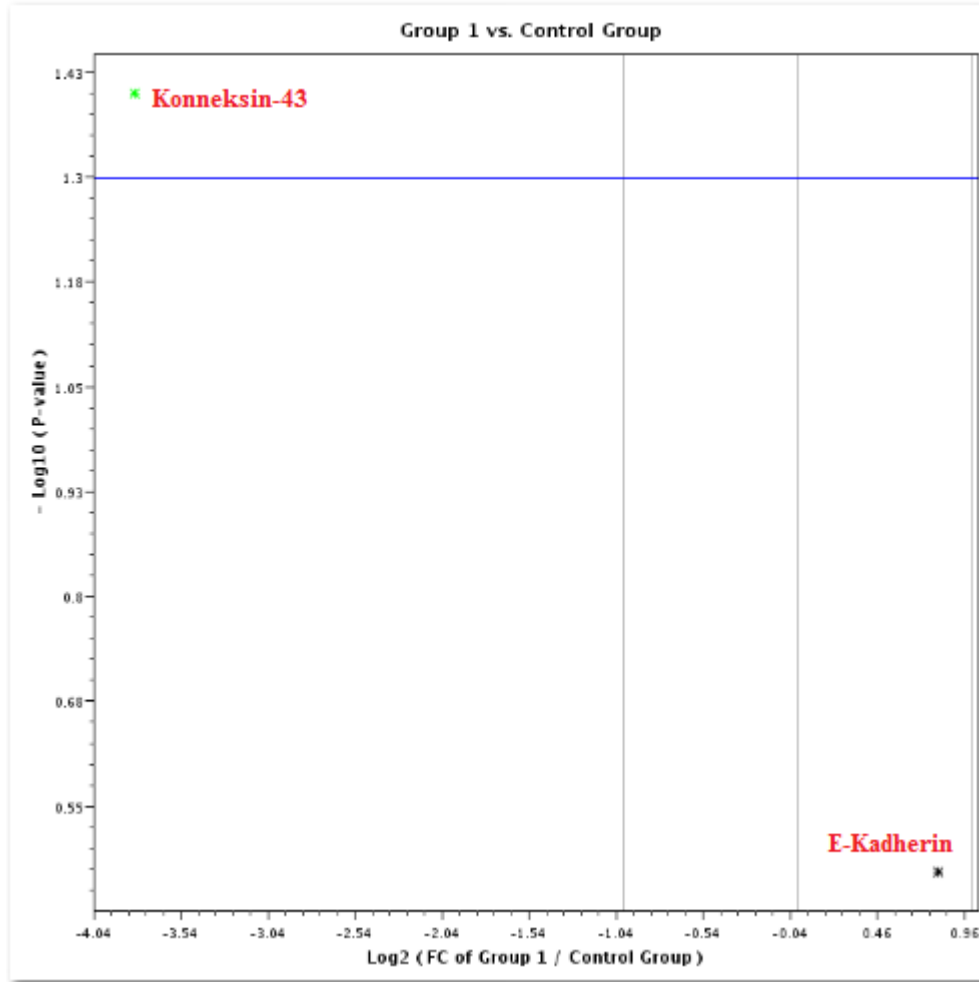
Şekil 7: E-Kaderin geni örnek amplifikasyon eğrileri



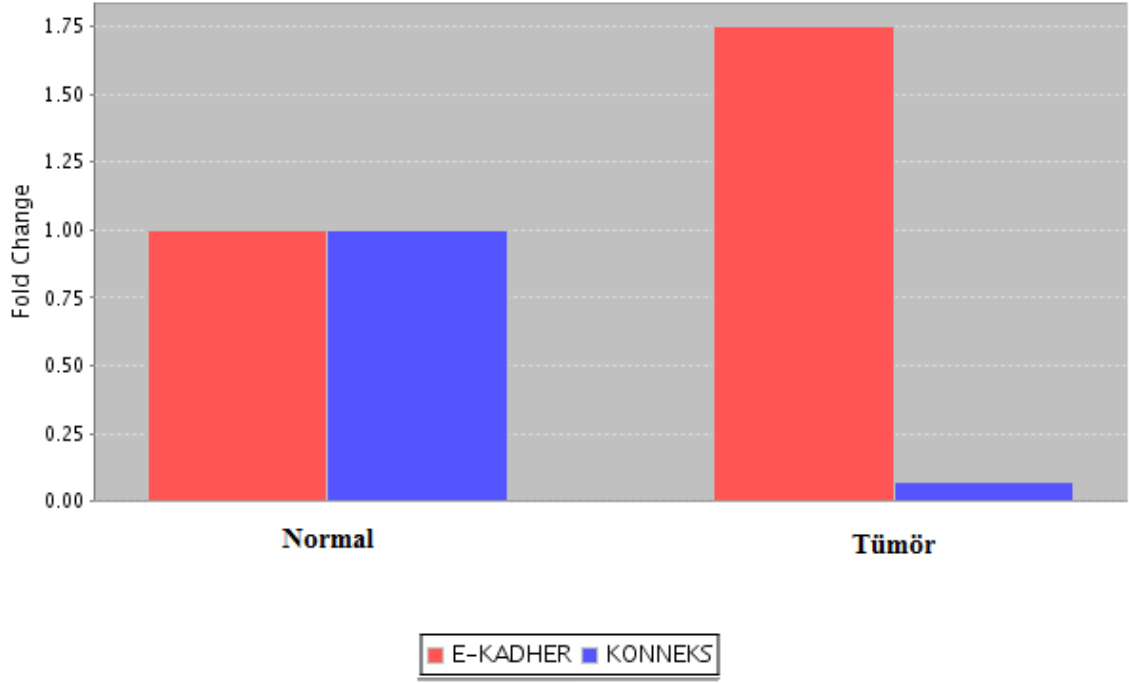
Şekil 8: Konneksin-43 geni örnek amplifikasyon eğrileri

Tablo 4-3: E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Normale Göre Tümörlü Dokularda Fold Change (Kat Değişimi) Değerleri

Gen	Log2 Fold Change	% 95 CI	Fold Change	% 95 CI	p Değeri	Fold Regulation
E-Kaderin	0,807	(-0,88-1,56)	1,750	(0,54-2,96)	0,336	1,750
Konneksin-43	-3.816	(-5,643- -3,058)	0,071	(0,02-0,12)	0,039	-14,052



Grafik 4-1: Normale Göre Tümörlü Dokularda Log2 Tabanına göre E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerine ait Volcano Plot Dağılım Grafiği

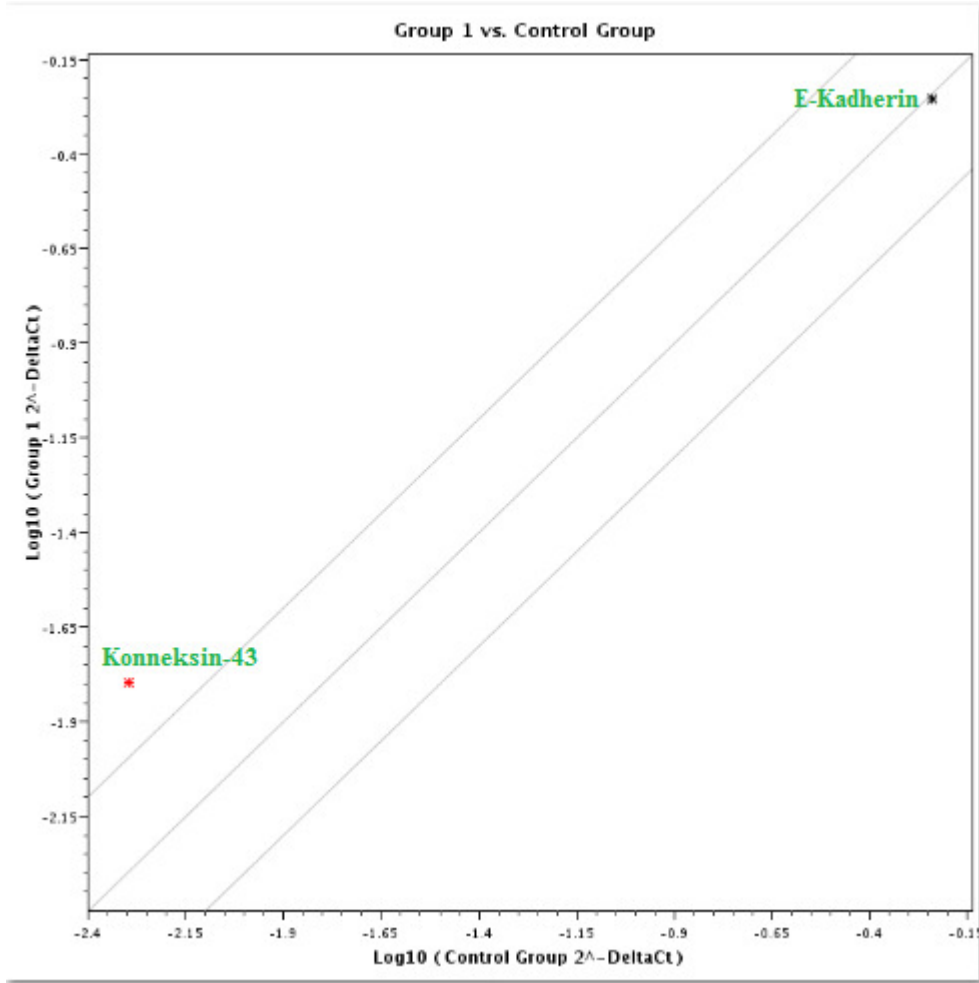


Grafik 4-2: E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Normale Göre Tümörlü Dokularda Fold Change (Kat Değişimi) Grafiği

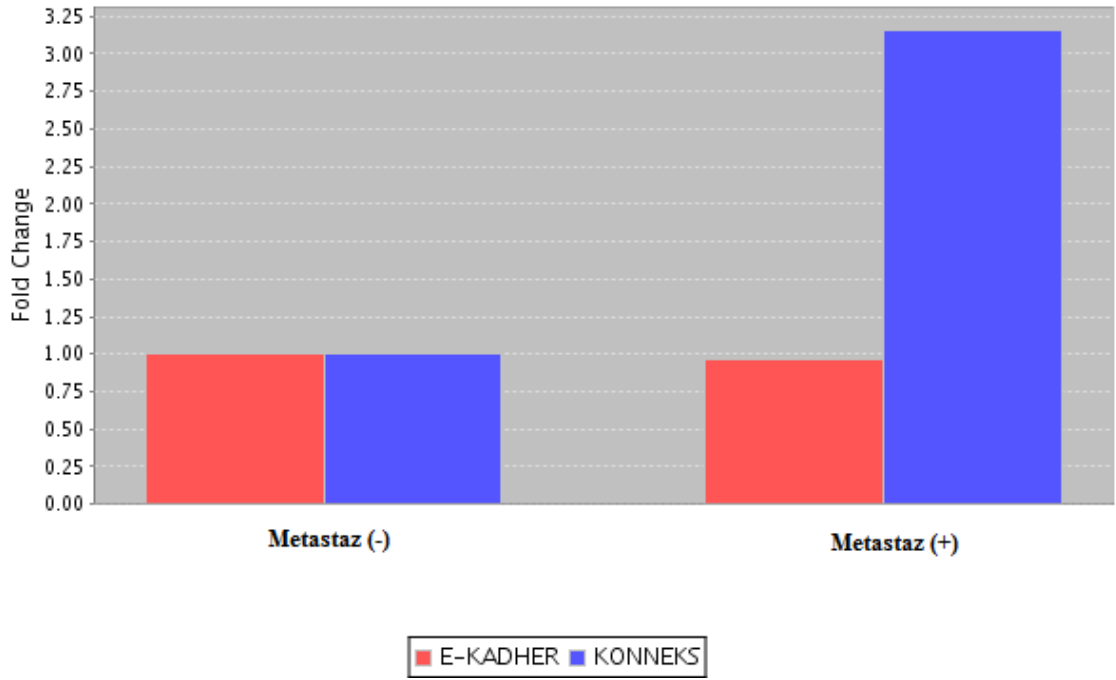
E-kaderin geninin tümör dokusunda normal dokuya göre 1,75 kat daha fazla ifade edildiği gözlemlendi. Konneksin-43 geninin ise tümör dokusunda normal dokuya göre 14 kat daha az ifade edildiği ve istatistiksel olarak da anlamlılık seviyesine ulaştığı tespit edildi ($p=0,039$).

