

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**DENEYSEL KOLON TÜMÖRÜ MODELİNDE MANYETİK
ALAN ETKİSİ VE ETKİLEŞİMDE BETA-KATENİN ROLÜ**

MAHMUT ALP KILIÇ

**DANIŞMAN
PROF.DR. TUNAYA KALKAN**

**BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
BİYOFİZİK PROGRAMI**

İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)

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 çalışmasıyla 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 olmadığını beyan ederim.

Mahmut Alp Kılıç

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı'nda lisansüstü eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Tunaya Kalkan' a,

Çalışma örneklerinin sağlanmasında destek veren, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın hocam Doç. Dr. Handan Tuncel' e,

Laboratuvar aşamasında bilgisini ve desteğini esirgemeyen, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Metin Budak'a, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda görevli Moleküler Biyolog Canan Ünlü Özkurt'a ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda görevli Tıbbi Biyolog İlkey Özdemir'e,

Yüksek Lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım **İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı** öğretim üyelerine, tüm çalışanlarına ve arkadaşlarıma,

Yaşantımın her döneminde destekleriyle yanımda olan aileme,

Teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 10808

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	II
BEYAN	İİİ
TEŞEKKÜR	İV
İÇİNDEKİLER	V
TABLolar LİSTESİ.....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	Vİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Vİİİ
ÖZET	Xİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
4.BULGULAR.....	32
4. TARTIŞMA	37
KAYNAKLAR	43
ETİK KURUL KARARI	52
ÖZGEÇMİŞ	53

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: Kanserin sınıflandırılması ve tümör derecelendirilmesi	5
Tablo 2-2: DSÖ'nün verilerine göre, 2008 itibariyle her iki cinsiyet için tahmini ve öngörülen kanser vaka ve ölüm sayıları	6
Tablo 2-3: Çeşitli kanser vakaları ile ilişkilendirilmiş virüs, bakteri ve parazitler	7
Tablo 3-1: Deney grupları	20
Tablo 3-2: Kullanılan kimyasallar	21
Tablo 3-3: Kullanılan gereçler	23
Tablo 3-4: Kullanılan sarf malzemesi	24
Tablo 3-5: Beta-katenin ekson 3 primer dizileri.....	26
Tablo 3-6: PZR miksi.....	26
Tablo 3-7: Kullanılan PZR programı	26
Tablo 3-8: Alt jel bileşenleri	28
Tablo 3-9: Üst jel bileşenleri.....	29

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Akım yönü ve manyetik alan çizgilerinin yönü arasındaki ilişki.....	12
Şekil 2-2: Wnt sekresyonu (52)	18
Şekil 2-3: Wnt/Beta-katenin sinyal yolu mekanizması (52).....	19
Şekil 3-1: SSCP incelemesinde kullanılan Hoefer dikey elektroforez sistemi.....	28
Şekil 4-1: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nın %2'lik agaroz jelde, UV altındaki görüntüsü: Kontrol grubu.....	31
Şekil 4-2: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nın %2'lik agaroz jelde, UV altındaki görüntüsü: SMA grubu	31
Şekil 4-3: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nın %2'lik agaroz jelde, UV altındaki görüntüsü: SMA+MNU grubu	32
Şekil 4-4: %2'lik agaroz jeldeki parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nın UV altındaki görüntüsü: SMA+MNU grubu	3HATA! YER İŞARETİ
TANIMLANMAMIŞ.	
Şekil 4-5: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nın gümüş boyalı SSCP sonuçları: Kontrol Grubu ve SMA Grubu	HATA! YER İŞARETİ
TANIMLANMAMIŞ.2	
Şekil 4-6: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nın gümüş boyalı SSCP sonuçları: SMA ve SMA+MNU Grubu	33
Şekil 4-7: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nın gümüş boyalı SSCP sonuçları: SMA+MNU grubu	33
Şekil 4-8: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nın gümüş boyalı SSCP sonuçları:: MNU grubu	33

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AgNO₃- Gümüş Nitrat

APC- Adenomatöz Polipozis Koli (*Adenomatous Polyposis Coli*)

APS- Amonyum Persülfat (*Ammonium Persulfate*)

Arm- Armadillo Tekrar Bölgesi (*Armadillo Repeat*)

BCC- Bazal Hücre Karsinomu (*Basal Cell Carcinoma*)

BÇ- Baz Çifti (*Base Pair*)

CK1- Kazein Kinaz 1 (*Casein Kinase 1*)

CM- Kutanöz Melanom (*Cutaneous Melanoma*)