Tablo 4-4: E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Metastaz Varlığına Göre Fold Change (Kat Değişimi) Değerleri

Gen	Log2 Fold Change	%95 CI	Fold Change	%95 CI	p Değeri	Fold Regulation
E-Kaderin	-0.049	(-2,556 - 0,81)	0,966	(0.17-1.76)	0,337	-1,035
Konneksin-43	1,658	(-0,64 - -2,503)	3,157	(0.64-5.67)	0,159	3,1578



Grafik 4-3: Metastaz Varlığına ve Log Tabanına göre E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerine ait Scatter Plot Dağılım Grafiği

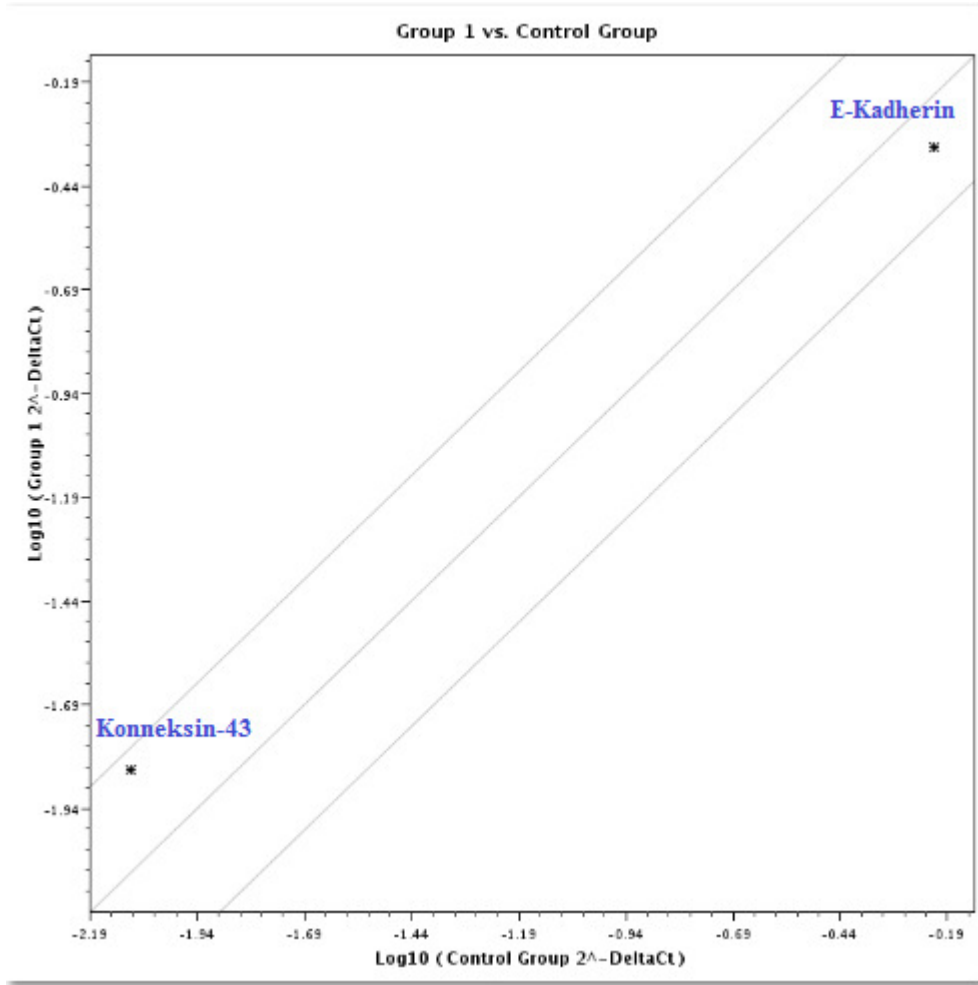


Grafik 4-4: E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Metastaz Varlığına Göre Fold Change (Kat Değişimi) Grafiği

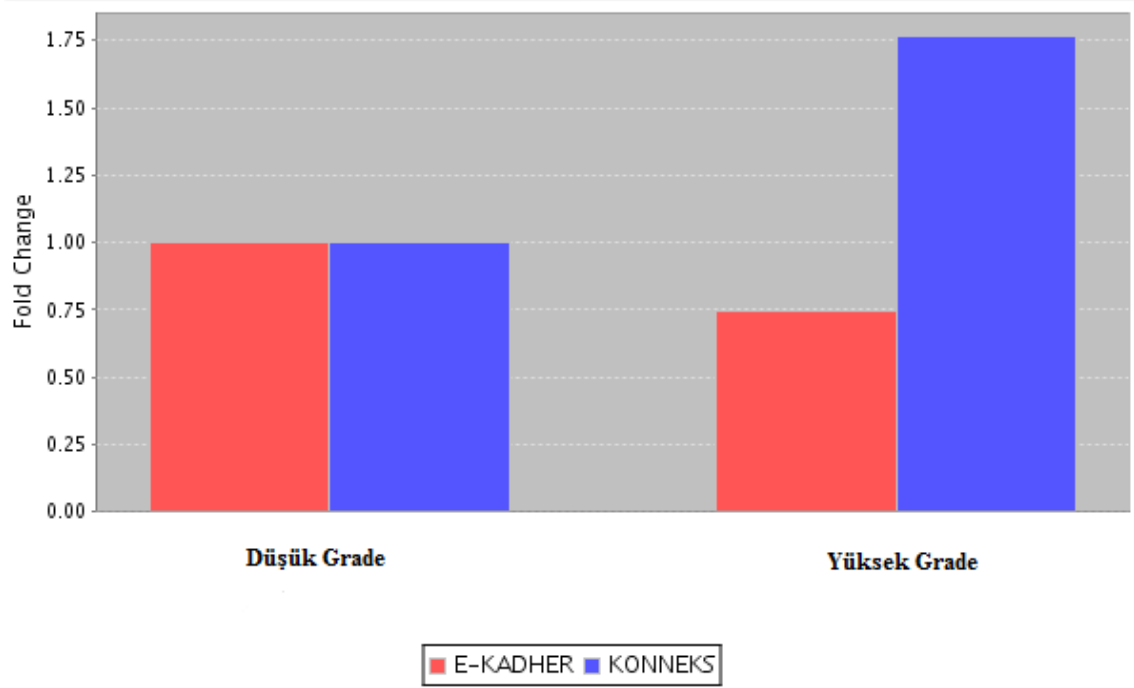
Tümör dokularında E-Kaderin ve Konneksin-43 gen ifadelerinin metastaz varlığı açısından karşılaştırılmaları sonucunda E-Kaderin geninin tümörlü dokuda 1,03 kat az, Konneksin-43 geninin ise 3,15 kat fazla ifade edildiği gözlemlendi. Fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilemedi ($p>0,05$).

Tablo 4-5: Düşük Grade Tümöre Karşı Yüksek Grade Tümör Varlığında E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Fold Change (Kat Değişimi) Değerleri

Gen	Log2 Fold Change	%95 CI	Fold Change	%95 CI	p Değeri	Fold Regulation
E-Kaderin	-0,418	(-4,321-0,536)	0,748	(0.05-1.45)	0,587	-1,336
Konneksin-43	0.820	(-16,609-1.933)	1,766	(0.00001-3.82)	0,720	1,766



Grafik 4-5: Tümör Düşük Grade Karşı Yüksek Tümör Grade Varlığında Log Tabanına göre E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerine ait Scatter Plot Dağılım Grafiği

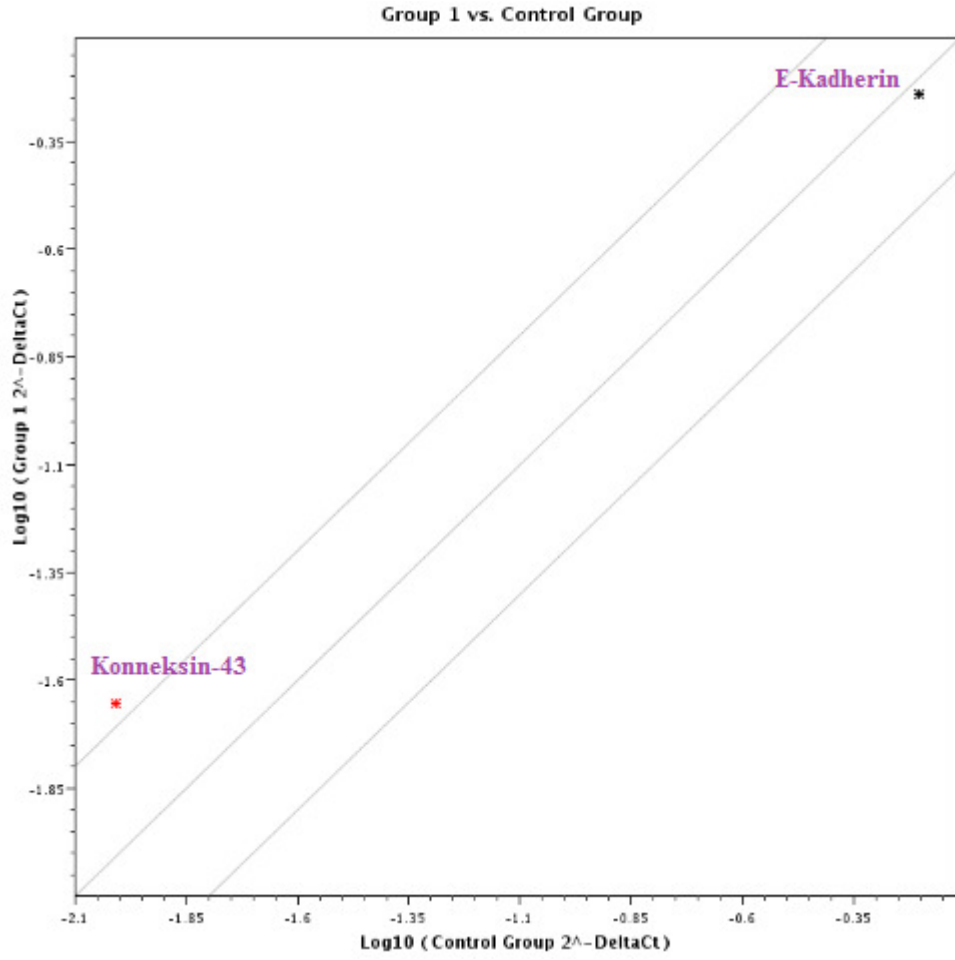


Grafik 4-6: E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Düşük Tümör Grade Varlığına Göre Fold Change (Kat Değişimi) Grafiği

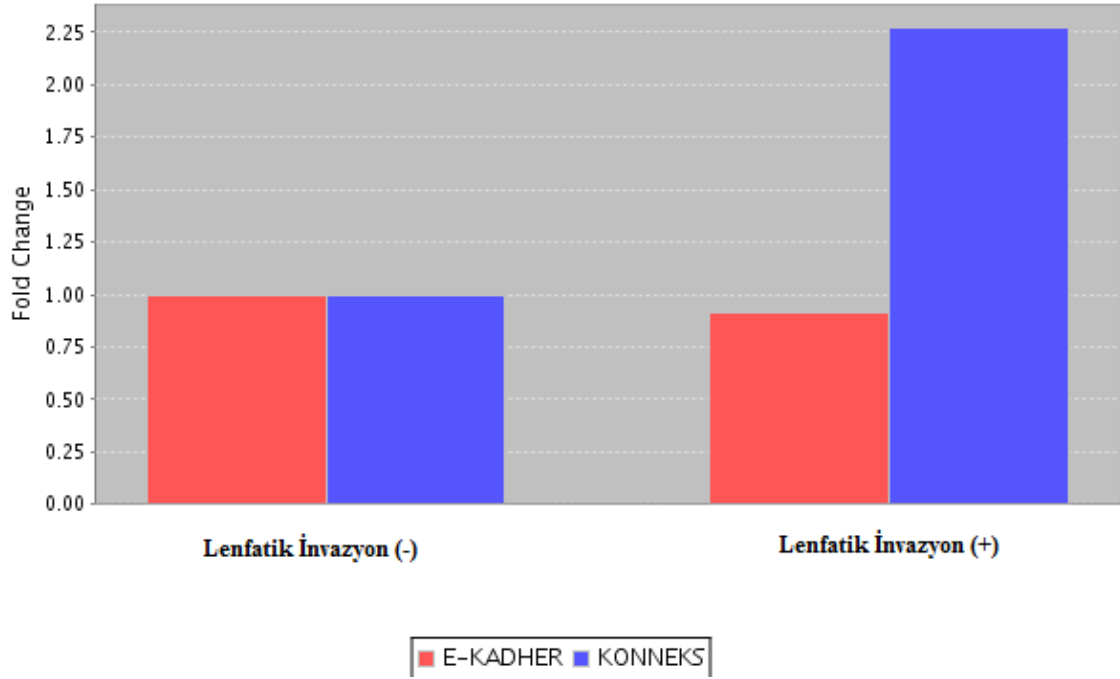
E-Kaderin ve Konneksin-43 gen ifadelerinin düşük grade sahip tümör dokusuna karşı yüksek grade tümör varlığında E-Kaderin geninin 1,33 kat az, Konneksin-43 geninin ise 1,76 kat fazla ifade edildiği gözlemlendi. Fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilemedi ($p>0,05$).

Tablo 4-6: Lenfatik invazyon Varlığında E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Fold Change (Kat Değişimi) Değerleri

Gen	Log2 Fold Change	% 95 CI	Fold Change	% 95 CI	p Değeri	Fold Regulation
E-Kaderin	-0,125	(-2,058-0.669)	0,9171	(0.24-1.59)	0,429	-1,090
Konneksin-43	1.183	(-0.971-2.014)	2,2726	(0.51-4.04)	0,076	2,272



Grafik 4-7: Lenfatik İnvazyon Varlığında Log Tabanına göre E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerine ait Scatter Plot Dağılım Grafiği

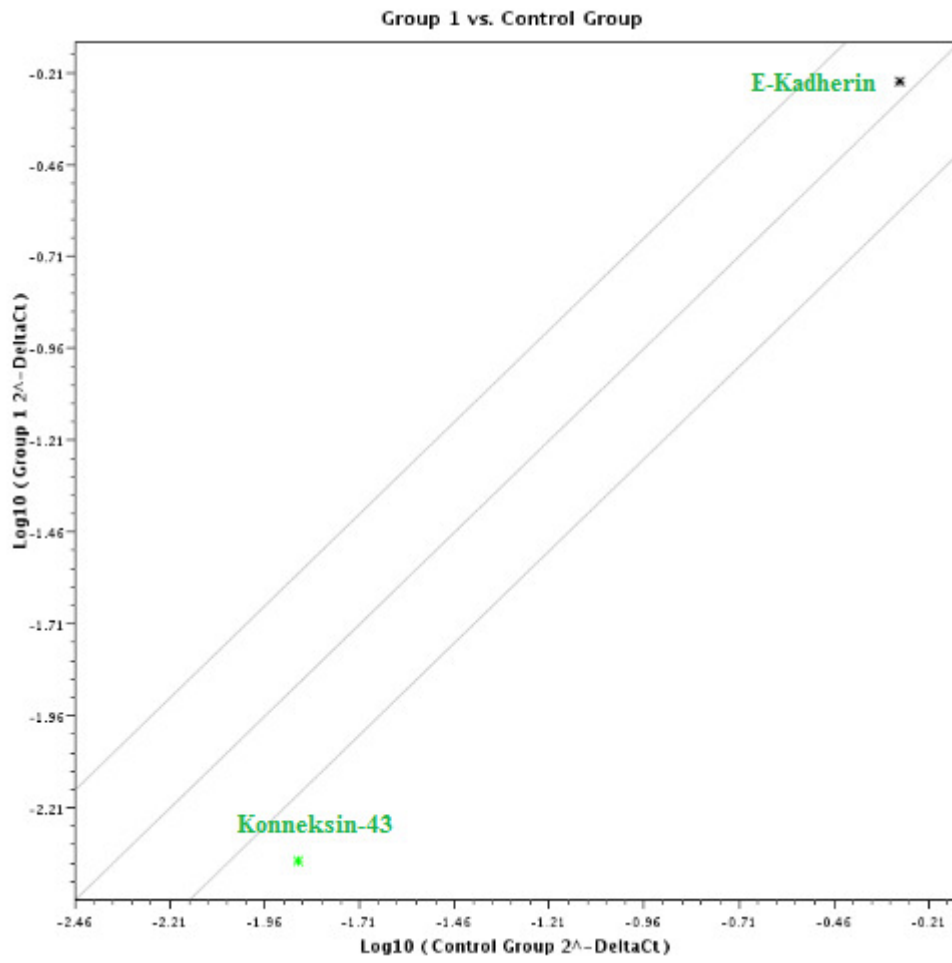


Grafik 4-8: E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Lenfatik İnvazyon Varlığına Göre Fold Change (Kat Değişimi) Grafiği

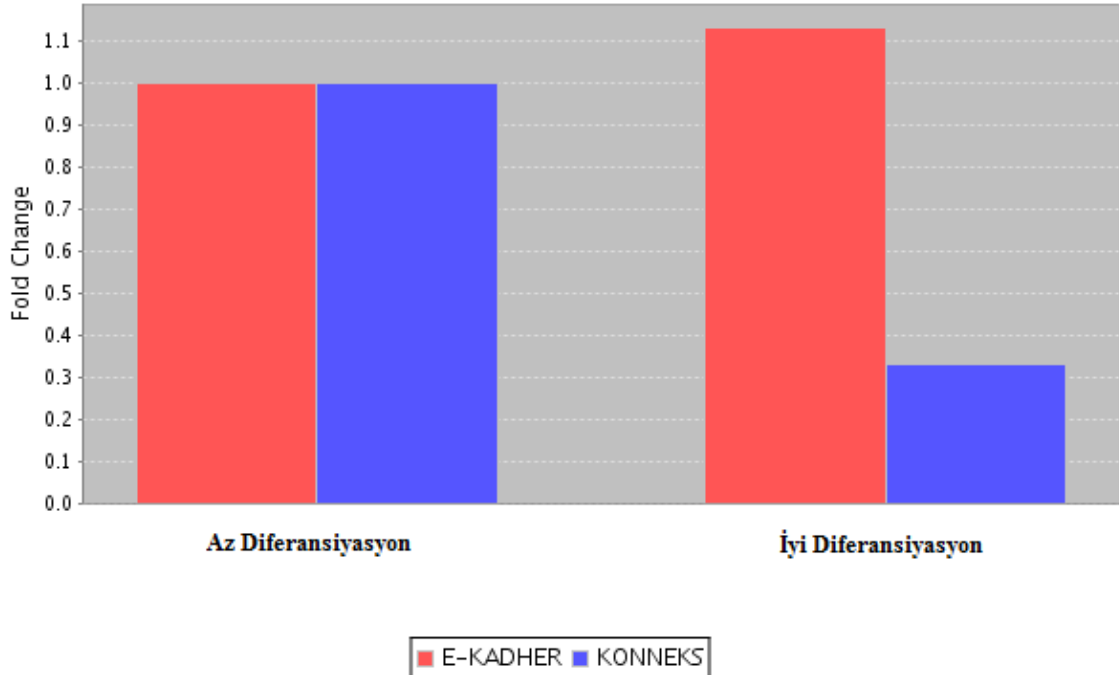
Tümör dokularında E-Kaderin ve Konneksin-43 gen ifadelerinin lenfatik invazyon varlığı açısından karşılaştırılmaları sonucunda E-Kaderin geninin tümörlü dokuda 1,09 kat az, Konneksin-43 geninin ise 2,27 kat fazla ifade edildiği gözlemlendi. Fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilemedi ($p>0,05$).

Tablo 4-7: Tümör Dokusundaki Diferansiyasyon Varlığına Göre E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Fold Change (Kat Değişimi) Değerleri

Gen	Log2 Fold Change	%95 CI	Fold Change	%95 CI	p Değeri	Fold Regulation
E-Kaderin	0,177	(-5,058-0,97)	1,131	(0,30-1,96)	0,449	1,131
Konneksin-43	-4,921	(-16,609- -0,234)	0,330	(0,00001-0,85)	0,860	-3,022



Grafik 4-9: Tümör Dokularında Az Diferansiyasyona Karşı İyi Diferansiyasyon Varlığında Log Tabanına göre E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerine ait Scatter Plot Dağılım Grafiği

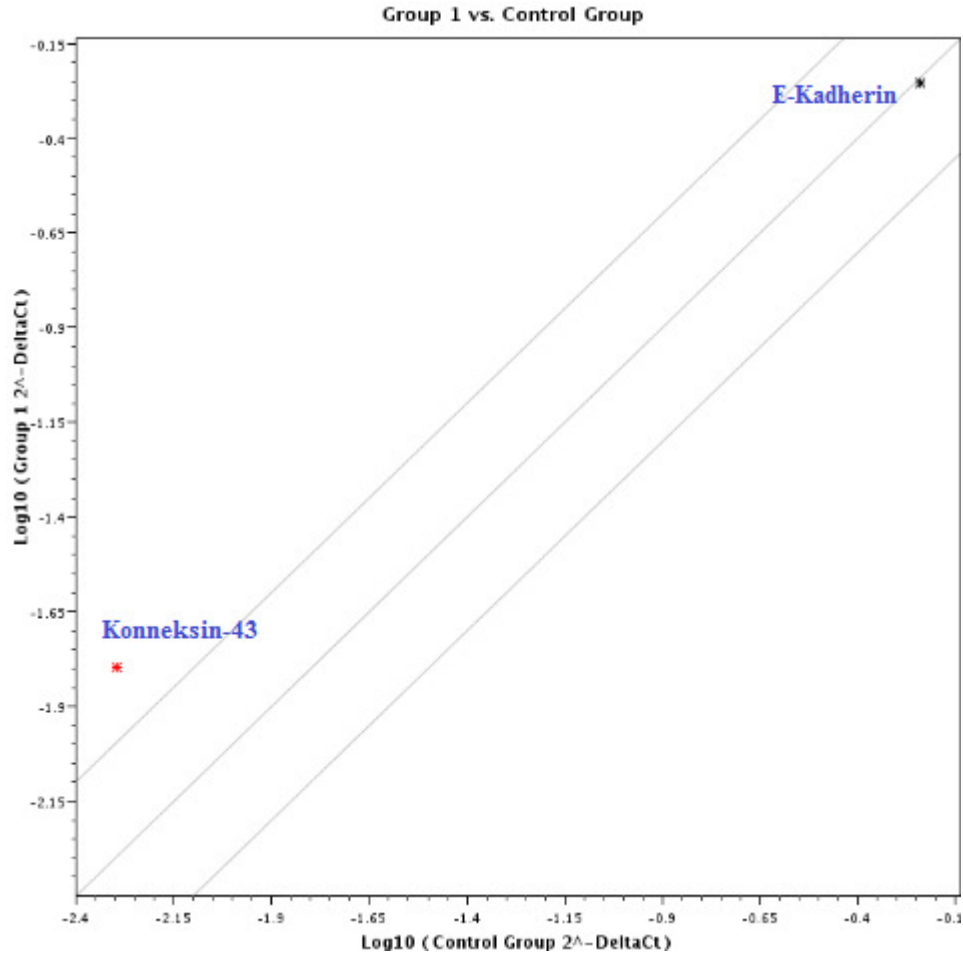


Grafik 4-10: E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Diferansiyasyon Varlığına Göre Fold Change (Kat Değişimi) Grafiği

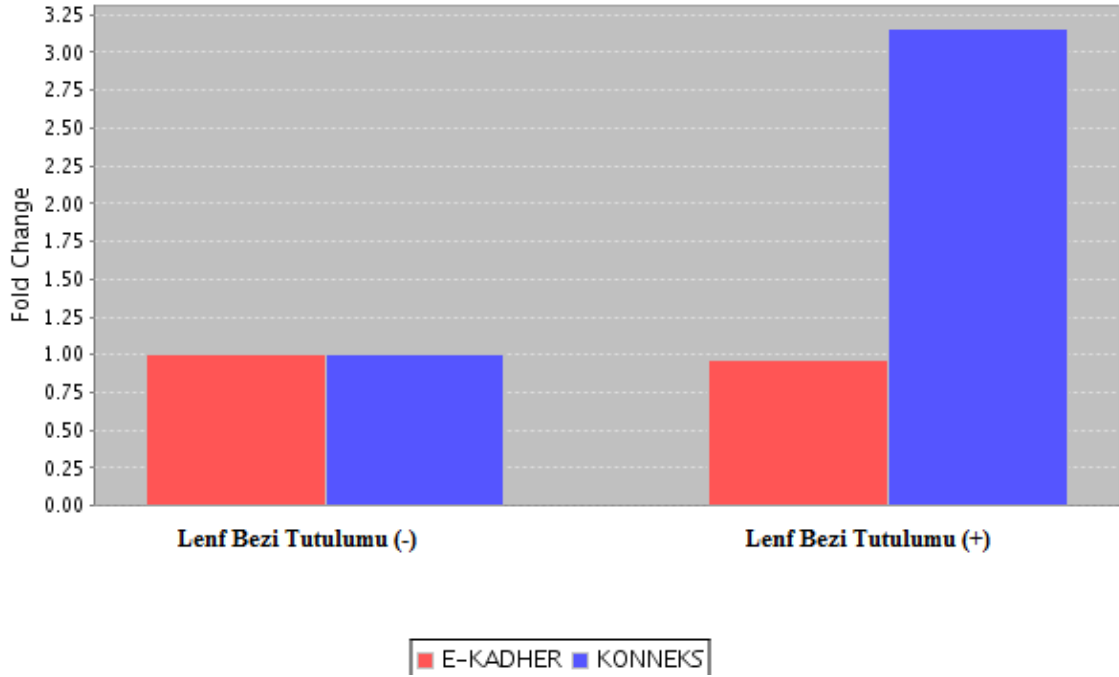
Tümör dokularında E-Kaderin ve Konneksin-43 gen ifadelerinin diferansiyasyon açısından karşılaştırılması sonucunda E-Kaderin geninin tümörlü dokuda 1,13 kat fazla, Konneksin-43 geninin 3,02 kat daha az ifade edildiği tespit edildi. Fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilemedi ($p>0,05$).