DCC- Deleted in Colon Cancer Gene

dNTP- Deoksiribonükleozid Trifosfatın (*Deoxyribonucleotide Triphosphate*)

DSÖ- Dünya Sağlık Örgütü (*World Health Organization*)

EDTA- Etilendiamintetraasetik Asit (*Ethylenediaminetetraacetic Acid*)

ELF- Aşırı Düşük Frekans (*Extremely Low Frequency*)

ER- Endoplazmik Retikulum (*Endoplasmic Reticulum*)

FAP- Familial Adenomatöz Polipozis (*Familial Adenomatous Polyposis*)

Gsk3Beta- Glikojen Sentaz Kinaz 3 Beta (*Glycogen Synthase Kinase-3 Beta*)

HCl- Hidroklorik Asit (*Hydrochloric Acid*)

HNPCC- Kalıtsal Non-Polipozis Kolorektal Kanser (*Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer*)

IARC- Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (*International Agency for Research on Cancer*)

ICNIRP-Uluslar Arası Non-İyonizan Radyasyondan Korunma Komisyonu (*International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection*)

IQ- 2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline

LEF- Lenfosit Aktivasyon Faktörü (*Lymphocytes Enhance Factor*)

LRP5- Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Reseptör İlişkili Protein 5 (*Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 5*)

LRP6- Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Reseptör İlişkili Protein 6 (*Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 6*)

MAD- Mother Against DPP

MADR- MAD Related genes

MgCl₂- Magnezyum Klorür

MNU- N-Nitroso-N-methylurea

MSH2- MutS homolog 2

MSH3- MutS homolog 3

MSH6- MutS homolog 6

MUTYH- mutY Homolog

NaOH- Sodyum Hidroksit

P53- Protein 53

PhIP-2- Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine

PMS1- Postmeiotic Segregation Increased 1

PMS2- Postmeiotic Segregation Increased 2

PZR- Polimeraz Zincir Reaksiyonu (*Polymerase Chain Reaction*)

SCC- Skuamoz Hücreli Karsinom (*Squamous Cell Carcinoma*)

SMA- Sinüsoidal Manyetik Alan

TAE- Tris Asetik Asit EDTA Tamponu

TBA- Tris Borik Asit Edta Tamponu

TCF- T Cell Factor

UV- Ultraviyole

TEMED- Tetrametilendiamin

SSCP- Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmi (*Single-strand conformation polymorphism*)

Wg- Wingless

Wnt- Wingless/Integrated

ÖZET

Kılıç, M.A. (2012). Deneysel Kolon Tümörü Modelinde Manyetik Alan Etkisi ve Etkileşimde Beta-Katenin Rolü. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Anahtar Kelimeler: Beta-katenin, Kolon Kanseri, Polimorfizm, SSCP, PCR

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 10808).

Hücre adezyon molekülleri, hücreler arasındaki fiziksel teması sağlayarak embriyogenezis, morfogenezis, inflamatuvar cevap, hemostazis ve farklılaşma gibi birçok fizyolojik süreçte rol alan molekül grubudur. Katenin ailesi üyeleri, hayvanlar aleminde yaygındır ve genellikle hücrede, kaderinler ile birlikte adezyon boşluklarında bulunurlar. Bu ailenin üyelerinden olan beta-katenine ait fonksiyon bozuklukları ve mutasyonlar, aralarında kanserin de bulunduğu birçok hastalıkta rapor edilmiştir. Beta-katenin proteinin hücre sitoplazmasında birikmesi sonucu, kontrolsüz hücre bölünmesine yol açan bir dizi transkripsiyon faktörü aktifleşir. Sinüsoidal manyetik alanlar (SMA) üzerine yapılan epidemiyolojik ve deneysel araştırmalar, bu tür alanların sahip oldukları şiddete ve frekansa göre kanser gelişimini tetikleyebileceğini göstermiştir. Bu sebeple 2002 yılında Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi (IARC) tarafından 2B (muhtemelen kanserojen) sınıfında tanımlandı.

Yapılan arşiv çalışmamızda parafin bloklara gömülü 50Hz sinüsoidal manyetik alan etkisi atında, N-Nitroso-N-methylurea (MNU) ile deneysel olarak geliştirilmiş sıçan kolon tümör dokuları kullanıldı. Örnekler kontrol grubu, SMA grubu, MNU grubu ve SMA+MNU grubu olmak üzere 4'e ayrıldı. Gruplar arasında beta-katenin genin ekson 3 bölgesi karşılaştırıldı. Sonuç

olarak gruplar arasında bu bölgeye ait hiçbir fark bulunamadı. Bu sonuçlara göre, MNU ile oluşturulan kolon tümörü modelinde sinüsoidal manyetik alanların tümör gelişiminde incelenen bölge açısından hiçbir etkisi olmadığı görüldü.