Tablo 4-8: Tümör Dokusunda Lenf Bezi Tutulumuna Göre E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Fold Change (Kat Değişimi) Değerleri

Gen	Log2 Fold Change	%95 CI	Fold Change	%95 CI	p Değeri	Fold Regulation
E-Kaderin	-0,049	(-2,566-0.815)	0,966	(0.17, 1.76)	0,337	-1,035
Konneksin-43	1.658	(-0,643-2.503)	3,157	(0.64, 5.67)	0,159	3,157



Grafik 4-11: Tümör Dokularında Lenf Bezi Tutulum Varlığına ve Log Tabanına göre E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerine ait Scatter Plot Dağılım Grafiği



Grafik 4-12: E-Kaderin ve Konneksin-43 Genlerinin Lenf Bezi Tutulum Varlığına Göre Fold Change (Kat Değişimi) Grafiği

Tümör dokularında E-Kaderin ve Konneksin-43 gen ifadelerinin lenf bezi tutulumu açısından karşılaştırılması sonucunda E-Kaderin geninin tümörlü dokuda 1,03 kat az, Konneksin-43 geninin 3,15 kat daha fazla ifade edildiği tespit edildi. Fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilemedi ($p>0,05$).

Kolorektal kanserli hasta grubunda serum selenyum düzeyleri hastalarda ($68.1 \pm 17.5 \mu\text{g/L}$) sağlıklı kontrollere göre ($60.9 \pm 16 \mu\text{g/L}$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir. ($p>0.05$)

Kolorektal kanserli hasta grubumuz patolojik verilere göre sınıflandırıldığında gerek ileri tümör safhası gerek lenf nod tutulumu varlığı gerekse de uzak metastaz varlığı parametreleri ele alındığında selenyum düzeyleri açısından farklılık gözlemlendi. Buna göre uzak metastaz varlığı kolorektal kanserli hastaların serum selenyum düzeyleri uzak metastazı olmayan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük saptanmıştır $p=0.021$

Tablo 4-9: Serum Selenyum Verilerinin Patolojik Verilere Göre Değerlendirmesi

	Serum Se	p değeri
Tümör derecesi		
T1+T2	78.4±18.7	0.081
T3+T4	65± 20.1	
Lenf nod tutulum		
N0	74.2 ±18.8	0.068
N1+N2	62.6± 20.5	
Uzak metastaz		
VAR	60.4±20.3	0.021*
YOK	74.7±18.2	

Tablo 4-10: Konneksin-43 ‘ün Düşük ve Yüksek Ekspresyon Seviyelerine Göre Selenyum Seviyelerinin Karşılaştırılması

	Kat Değişimi > -2,5 Konneksin-43 Ekspresyonu (n=9)	Kat Değişimi < -2,5 Konneksin-43 Ekspresyonu (n=16)
Selenyum Seviyesi	21,56 ±7,18	22 ±5,5

Kat değişim (Fold change) analizleri sonrasında ortalama olarak belirlediğimiz Konneksin-43 ekspresyon seviyesi -2,5 kat üzerinde veya altında olan örneklerle göre selenyum seviyelerini karşılaştırdığımızda, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=0,192).

5. TARTIŞMA

Kolorektal kanserin moleküler mekanizmasına yönelik ilk tanımlama 1990 yılında Fearon ve Volgestein tarafından yapılmıştır (144). KK, normal mukozanın adenoma, adenomun da karsinoma dönüşmesine neden olan bir seri olaylar neticesinde oluşur. Bu süreçte proliferatif sinyal, kontrolsüz büyüme, apoptozdan kaçış, anjiogenez oluşumu yayılma ve metastaz aktivitesi gözlenir (145).

Primer tümör hücresinin invaziv ve metastatik özellik kazanmasında adezyon molekülleri tetikleyici rol üstlenirler (146) Adezyon molekülleri doku bütünlüğünün korunmasında etkin rol alırlar. Ca^{+2} bağımlı hücre-hücre adezyon molekülü olan E-kaderin, CDH1 geni tarafından epitel dokuda anlatımı yapılan transmembran glikoproteindir (147).

E-kaderin knockout edilmiş farelerde yapılan bir çalışmada, normal doku büyümesi ve fonksiyonunda önemli görev alan bu molekülün yokluğunun erken evre embriyogenez aşamasında öldürücü olduğu gösterilmiştir (148).

Meme kanseri (149,150), hepatosellüler kanser (151), skuamöz cilt kanseri, baş boyun kanseri (152,153), özafagus kanseri (154) ve melenoma (155) da dahil olmak üzere bir çok epiteliyal kanserde E-kaderinin tümör baskılayıcı rolü olduğu düşünülmektedir.

Yapılan birçok kolon kanseri çalışmalarında anormal E-kaderin anlatımı tanımlanmış olup, normal mukozaya oranla totalde azalmış E-kaderin anlatımı olduğu bildirilmiştir (8). Chen ve ark. karaciğer metastazı gelişen KKK hastalarında yaptığı çalışmada klinikopatolojik parametrelerle de ilişkili olarak E-kaderin anlatımının azaldığını rapor etmişlerdir (156). Elzagheid ve ark. kolorektal kanserli hastalarda yapmış olduğu çalışmalarda E-kaderin anlatımı ve cinsiyet, tümör lokalizasyonu, tümör yayılımı ve tümörün histolojik derecesi arasında bir ilişkili bulunamamıştır. Ancak azalan E-kaderin anlatımı ve yaş, lenf nodu tutulumu ve tümör metastazı arasında önemli ölçüde ilişki bulunduğu rapor edilmiştir (157).

Metastatik meme kanseri hücrelerindeki aşırı E-kaderin anlatımının meme kanseri yayılımı ve metastazını engellediği in vivo ve in vitro çalışmalarla gösterilmiştir(158).

Yüksek seviyedeki çözünmüş E-kaderin tümör yayılım derinliği ile ilişkilidir (159). Daha da önemlisi, 10 000 ng/mL den daha yüksek seviyedeki çözünmüş E-kaderin düzeylerinin, hastaların %90' ından fazlasında 3 yıldan daha kısa hayatta kalım süresini öngördüğü belirtilmiştir (160).

Ortalama serum sE-kaderin seviyeleri kontrol grubuna göre CRC anlamlı olarak yüksek bulunmuş. Aynı zamanda UICC sınıflandırmasına göre IV derece hastalarda I, II, III dereceli hastalardan anlamlı ölçüde daha yüksek E-kaderin seviyesi olduğu bildirilmiştir. Bu açıdan ameliyat öncesi E-kaderin serum konsantrasyonu KKK hastalarında yeni bir prognostik belirteç olabilir (161).

Kolorektal kanser hastalarında, azalmış E-kaderin anlatımının lenf nod metastazı ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca E-kaderin ekspresyonunun artan histolojik farklılaşma ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (162).

Başka bir çalışmada ise E-kaderin anlatımının, tümör derecesi ile anlamlı bağlantısı saptanamamıştır. Bu sonuçlar, artmış tümör derecesi ile azalmış E-kaderin ekspresyonu arasında bir bağlantı olduğunu öne süren çalışmalarla tezat oluşturmaktadır (163,164). Ancak korunmuş ya da artmış E-kaderin ekspresyonunun hücrelerin tutunması için bir destek ortam sağlayarak invazyon ve metastaz yeteneklerini arttırabileceği yönündeki görüşü desteklemektedir (165).

E-kaderin ekspresyonunun azalmasının, tüm premalignant displastik lezyonlarda belirgin olduğu ve farklılaşma, invazyon ve metastaz ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (8).

Küçük hücre dışı akciğer kanserinde yapılan bir çalışmada, azalmış E-kaderin ve konneksin-43 ekspresyonunun kötü farklılaşma, ileri TNM evrelemesi ve lenf nod metastazı ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu belirlenmiştir. E-kaderin ve konneksin-43 ün anlatımının eş zamanlı olarak azalması akciğer kanseri örneklerinde farklılaşma ve ilerleme ile bağlantılıdır. Aynı zamanda, E-kaderin ve konneksin-43 ekspresyonlarının anlamlı şekilde birbirleri ile bağlantılı olduğu öne sürülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda, E-kaderin'in GJIC'yi düzenlediği ve bu düzenlemenin konneksin-43'ün posttranslasyonel düzenlenmesi ile bağlantılı olduğu belirtilmiştir. Xu ve ark. yapmış olduğu çalışmada ise konneksin43 ve E-kaderin genlerinin, insan akciğer kanseri örneklerinin %77,6 sında birlikte ifade olduğu ortaya koyulmuş olup E-kaderinin, konneksin43 gen anlatımı ve protein fonksiyonunu düzenlemekle kalmayıp aynı zamanda konneksin43 tarafından uyarıldığı öne sürülmektedir (22).

Gastrik kanserlerle, immuno histokimyasal analiz kullanılarak yapılan bir çalışmada, konneksin43 ve E-kaderin ekspresyonlarının, primer gastrik tümörlerde normal dokuya kıyasla anlamlı şekilde azaldığı, metastatik lenf nodlarında ise, eşleşmiş primer gastrik tümörlere kıyasla arttığı belirtilmiştir. Gastrik kanserlerde, Konneksin43 ve E-kaderinin azalmış ekspresyonunun kötü farklılaşma, ileri TNM evrelendirme ve lenf nod metastazı ile anlamlı olarak bağlantılı olduğu öne sürülmüştür (166).

Bizim çalışmamızda konneksin 43 gen anlatımı hastaların tümör dokusunda normal dokularına oranla 14 kat daha az ifade edilmiş olup bu fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Kolorektal kanserli hastalar lenfatik invazyon varlığı açısından değerlendirildiklerinde lenfatik invazyon varlığı pozitif olan tümör dokularında konneksin 43 gen ekspresyonunu 2.27 kat daha az olduğu gözlenmiş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlılığa oldukça yakın bulunmuştur. (p=0.076)

Kolorektal kanserli hastalarımız tümör büyüklüğü lenf bezi tutulumu uzak metastaz varlığı diferansiyasyon açısından incelendiklerinde konneksin 43 gerekse de E-kaderin gen anlatımları açısından anlamlı bir fark saptanamamıştır.

Azalmış konneksin anlatımı pek çok kanser tipinde çalışılmış olmasına rağmen kanser gelişimi sırasındaki konneksin 43 ekspresyonu değişimi konusundan literatürde hala tatmin edici bir veri rastlanmamıştır.

Adjuvan kemoterapi, III. safha kolorektal kanserli hastalara rutin olarak verilmektedir ve bu hastalarda rekürrens oranının %30-40 azaldığı gösterilmiştir. I ve II. safha kanser hastalarında rekürrens riski ise %20-30 olduğu bilinmektedir. Geleneksel tümör derecelendirme sistemi yüksek riskli hastaları belirleyemediğinden, bu hastalara adjuvan kemoterapi verilmemektedir. Sirnes ve ark.nın yaptıkları çalışma sonrasında konneksin 43 ün azalmış seviyelerinin , ileri safha kolorektal kanserli hastaların erken safhada olan hastalara göre daha kısa yaşam sürelerine sahip olmalarıyla körele olduğu saptanmıştır. Bu veriye göre Cx43 ün ve artmış rekürrens olasılıklı II .safha tümörlü hastaları belirlemek için bir biomarker paneli olarak önermişlerdir. (18)

Bizim yaptığımız çalışmada kolorektal hastalarının Cx43 ekspresyonlarının tümör dokularında normal dokulara oranla 14 kat daha düşük olması ve lenfatik invazyon varlığı olan hastaların tümör dokularında olmayanlara göre 2,27 kat daha az ifade edilmiş olmaları Cx43 ün kolorektal kanserin prognozu açısından önemli olduğu bulgusunu desteklemektedir.

Literatürde konneksin 43 ve selenyum düzeylerinin bir arada incelendiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Tanguy ve ark. düşük ve yüksek selenyum diyeti verilmiş sıçanlarda reperfüze miyokardial enfarktüs sonrası olası moleküler mekanizmasını araştırmak üzere yaptıkları çalışma sonrasında selenyumun kardio protektif etkisinin azalmış oksidatif stres azalmış konneksin 43 de fosforilasyonu ve azalmış TNFalfa anlatımı aracılığıyla olabileceğini öne sürmüşlerdir. Çalışmamızda kolorektal kanserli hastalarda herhangi bir diyetsetel selenyum alınımi olmadan hastaların serumlarındaki selenyum düzeyleri ölçülmüştür.(167)

Açlık selenyum düzeyi 128 µg/L den daha düşük olan bireylerin adenomatoz polip geliştirmeye daha yatkın oldukları belirtilmiştir (168). Bu bulguları destekleyen başka çalışmaların (169,170) da olmasının yanında bazı çalışmalar selenyumun kolon kanseri riski üzerindeki koruyucu etkisini desteklememektedir (171).

Selenyum düzeyleri ülkelere ve coğrafi bölgelere göre değişkenlik gösterebilmektedir. Kuzey Amerika'da ortalama selenyum düzeyi 122.4 µg/L -151.8 µg/L arasında değişirken, Doğu Avrupa ülkelerinde ~70 µg/L olarak belirlenmiştir.

Polonya ve Estonya'yı kapsayan 169 kolon kanser hastası ve 169 sağlıklı kontrol ile gerçekleştirilen bir çalışmada, selenyum eşik değerleri Polonya için 55 µg/L, Estonya için ise 65 µg/L olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada, kolorektal kanser hastalarındaki selenyum düzeylerinin anlamlı olarak en düşük seviyede olduğu rapor edilmiştir. Bu sonuçlar düşük selenyum seviyesinin artmış malignite ile bağlantılı olduğunu ortaya koymaktadır (172).

Ancak, serumdaki selenyum düzeyinin kansere karşı koruyuculuk özelliğinin, serumdaki ortalama selenyum düzeyi ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Amerika Birleşik Devletleri, Kanada ve Porto Riko'dan 427 merkezde 35 535 katılımcıyla yürütülen Faz III kohort çalışmasında, selenyum desteğinin prostat ya da kolorektal kanser riskini azaltmadığı öne sürülmüştür. (173,170,174) Lener ve ark. bu durumun, ilgili çalışmadaki katılımcıların selenyum düzeylerinin (<106 µg/L), selenyum desteğinden yarar sağlamayı gerektirmeyecek kadar yüksek olmasından kaynaklandığını öne sürmüştür (172).

Çalışmamızda 55 kolorektal kanserli, 44 kontrol bireylerinde elde edilen serumlarda selenyum düzeyleri ölçülmüştür. Çalışma sonuçlarımıza göre kolorektal kanserli ve normal sağlıklı arasında serum Se düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Literatürde kolorektal kanser riski için serum selenyum seviyesinin düşüklüğünün kolorektal kanser riski için önemli bir parametre olabileceği öne sürülmektedir.(172)

Selenyum konsantrasyonlarının kolorektal kanser ile sağlıklı kontroller arasında bir fark bulamamızın nedeninin hastaların beslenmeleri ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Kolorektal kanserli hastalarımızda hastalığın patolojik verilerinin selenyum konsantrasyonlarıyla birlikte incelenmesi sonucunda elde ettiğimiz veriler ilgi çekicidir. Buna göre uzak metastaz varlığı olan kolorektal kanserli hastaların serum Se düzeylerinin uzak metastaz varlığı olmayan hastalardakine oranla daha düşük olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu görülmüştür.

Literatürde Irons ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada sep 15 adı veriler ve kolorektal kanserde önemli olduğu düşünülen bir proteinin anlatımının pek çok kolon kanseri hücre hattında arttığı bildirilmiştir. Sep 15 in varlığının primer tümör oluşumu ve metastatik durumla ilişkili kritik bir önemi olabileceği bildirilmiştir. Buna göre uzak metastaz varlığında saptanılan selenyum düşüklüğünün önemli olduğu, bu konuda yapılacak çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.(175)

451 kolorektal kanser hastasının dahil edildiği bir kohort çalışmasında, yüksek selenyum düzeyine sahip bireylerde kolorektal kanser görülme sıklığının azaldığı belirtilmiştir (174). Başka bir çalışmada ise diyetle alınan selenyum miktarları ve, kolon ve rektum kanserlerinin de dahil olduğu,kanser kaynaklı ölümler arasında ters bir bağlantı olduğu öne sürülmüştür. (169,172).

Selenyum düzeyleri ve kolorektal kanser riskinin karşılaştırıldığı bir meta analizde, yüksek selenyum düzeyine sahip populasyonlarda kolorektal adenoma riskinin anlamlı olarak azaldığı ortaya koyulmuştur (176).

Selenyumun koruyucu özelliğinin yanında, kanserin ilerleme dönemi ve metastaz üzerinde de etkili olduğu düşünülmektedir. Bir çok çalışmada, selenyum bileşenlerinin kanserin gelişim evresinde karsinogenik süreçleri tümöre özgü olarak engellediği gösterilmiştir (177,178,179)

Selenyumun tümöre özgü etkisinin, kanser hücresinin daha indirgeyici olan hücre dışı redoks ortamının hücre içine daha fazla selenyum alınımı teşvik etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (180).

Ayrıca selenyumun osteoparin ve kollogen gibi genlerin anlatımını azalmasını sağlayarak metastazı önlediği de düşünülmektedir (181,182).

Sonuç olarak diyebiliriz ki çalışmamızda kolorektal kanserli hastalardan alınan tumor örneklerinin normal kolon dokusuyla E-kaderin ve konneksin 43 gen anlatımları açısından incelenmesi sonucunda Konneksin 43 ekspresyonunun tümörlü dokularda 14 kat azaldığı, E-kaderin ekspresyonunda ise herhangi bir anlamlı değişimin olmadığı saptanmıştır.

Ancak hastaların patolojik verileri değerlendirildiğinde uzak metastaz varlığı durumunda hastaların serum selenyum düzeyinde anlamlı bir düşüşün olduğu saptanmıştır.

Doku örnekleri alınan kolorektal kanserli hastaların serum selenyum düzeyleri ve tamamen sağlıklı yaş, cinsiyet açısından uyumlu sağlıklı kontrollü bireylerin serum selenyum düzeyleri arasında istatistiksel bir fark rastlanmamıştır.

Kolorektal kanserli hastaların serum Se seviyeleri ile Konneksin-43 ve E-kaderin gen anlatımları arasında olası bir bağlantı bulunamamıştır.

Bu çalışma kolorektal kanser hastalarında E-kaderin ve Konneksin 43 gen anlatımının ve aynı zamanda aynı hastalarda serum selenyum düzeylerinin birlikte izlendiği Türk popülasyonunda yapılmış ilk çalışmadır.

Literatürde birçok kanser türü ile ilgili bu bu genlere ait farklı veriler bulunmakla birlikte kolorektal kanser hastalığında bu genlerin anlatımının ve selenyum seviyesinin araştırıldığı çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar Türk toplumu için oluşturulacak ilk veri olma özelliğindedir.

Genetik, epigenetik ya da çevresel etmenlerin etkisiyle uzun bir süreç sonucunda ortaya çıktığı bilinen “kolorektal kanser gelişimi” arasındaki olası ilişkinin araştırıldığı bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ön veriler olma niteliğindedir. Daha kesin verilerin elde edilmesi için çalışma grubunun sayısı artırılarak çalışma devam ettirilebilir.

KAYNAKLAR

1. Hagggar Fatima A. (2009). Colorectal Cancer Epidemiology: Incidence, Mortality, Survival, and Risk Factors Clin Colon Rectal Surg, 22(4),191-7.
2. World Cancer Research Found and American Institute for Cancer Research, Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective, Washington, DC, USA, 2007
3. Boyle P. (2000) ABC of colorectal cancer: Epidemiology.321(7264):805-808.
4. Globocan 2008 <http://globocan.iarc.fr/factsheet.asp>
5. Cruz-Bustillo Clarens D.(2004) Molecular genetics of colorectal cancer,96(1):48-59.
6. Kuismanen SA.(2000) Genetic and epigenetic modification of MLH1 accounts for a major share of microsatellite-unstable colorectal cancers. Am J Pathol 156: 1773-9
7. Söreide K. (2006). Microsatellite instability in colorectal cancer. Br J Surg.,93(4):395-406.
8. Tsanou E. (2008) The E-cadherin adhesion molecule and colorectal cancer. A global literature approach. Anticancer Res. Nov-Dec;28(6A):3815-26
9. Charalabopoulos K. (2004) Cadherin superfamily of adhesion molecules in primary lung cancer. Exp Oncol. Dec;26(4):256-60.
10. Charalabopoulos K. (2002). Adhesion molecules in carsinogenesis Exp. Oncol 24: 249-57
11. Birchmeier W.(1994)Cadherin expression in carcinomas:role in the formation of cell junctions and the prevention of invasiveness.BiochimBiophys Acta.1198:11-26
12. Holder JW.(1993) Gap junction function and cancer.Cancer Res.53(15):3475-85
13. Nicolson. G.(1998) Loss of intercellular junctional communication correlates with metastatic potential in mammary adenocarcinoma cells. Proc. Nati. Acad. 85: 473-76
14. Behrens. J, (1989) Dissecting tumor cell invasion: epithelial cells acquire invasive properties after the loss of uvomorulinmediated cell-cell adhesion. J.Cell Biol. 08:2435-2447
15. Cronier L.(2008) Gap Junctions and Cancer: New Functions for an Old Story. Antioxid Redox Signal.
16. Solan JL.(2009).Connexin43 phosphorylation: structural changes and biological effects. Biochem J. 419(2):261-72

17. Umhauer S. (2000). Gap junctional intercellular communication and connexin 43 expression in ovarian carcinoma. *Am J Obstet Gynecol*, 182(5), 999-1000.
18. Sirnes S. (2012) Connexin43 acts as a colorectal cancer tumor suppressor and predicts disease outcome. *Int J Cancer*.131(3):570-81
19. Kardami E. (2007) The role of connexins in controlling cell growth and gene expression. *Prog Biophys Mol Biol* 94:245–64.
20. Laird DW. (2010) The gap junction proteome and its relationship to disease. *Trends Cell Biol* 20:92–101
21. Sohl G. (2003) Willecke K An update on connexin genes and their nomenclature in mouse and man. *Cell Commun Adhes* 10:173–80.
22. Xu HT., (2008). Connexin 43 Recruits E-cadherin Expression and Inhibits the Malignant Behaviour of Lung Cancer Cells. *Folia Histochem Cytobiol*, 46(3):315-21
23. Rayman MP. (2005) Selenium in cancer prevention: a review of the evidence and mechanism of action. *Proc Nutr Soc* 64:527–42.
24. Charalabopoulos K. (2009) Serum and tissue selenium levels in gastric cancer patients and correlation with CEA. *Anticancer Res.* 29:3465-3468
25. Brinkman M. (2006) Use of selenium in chemoprevention of bladder cancer. *Lancet Oncol*;7:766-74)
26. Brinkman M. (2006) Are men with low selenium levels at increased risk of prostate cancer? *Eur J Cancer* 42: 2463-2471
27. Chen YC. (2013). Is selenium a potential treatment for cancer metastasis? *Nutrients*;5(4):1149-68.
28. Peter Boyle. (2002) Epidemiology of colorectal cancer *British Medical Bulletin*. 64: 1–25
29. Sohaily S.(2012) A. Molecular pathways in colorectal cancer, *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 27(9) 1423–1431
30. Josep J.(2012) General Aspects of Colorectal Cancer *ISRN Oncology* doi:10.5402/2012/139268
31. World Health Organization. The Global Burden of Disease: 2004 Update. Geneva: World Health Organization; 2008.
32. SiegelR. Cancer Statistics, 2012
33. Jemal A. Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2011 Mar-Apr;61(2):69-90.

34. Levin KE, Dozois RR.(1991).Epidemiology of large bowel cancer. *World J Surg*,15(5):562-7.
35. İzmirli M. (2007) Cancer statistics of SSK Okmeydanı Training and Research Hospitals Department of Oncology from 1999 to 2004, *Türk Onkoloji Dergisi* 22(4):172-182
36. <http://globocan.iarc.fr/factsheet.asp>
37. Cappell MS. (2008) Pathophysiology, clinical presentation, and management of colon cancer. *GastroenterolClin North Am.* 37: 1-245
38. Power DG. (2010) Clinical genetics of hereditary colorectal cancer. *HematolOncolClin North Am.* 24: 837-59.
39. Ferrari P. (2007) Lifetime and baseline alcohol intake and risk of colon and rectal cancers in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *Int J Cancer.*121:2065-2072.
40. Giovannucci E. (2006) Cancers of the colon and rectum. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF Jr, eds. *Cancer Epidemiology and Prevention.* 809-829.
41. Boyle P. (2008) *World Cancer Report 2008.* Lyon, France: World Health Organization. International Agency for Research on Cancer.
42. Farin Amersi, M.D. (2005) *Colorectal Cancer: Epidemiology, Risk Factors, and Health Services Clinics In Colon And Rectal Surgery*
43. Itzkowitz SH.(2004) Inflammation and cancer IV. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: the role of inflammation. *Am J PhysiolGastrointest Liver Physiol* 287:G7-17.
44. Potter JD. Colorectal cancer: molecules and populations. *J Natl Cancer Inst.* 1999 Jun 2;91(11):916-32.
45. Kempainen M. (1993) Characteristics of colon cancer in elderly patients. *Gerontology* 39:222—227
46. Butler LM.(2003). Heterocyclic amines, meat intake, and association with colon cancer in a population-based study. *Am J Epidemiol*;157:434–445
47. Kampman E. (1999) Meat consumption, genetic susceptibility, and colon cancer risk: a United States multicenter case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*;8:15–24
48. Fuchs CS,(1999) Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women. *N Engl J Med*;340:169–176

49. Pietinen P (1999) Diet and risk of colorectal cancer in a cohort of Finnish men. *Cancer Causes Control*;10:387–396
50. Terry P. (2001) Fruit, vegetables, dietary fiber, and the risk of colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:525–533
51. Baron JA. (1999) Calcium supplements for the prevention of colorectal adenomas. Calcium Polyp Prevention Study Group. *N Engl J Med* 1999;340:101–107
52. T.Norat,(2005) “Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition,” *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 97, no. 12, pp. 906–916
53. Chao,M.(2005) “Meat consumption and risk of colorectal cancer,” *The Journal of the American Medical Association*, vol. 293, pp. 172–182
54. <http://www.cancer.org/cancer/colonandrectumcancer/detailedguide/colorectal-cancer-risk-factors>
55. Laken SJ.(1997)Familial colorectal cancer in Ashkenazim due to a hypermutable tract in APC. *Nat Genet*;17:79-83
56. Rozen P. (1999) Prevalence of the I1307k APC gene variant in Israeli Jews of different ethnic origin and the risk of colorectal cancer. *Gastroenterology* 116:54-57
57. Gryfe R. (1999) Inherited colorectal polyposis and cancer risk of the APC I1307K polymorphism. *Am J Hum Genet.* 64:378-384
58. Woodage T.(1998) The APCI1307K allele and cancer risk in a community-based study of Ashkenazi Jews. *Nat Genet* 20:62-65
59. Zisman AL. (2006) Associations between the age at diagnosis and location of colorectal cancer and the use of alcohol and tobacco: implications for screening. *Arch Intern Med*;166(6): 629–634
60. Giovannucci E.(2001) An updated review of the epidemiological evidence that cigarette smoking increases risk of colorectal cancer. *Cancer EpidemiolBiomarkPrev*; 10: 725-31
61. Botteri E. (2008) Cigarette smoking and adenomatous polyps: a meta-analysis. *Gastroenterology* 134(2), 388-395
62. Kakiuchi H.(1995) Specific 58-GGGA-38®58-GGA-38 mutation of the APC gene in rat colon tumors induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine. *ProcNat1Acad Sci.* 92:910-4

63. World Cancer Research Fund (WCRF) Panel (Potter JD, Chair). Diet, nutrition, and the prevention of cancer: a global perspective. (1997) Washington (DC): WCRF/American Institute of Cancer Research.
64. Potter JD.(1993) Colon cancer: a review of the epidemiology. *Epidemiol Rev*;15:499-545.
65. Bazensky I, Shoobridge-Moran C, Yoder LH. Colorectal cancer: an overview of the epidemiology, risk factors, symptoms, and screening guidelines. *MedsurgNurs* 2007;16(1):46-51;
66. De Jong AE. (2005) Prevalence of adenomas among young individuals at average risk for colorectal cancer. *Am J Gastroenterol* 2005;100(1):139-143
67. Lee KJ. (2007) Study Group. Physical activity and risk of colorectal cancer in Japanese men and women: the Japan Public Health Center-based prospective study. *Cancer Causes Control*;18(2):199-209
68. Triantafyllidis JK, Nasioulas G, Kosmidis PA. Colorectal cancer and inflammatory bowel disease: epidemiology, risk factors, mechanisms of carcinogenesis and prevention strategies. *Anticancer Res.* 2009 Jul;29(7):2727-37.
69. Boyle P, Leon ME. Epidemiology of colorectal cancer. *Br Med Bull.* 2002;64:1-25.
70. Pelag I, Maibach HT, Brown SH, Wilcox CM. Aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drug use and the risk of subsequent colorectal cancer. *Arch Intern Med* 1994; 154: 394–9
71. Giovannucci E (1994). Aspirin use and the risk of colorectal cancer and adenoma in male health professionals. *Ann Intern Med*; 121: 241–6
72. Logan RF, Little J, Hawtin PG, Hardcastle JD. Effect of aspirin and non-steroidal antiinflammatory drugs on colorectal adenomas: case control study of subjects participating in the Nottingham faecal occult blood screening programme. *BMJ* 1993; 307: 285–9
73. Thun MJ, Namboodiri MM, Heath CW Jr. Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer. *N Engl J Med* 1991;325:1593–6.
74. World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective. Washington, DC: American Institute for Cancer Research; 2007

75. Rozen P. (1987) Family history of colorectal cancer as a marker of potential malignancy within a screening program. *Cancer*;60:248–254
76. Sondergaard JO, Bulow S, Lynge E. Cancer incidence among parents of patients with colorectal cancer. *Cancer* 1991;47:202–206
77. Fuchs CS (1994) A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med* 1994;331:1669–1674
78. Papadopoulos N (1994) Mutation of a mutL homolog in hereditary colon cancer. *Science*; 263(5153):1625–1629
79. Desai TK, Barkel D. (2008) Syndromic colon cancer: lynch syndrome and familial adenomatous polyposis. *Gastroenterol Clin North Am*; 37: 47-72
80. Nystrom-Lahti M.(1994) Mismatch repair genes on chromosomes 2p and 3p account for a major share of hereditary nonpolyposis colorectal cancer families evaluable by linkage. *Am J Hum Genet*; 55: 659-65.
81. Watson P, Lynch HT. Extracolonic cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer* 1993;71:677–685
82. Half E, Bercovich D, Rozen P. Familial adenomatous polyposis. *Orphanet J Rare Dis*. 2009
83. Groen EJ, Roos A, Muntinghe FL, et al. Extra-intestinal manifestations of familial adenomatous polyposis. *Annals of Surgical Oncology*. 2008; 15: 2439-50.
84. Grady WM, Markowitz SD. Hereditary colon cancer genes. *Methods Mol Biol* 2003;222:59–83
85. Y. Lee, (2012) “Colon-specific delivery of celecoxib is a potential strategy to improve toxicological and pharmacological properties of the selective Cox-2 inhibitor: implication in treatment of familiar adenomatous polyposis,” *Journal of Drug Targeting*, vol. 20, no. 6, pp. 524–534
86. J. De Tom´as, Y. Al Lal, M. D. P´erez D´iaz, and M. Sanz, “Chronic polyps in the stomach and jejunum in a patient with familial adenomatous polyposis,” *Gastroenterologia y Hepatologia*, vol. 34, no. 10, pp. 683–685, 2011.
87. Starr TK.(209). A transposon-based genetic screen in mice identifies genes altered in colorectal cancer. *Science*, 323: 1747-50. .
88. Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology*. 2007; 50: 113-30.

89. Kang GH. (2011) Four molecular subtypes of colorectal cancer and their precursor lesions. *Arch Pathol Lab Med.* 2011, 135(6):698-703
90. Lynch HT, Lynch JF. Genetics of colorectal cancer. *Digestion* 1998;59: 481-92.
91. Leach FS, Nicolaides NC, Papadopoulos N, et al. Mutations of a mutS homolog in hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Cell* 1993; 75: 1215–1225
92. Kinzler K, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 1996; 87: 159–170.
93. Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology.* 2010; 138: 2073-87.e3.
94. Pino MS, Chung DC. The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology.* 2010; 138: 2059-72
95. Sheffer M. (2009) Association of survival and disease progression with chromosomal instability: a genomic exploration of colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 106: 7131-6
96. Lanza G, Matteuzzi M, Gafa R, et al. Chromosome 18q allelic loss and prognosis in stage II and III colon cancer. *Int J Cancer.* 1998; 79: 390-5
97. Ogunbiyi OA, Goodfellow PJ, Herfarth K, et al. Confirmation that chromosome 18q allelic loss in colon cancer is a prognostic indicator. *J Clin Oncol.* 1998; 16: 427-33.
98. Wang W, Wang G-Q, Sun X-W, et al. Prognostic values of chromosome 18q microsatellite alterations in stage II colonic carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2010; 16: 6026-34.
99. S. Ogino, A. T. Chan, C. S. Fuchs, and E. Giovannucci, “Molecular pathological epidemiology of colorectal neoplasia: an emerging transdisciplinary and interdisciplinary field,” *Gut*, vol. 60, no. 3, pp. 397–411, 2011
100. Toyota M, Issa JP. CpG island methylator phenotypes in aging and cancer. *Semin Cancer Biol.* 1999; 9: 349-57
101. Nosho K, Irahara N, Shima K, et al. Comprehensive biostatistical analysis of CpG island methylator phenotype in colorectal cancer using a large population-based sample. *PLoS ONE.* 2008; 3: e3698.
102. Bodmer WF, Bailey CJ, Bodmer J, et al. Localization of the gene for familial adenomatous polyposis on chromosome 5. *Nature.* 1987; 328: 614-6

103. Nishisho I. (1991) Mutations of chromosome 5q21 genes in FAP and colorectal cancer patients. *Science* 1991; 253: 665-9
104. Goss KH, Groden J. Biology of the adenomatous polyposis coli tumor suppressor. *J Clin Oncol.* 2000; 18: 1967-79.
105. Gumbiner BM. Signal transduction of beta-catenin. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7: 634-40.
106. Lustig B, Behrens J. The Wnt signaling pathway and its role in tumor development. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003; 129: 199-221.
107. Galiatsatos P, Foulkes WD. Familial adenomatous polyposis. *Am J Gastroenterol.* 2006; 101:385-
108. Fearhead NS, Wilding JL and Bodmer WF: T Genetics of colorectal cancer: hereditary aspects and overview of colorectal tumorigenesis. *Br Med Bull* 64: 27-43, 2002
109. Jiang WG. E-cadherin and its associated protein catenins, cancer invasion and metastasis. *Br J Surg.* 1996 Apr;83(4):437-46. Review. PubMed PMID: 8665230.
110. Adhesion molecules in lung cancer 2003 K. Charalabopoulos *Experimental Oncology* 25, 16-21
111. Takeichi M: The cadherins: Cell-cell adhesion molecules controlling animal morphogenesis. *Development* 1988, 102:639–655
112. Takeichi M: Cadherin cell adhesion receptor as a morphogenetic regulator. *Science* 1991, 251:1451–1455
113. 1: Takeichi M. Cadherins in cancer: implications for invasion and metastasis. *Curr Opin Cell Biol.* 1993 Oct;5(5):806-11.
114. Ozawa M, Kemler R. Molecular organization of the uvomorulin-catenin complex. *J Cell Biol.* 1992 Feb;116(4):989-96
115. Ozawa M, Baribault H, Kemler R. The cytoplasmic domain of the cell adhesion molecule uvomorulin associates with three independent proteins structurally related in different species. *EMBO J.* 1989 Jun;8(6):1711-7.
116. 47 Knudsen KA and Wheelock MJ: Plakoglobin, or an 83-kD homologue distinct from beta-catenin, interacts with E-cadherin and N-cadherin. *J Cell Biol* 118: 671-679, 1992

117. Shibamoto S. (1994) Tyrosine phosphorylation of beta-catenin and plakoglobin enhanced by hepatocyte growth factor and epidermal growth factor in human carcinoma cells. *Cell Adhes Commun* 1(4): 295-305
118. <http://www.who.int/topics/cancer/en/>
119. Virchow, R. *Cellular Pathology*. New York: Dover Press. 1971, ed. from original. 1883: and *Arch. Pathol. Anal. Physiol.* 8: 23. 1855
120. Alexander, D. B. and Goldberg, G. S. (2003) Transfer of biologically important molecules between cells through gap junction channels. *Curr. Med. Chem.* 10, 2045–2058
121. Miron RJ, Hedbom E, Ruggiero S, Bosshardt DD, Zhang Y. Premature Osteoblast Clustering by Enamel Matrix Proteins Induces Osteoblast Differentiation through Up-Regulation of Connexin 43 and N-Cadherin. *PLoS ONE* 6(8): e23375. doi:10.1371/journal.pone.0023375-2011)
122. Monaghan P. (1996) Connexin expression and gap junctions in the mammary gland. *Cell Biol Int.* 20(2):121-5.
123. Laird DW. Life cycle of connexins in health and disease. *Biochem J.* 2006 Mar 15;394(Pt 3):527-43.
124. White, T. W. (2003) Nonredundant gap junction functions. *News Physiol. Sci.* 18, 95–99
125. Goldberg, G. (2004) Selective permeability of gap junction channels. *Biochim. Biophys. Acta* 1662, 96–101
126. Goldberg, G. (1998) Direct isolation and analysis of endogenous transjunctional ADP from Cx43 transfected C6 glioma cells. *Exp. Cell Res.* 239, 82–92
127. Goldberg, G.(1999) Selective transfer of endogenous metabolites through gap junctions composed of different connexins. *Nat. Cell Biol.* 1, 457–459
128. Jansson B: Geographic mappings of colorectal cancer rates: a retrospect of studies, 1974–1984. *Cancer Detect Prev* 8, 341–348, 1985
129. Boyle P and Zaridze DG: Colorectal cancer as a disease of the environment. *Ecol Dis* 2, 241–248, 1983.
130. Miller AB: Risk factors from geographic epidemiology for gastrointestinal cancer. *Cancer* 50, 2533–2540, 1982.
131. Groff J and Gropper S: *Microminerals. Advanced Nutrition and Human Metabolism*. Belmont, CA: Wadsworth, 1999, pp. 401–470

132. Charalabopoulos K A. Serum and tissue selenium levels in gastric cancer patients and correlation with CEA *Anticancer Research* 29:3465-3468 (2009)
133. Willett WC, Polk BF, Morris JS, Stampfer MJ, Pressel S, Rosner B, et al. Prediagnostic serum selenium and risk of cancer. *Lancet*. 1983;2:130–4.
134. Whanger PD. Selenium and its relationship to cancer: an update dagger. *Br J Nutr*. 2004;91:11–28.
135. Björnstedt M. Fernandes AP. Selenium in the prevention of human cancers. *EPMA J*. 2010 Sep;1(3):389-95.
136. Connelly-Frost A, Poole C, Satia JA, Kupper LL, Millikan RC, Sandler RS. Selenium, folate, and colon cancer. *Nutr Cancer*. 2009;61(2):165-78
137. Jackson MI, Combs Jr GF. Selenium and anticarcinogenesis: underlying mechanisms. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2008;11:718–26.
138. de Rosa V, Erkekoğlu P, Forestier A, Favier A, Hincal F, Diamond AM, Douki T, Rachidi W. Low doses of selenium specifically stimulate the repair of oxidative DNA damage in LNCaP prostate cancer cells. *Free Radic Res*. 2011 Dec 7.
139. Kristin Wallace, Karl T. Kelsey, Alan Schned, J. Steven Morris, Angeline S. Andrew, Margaret R. Karagas. Selenium and Risk of Bladder Cancer: A Population-Based Case-Control Study. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2009 January ; 2(1): 70–73. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-08-0046.
140. Lopez-Saez JB. Selenium in breast cancer. *Oncology*. 2003;64:227–31.
141. Shamberger RJ, Willis CE. Selenium distribution and human cancer mortality. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci*. 1971;2:211–21.
142. Pourmand G, Salem S, Moradi K, NikoobakhtMR, Tajik P, Mehrsai A. Serum selenium level and prostate cancer: a case-control study. *Nutr Cancer*. 2008;60:171–6
143. Ou Y, Jiang B, Wang X, Ma W, Guo J. Selenium and colorectal adenomas risk: a meta-analysis. *Nutr Cancer*. 2012;64(8):1153-9.
144. Fearon ER. Vogelstein B. (1990) A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 61: 759-67.
145. D. Hanahan and R. A. (2011) Weinberg “Hallmarks of cancer: the next generation, *Cell*, vol. (144) 646–674
146. Hirohashi S. (1998) Inactivation of the E-Cadherin-Mediated Cell Adhesion System in Human Cancers. *American Journal of Pathology*, Vol.153
147. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/999>

148. Frixen UH (1991) E-Cadherin-mediated cell–cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cells. *J Cell Biol* 113: 173-185.
149. K. Strumane. (2004) Cadherins in cancer, *Handb. Exp. Pharmacol.* 69–103.
150. Berx G. (2001) The E-cadherin/catenin complex: an important gatekeeper in breast cancer tumorigenesis and malignant progression, *Breast Cancer Res.*3 289–293
151. B. Zhai, (2008) Reduced expression of Ecadherin/catenin complex in hepatocellular carcinomas, *World J. Gastroenterol.*14 5665–5673.
152. J.K. Field, (1992) Oncogenes and tumour-suppressor genes in squamous cell carcinoma of the head and neck *Eur. J. Cancer B Oral Oncol.* 28B 67–76.
153. B. Ruggeri, (1992) Alterations in the expression of uvomorulin and Na⁺, K⁽⁺⁾-adenosine triphosphatase during mouse skin tumor progression, *Am. J. Pathol.* 140 1179–1185
154. Z.Q. Ling, (2011) Hypermethylation-modulated down-regulation of CDH1 expression contributes to the progression of esophageal cancer, *Int. J. Mol. Med.* 27 625–635
155. Molina-Ortiz (2009) Overexpression of E-cadherin on melanoma cells inhibits chemokine-promoted invasion involving p190RhoGAP/p120ctn-dependent inactivation of RhoA, *J. Biol.Chem.* 284 15147–15157.
156. Xiaobing Chen (2012) Loss of E-cadherin promotes the growth, invasion and drug resistance of colorectal cancer cells and is associated with liver metastasis *Mol Biol Rep* 39:6707–6714
157. Adam Elzagheid (2011) Loss of E-cadherin expression predicts disease recurrence and shorter survival in colorectal carcinoma 1600-0463
158. Somesh Baranwal (2009) Molecular mechanisms controlling E-cadherin expression in breast cancer *Biochemical and Biophysical Research Communications* 384 6–11
159. Annie On On (2006) E-cadherin in gastric cancer *World J Gastroenterol* 12(2):199-203
160. Chan AO. (2003) Soluble E-cadherin is an independent pretherapeutic factor for long-term survival in gastric cancer. *J Clin Oncol*;
161. Yoshinaga Okugawa (2012) Clinical Significance of Serum Soluble E-cadherin in Colorectal Carcinoma1 *Journal of Surgical Research* 175, e67–e73

162. Banu Yilmaz Özgüven (2011) Immunohistochemical Study Of E-Cadherin And B-Catenin Expression In Colorectal Carcinomas Pol J Pathol; 1: 19–24—
163. Amit Goyal (2008) Real time PCR analyses of expression of E-cadherin, alpha-, betaand gamma-catenin in human breast cancer for predicting clinical outcome World Journal of Surgical Oncology 6:56
164. Parker C. (2001) E-cadherin as a prognostic indicator in primary breast cancer. Br J Cancer 2001, 85:1958-1963.
165. Charpin C. (1997) M: E-cadherin quantitative immunocytochemical assays in breast carcinomas. J Pathol 1997, 181:294-300.
166. Tang B. (2011) Expression and significance of Cx43 and E-cadherin in gastric cancer and metastatic lymph nodes. Med Oncol. 28(2):502-8.
167. Tanguy S.(2001)Dietary selenium intake influences Cx43 dephosphorylation, TNF-a expression and cardiac remodeling after reperfused infarction. Mol. Nutr. Food Res.55, 522–529
168. Clark LC. (1993) Plasma selenium concentration predicts the prevalence of colorectal adenomatous polyps. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1993, 2:41–46.
169. Schrauzer GN CJ: Cancer mortality correlation studies, III. Statistical association with dietary selenium intakes. Bioinorg Chem 1977, 7:23–31
170. Duffield-Lillico (2002) AJ Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: a summary report of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. Cancer Epidemiol Biomarkers 11:630–639.
171. Takata Y.(2011) Serum selenium, genetic variation in selenoenzymes, and risk of colorectal cancer: primary analysis from the Women’s Health Initiative Observational Study and meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers 20:1822–1830.
172. Lener M. (2013) Can selenium levels act as a marker of colorectal cancer risk?13:214
173. Lippman SM. (2009) Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). JAMA , 301:39–51
174. Reid ME. (2006) Selenium supplementation and colorectal adenomas: an analysis of the nutritional prevention of cancer trial. Int J Cancer 118:1777–1781

175. Irons, R. (2010) Deficiency in the 15-kDa selenoprotein inhibits tumorigenicity and metastasis of colon cancer cells. *Cancer Prev. Res. (Phila.)* 3, 630–639.
176. Yiyi Ou (2013) Selenium and Colorectal Adenomas Risk: A Meta-Analysis 64:8, 1153-1159
177. Björkhem-Bergman. (2005) Selenium prevents tumor development in a rat model for chemical carcinogenesis. *Carcinogenesis*;26:125–31.
178. Nilsson G. (2006) Selenite induces apoptosis in sarcomatoid malignant mesothelioma cells through oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* 41:874–85.
179. Husbeck B. (2006) Tumor-selective killing by selenite in patient-matched pairs of normal and malignant prostate cells. *Prostate.* 66:218–25.
180. Olm E. (2009) Extracellular thiol-assisted selenium uptake dependent on the x(c)- cystine transporter explains the cancerspecific cytotoxicity of selenite. *Proc Natl Acad Sci U S A.*106:11400–5.
181. Unni E. (2004) Osteopontin is a potential target gene in mouse mammary cancer chemoprevention by Se-methylselenocysteine. *Breast Cancer Res.* 6:R586–592.
182. Yoon SO (2001). Inhibitory effect of selenite on invasion of HT1080 tumor cells. *J Biol Chem.* 276: 20085–92

HAM VERİLER

FORMLAR

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF)

Çalışmanın Adı: “Kolorektal kanserli hastalarda konneksin 43 ve E-kaderin gen anlatımlarının ve selenyum düzeyinin incelenmesi”

- Çalışmaya kolorektal kanser tanısı konulmuş 50 hasta katılacaktır.
- Gönüllüden 2-3 cm büyüklüğünde doku örneği alınacaktır.
- Alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılacaktır.
- Elde edilen doku örneklerinde hastalığın oluşmasında rol oynayabileceği düşünülen

Konneksin43 ve e-kaderin gen anlatımlarının incelenmesi için cDNA eldesi ve Real-Time PCR teknikleri kullanılacaktır.

Bu deneysel çalışmalar, direkt hastalık sonucunu belirtmemekte olup, kişiye söz konusu hastalığa yatkınlıkla ilişkili genetik yapıya sahip olup olmadığını göstermektedir.

- Elde edilen RNA bu çalışma dışında başka bir işlem için kullanılmayacaktır.
- Diğer bir çalışmada gönüllü RNA'sının kullanılması gerektiğinde kendisinden izin alınacaktır.
- Gönüllünün uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlıkla ve riskle karşılaşması söz konusu değildir.
- Bu çalışmada gönüllünün hiçbir hukuki ve mali sorumluluğu bulunmayıp tüm sorumluluk araştırmacı ve destekleyiciye aittir. Gönüllü arzusu üzerine mali ve hukuki yükümlülük olmaksızın çalışmadan ayrılabilir.
- Kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır.
- Bu işlemler için sizden hiçbir ücret talep edilmeyecektir.
- Bu çalışma için size herhangi bir ücret ödenmeyecektir.
- Çalışmaya katılmak zorunluluğunuz bulunmamaktadır.
- Gönüllünün çalışmaya katılmayı reddetmesi onun gelecekteki takip ve tedavisi üzerine olumsuz etkisi bulunmayacaktır.
- Bu çalışmada gönüllünün hiçbir hukuki ve mali sorumluluğu bulunmayıp tüm sorumluluk araştırmacı ve destekleyiciye aittir.
-

- Gönüllünün çalışmaya katılım süreci sadece doku örneğinin alınması ile sınırlıdır.

Çalışma kabul kriterlerin'e ve özelliklerine uyum sağlamadığınız takdirde çalışmadan çıkarılabileceğiniz durumlar oluşabilir. Bu nedenle çalışmadan araştırmacının isteği ile çıkarılabilirsiniz.

- Çalışma sonunda elde edilecek verilerle uluslararası çapta yayınlanabilecek, hastalığınıza açıklık getirecek bilgiler elde edilebilmesi mümkündür. Bu şekilde çalışma sonucunda ulaşılan önemli bir bilgi varsa tarafınıza bildirilecektir.
- Sayın Doç. Dr. Soykan Arıkan tarafından İ.Ü. DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.
- Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.
- Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.
- Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.
- İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).
- Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Doç. Dr. Soykan Arıkan'ı arayabileceğimi biliyorum.
-

- Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.
- Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.
- İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-soyadı, İmzası

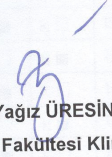
Doç. Dr. Soykan Arıkan

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-soyadı, İmzası, Görevi

Biyolog Saime Turan

ETİK KURUL KARARI

	T.C. İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
Sayı : 665		
Konu : Prof. Dr. İlhan YAYLIM ERALTAN hk,		
Tarih : 16.04.2012		
Sayın Prof. Dr. İlhan YAYLIM ERALTAN DETAE		
İlgi : DETAE'nin 05/03/2012 gün ve 201 sayılı yazısı		
Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Saime Turan'ın yürüteceği 2012/428-986 dosya numaralı "Kolonorektal kanserli hastalarda konneksin 43 ve E-kaderin gen anlatımlarının ve selenyum düzeyinin incelenmesi" başlıklı çalışması kurulumuzun 09.03.2012 tarihli 05 sayılı toplantısında etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.		
Bilgilerinizi rica ederim.		
 Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı		
Eki: Tutanak		

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	05/03/2012		Türkçe ☒	İngilizce ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☐		Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	☐		Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	☐		Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	☐		Açıklama		
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐				
	SİGORTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒				
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐				
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐				
	İLAN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	SONUÇ RAPORU	☐				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
KARAR BELGELERİ	Karar No:05	Tarih: 09/03/2012	Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgular Raporu Formu, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD			

İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsünde görevli Prof. Dr. İlhan YAYLIM ERALTAN 'ın ve Saim Turan'ın yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI 19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik

Başkanın Unvanı / Adı / Soyadı: Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi *	Katılım **	İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Rukiye EKER ÖMEROĞLU	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Pınar SAİP	Onkoloji	İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Muhtar ÇOKAR	Deontolog	İstanbul İnsan Kaynağını Geliştirme Vakfı	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ayşen BULUT	Halk Sağlığı	Emekli	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Tufan TÜKEK	İç Hastalıkları	Okmeydanı Eğitim ve Araşt. Hast. İç Hast. 1. Dahiliye Kliniği	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ünal KUZGUN	Ortopedi	Emekli	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ahmet O. ARAMAN	Eczacılık	İ.Ü. Eczacılık Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK	Hukukçu	İstanbul Üniversitesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Demir TIRYAKI	Biyofizik	Emekli	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
M. Kerim AKMAN	İİBF İktisat bölümü	Özel (Ekonomist)	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Sevdâ ÖZEL	Biyostatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

* :Araştırma ile ilişkisi
 ** :Toplantıda Bulunma

Bu karar araştırma projesinin etik açıdan değerlendirme sonucunu bildirmektedir. Klinik ilaç araştırması projeleri için, etik kurulu onayı sonrasında, Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmeliğin 5/a .maddesi gereğince, Sağlık Bakanlığına da başvurulması ve gerekli iznin alınması gerekmektedir.

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Kolorektal kanserli hastalarda konneksin 43 ve E-kaderin gen anlatımlarının ve selenyum düzeyinin incelenmesi"			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. İlhan YAYLIM ERALTAN			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Moleküler Tıp, Biokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü			
	DESTEKLEYİCİ	İ.Ü.Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
FAZ 4		☐			
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐			
	Yüksek Doz Araştırması	☐			
	Diğer ise belirtiniz : Deneyisel Araştırma				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐	

PATENT HAKKI İZİNİ

TELİF HAKKI İZNİ

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Saime	Soyadı	Turan
Doğ.Yeri	Oltu	Doğ.Tar.	13.05.1986
Uyruğu	T.C	TC Kim No	39565262592
Email	saimeturan86@gmail.com	Tel	(535) 304 83 58

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Marmara Üniversitesi	2009
Lise	Mustafa Saffet Anadolu Lisesi	2004

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Orta	Orta	Orta	67.5	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	80.9	83.7	70
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

1. Yaylım I, Ozkan N.E, **Turan S**, Korkmaz G, Yildiz Y, Cacina C, Topbas B, Arıkan S. sTRAIL Serum Levels and TRAIL 1595 Genotypes: Associations with Progress and Prognosis of Colorectal Carcinoma. Journal of Cancer Therapy
2. Levent Verim, Bahar Toptaş, Nazlı Ezgi Özkan, Canan Cacina, **Saime Turan**, Gurbet Korkmaz, İlhan Yaylım Possible Relation between the NOS3 Gene GLU298ASP Polymorphism and Bladder Cancer in Turkey. Asian Pacific J Cancer Prev, 14 (2), 665-668
3. Bahar Toptaş, Ali Metin Kafadar, Canan Cacina, **Saime Turan**, Leman Melis Yurdum, Nihal Yiğitbaşı, Muhammed Oğuz Gökçe, Ümit Zeybek, and İlhan Yaylım The Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphisms in Turkish Brain Cancer Patients. BioMed Research International Volume 2013 (2013), Article ID 295791, 6 pages.
4. Gülay Tuna, Özlem Küçük hüseyin, Soykan Arıkan, Esra Kaytan Sağlam, Erkan Güler, Canan Cacina, Özge Öztop, **Saime Turan**, Gurbet Korkmaz, and İlhan Yaylım. DNA and Cell Biology. July 2013, 32(7): 400-408. doi:10.1089/dna.2012.1933. Do CDKN2 p16 540 C>G, CDKN2 p16 580 C>T, and MDM2 SNP309 T>G Gene Variants Act on Colorectal Cancer Development or Progression? Volume: 32 Issue 7: July 1, 2013
5. Özlem Küçük hüseyin, Ayşegül Verim, **Saime Turan**, Gurbet Korkmaz, Nazlı Ezgi Özkan, İlhan Yaylım, Hülya Yılmaz-Aydoğan. İleri Glikozilasyon Son Ürün Reseptörü RAGE -374 T/A Gen Polimorfizminin Larinks Kanseri Gelişimi Üzerine Etkisinin Araştırılması. IV: Multidisipliner Kanser Araştırma Kongresi, Bursa, Aralık 2012.
6. Özlem Küçük hüseyin, Bahar Toptaş, Canan Cacina, **Saime Turan**, Gurbet Korkmaz, Nazlı Ezgi Özkan, Levent Verim, İlhan Yaylım. TRAIL 1595 C/T Polimorfizminin Mesane Kanseri Gelişimine Etkisinin İncelenmesi. 4.DETAE Günleri, İstanbul, Kasım 2012.
7. Özlem Timirci-Kahraman, Gurbet Korkmaz, **Saime Turan**, Nazlı Ezgi Özkan, Ümit Zeybek, Levent Verim, İlhan Yaylım, Turgay İsbir. Mesane Kanseri Riski ve Prognozu Üzerinde Apoptoz İlişkili Fas -1377 G/A ve Fas

- Ligand -844 T/C Gen Varyantlarının Kombine Etkisinin İncelenmesi. 10. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, 19-23 Aralık 2012, Bursa.
8. Özlem Timirci-Kahraman, Nazlı Ezgi Özkan, Gurbet Korkmaz, **Saime Turan**, Canan Cacina, Özlem Küçükhüseyin, Bahar Toptaş, Güldal İnal Gültekin, Levent Verim, İlhan Yaylım, Turgay İsbir. Mesane Kanseri Prognozu Üzerinde Fas Ligand -844 T/C Gen Varyantı Etkisinin İncelenmesi. IV.DETAE Günleri, 14-15 Kasım 2012, İstanbul.
 9. Özlem Timirci-Kahraman, **Saime Turan**, Nazlı Ezgi Özkan, Gurbet Korkmaz, Ayşegül Verim, İlhan Yaylım. Larinks Kanseri Gelişiminde TRAIL C1595T Gen Varyantı ve Serum Düzeyi Arasındaki İlişkinin İncelenmesi. IV.DETAE Günleri, 14-15 Kasım 2012, İstanbul.
 10. Özlem Timirci-Kahraman, **Saime Turan**, Nazlı Ezgi Özkan, Gurbet Korkmaz, Ayşegül Verim, İlhan Yaylım. Larinks Kanseri Riski ve Prognozu Üzerinde Fas Ligand -844 T/C Gen Varyantı Etkisinin İncelenmesi. IV. Multidisipliner Kanseri Kongresi, 13-16 Aralık 2012, Bursa-İstanbul.
 11. Canan Cacina, Soykan Arıkan, **Saime Turan**, N. Ezgi Özkan, Gurbet Korkmaz, Nihal Yiğitbaşı Yozgatlı, Ş.Ümit Zeybek, İlhan Yaylım. Kolorektal Kanseri Hastalarda EGF A61G Gen Varyasyonunun Araştırılması. IV. Multidisipliner Kanseri Araştırma Kongresi Uludağ Üniversitesi-Bursa 13-16 Aralık 2012 .
 12. TRAIL Gene Polymorphism and the risk of Non-Small Cell Lung Cancer in Turkish patients. Canan Cacina, **Saime Turan**, Nazlı Ezgi Ozkan, Akif Turna, Bahar Toptas, Ozlem Kucukhuseyin, Kamil Kaynak, İlhan Yaylım. 4-9 Eylül 2012 IUBMB FEBS Sevilla
 13. CASP-8 D302H gene polymorphism and susceptibility to primary brain tumors. Sadrettin Pence1, Canan Cacina1, **Saime Turan**, Feyza Genc, Ali Kafadar, Mehmet Yasar Kaynar, İlhan Yaylım Eraltan. 2012 USA
 14. Is There Any Relationship Between CASP-8 D302H Gene Variation and Colorectal Cancer Risk Sadrettin Pence, Canan Cacina, Soykan Arıkan, **Saime Turan**, Esad Pence, Feyza Genc, İlhan Yaylım. 2012 USA.

15. Cacina C, **Turan S**, Arikan S, Yaylim İ. p27 gen varyasyonlarının meme kanserli hastalarda incelenmesi. 3.DETAE Günleri, 17-18 Kasım, İstanbul, EP29.
16. Tuna G, Arikan S, Öztop Ö, Cacina C, Kaytan Sağlam E, Güler E, Zeybek Ü, Coşkunpınar E, Turan S, Yurdum M, Yaylım Eraltan I. Investigation of p16 gene variants in patients with colorectal cancer.EACR-Anticancer Agents Research Congress.13-16 October 2011,p48.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):