ABSTRACT

Kılıc M.A. (2012). Influence of Magnetic Fields on Experimental Colon Tumor Model and Effect of Beta-Catenin Interaction. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Biophysics. Istanbul.

Key Words: Beta-catenin, Colon Cancer, Polymorphism, SSCP, PCR

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University (Project No: 10808).

Cell adhesion molecules are an essential molecule group that features in embryogenesis, morphogenesis, inflammation, homeostasis and cell differentiation by establishment of physical contact between the cells. Catenin protein family members are widespread through animal kingdom and they are located in cell adhesion junctions with cadherins. Mutation or function loss of beta catenin -which is a member of the catenin protein family- is reported in many diseases including cancer. With the accumulation of beta catenin protein in cytoplasm a series of transcription factors, which leads uncontrolled cell proliferation are activated. Epidemiological and experimental studies on sinusoidal magnetic fields suggests that, these fields may lead to cancer progression depending on strength and frequency of the subjected field. Therefore magnetic fields are classified as group 2B (possibly carcinogen) by IARC at 2002.

In our archive study we used rat colon tumor model induced by N-Nitroso-N-methylurea (MNU) under the influence of 50 Hz magnetic field. Animal samples are divided on 4 groups control group, SMA group, MNU group and SMA+MNU group. Exon 3 region of beta-catenin gene is investigated in all groups. As a result we did not see any difference between the groups.

According to these results sinusoidal magnetic fields has no effect on MNU induced colon tumors in terms of investigated exon 3 site of beta-catenin gene.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Görünür ışıktan düşük frekanslı elektromanyetik alanların iyonizan etkisi olmamakla birlikte, yapılan epidemiyolojik araştırmalar, özellikle aşırı düşük frekanslı (ELF) manyetik alanların, kanser açısından risk faktörü oluşturdukları gösterilmiştir (1,2). Kanser, birden fazla faktörün etkisi ile çok aşamalı olarak gelişen, genetik ve epigenetik bir hastalıktır (3).

Kanserin nedenlerinden biri olan kalıtsal mutasyonlar, organizmadaki enzimleri aktive veya inhibe eden, böylece protein ekspresyonunu etkileyen kişisel genetik farklılıklardır. Ayrıca DNA hasarının onarım kapasitesini etkileyen genetik değişiklikler, kanser riskini arttırabilen diğer başlıca genetik faktörlerdendir (4,5).

Bazı hastalıklara karşı duyarlılığın, kişiden kişiye farklılık göstermesinde bu genetik değişiklikler etkili olabilmektedir. Kalıtsal kanserlerde bazı genetik faktörler risk oranını artırırken, kalıtsal olmayan kanserlerde çevresel faktörler daha belirleyici olabilmektedir. Çünkü çevresel bir risk faktörü, bir ya da daha fazla genin ekspresyonunu etkileyebilmekte ya da bir polimorfik gen ürünü, çevresel bir faktörün etkisini artırarak kansere neden olabilmektedir (6,7,8).

Elektrik, manyetik ve elektromanyetik alanların kanser riskini arttırıcı etkileri hakkında birçok çalışma mevcut olmakla birlikte, hangi mekanizma ile etkiledikleri henüz tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalar, manyetik alanların hücre içinde bulunan serbest radikalleri etkileyerek, DNA kırıklarını arttırdığını göstermiştir. Hücreler DNA kırıklarını, kısa sürede DNA onarım mekanizmaları ile tamir edebilmektedir. Ancak bu tamir işlemi doğru bir şekilde yapılamaz ise hücreler ya ölmekte ya da mutasyonlar meydana gelebilmektedir. Bu mutasyonlar türüne ve hangi gende olduğuna bağlı olarak hücrenin fonksiyonlarını etkileyebilmektedir (9,10).

Beta-Katenin proteini, 90 kDa' luk, Arm tekrar bölgelerine sahip, katenin protein ailesinin bir üyesidir. Arm tekrar bölgeleri, ilk olarak Drosophila' da beta-katenin'in homoloğu olan armadillo proteininde keşfedilen, yaklaşık 40 amino asitlik bir dizidir (11).

Hücre-hücre adhezyonunun koordineli bir şekilde gerçekleşmesi ve gen ekspresyonunun kontrolü, çok hücreli organizmaların organ farklılaşmasında gereklidir. Beta-katenin geninin ürünü olan proteinin temel görevi, kaderin ve adhezyon reseptörlerini hücre iskeletine bağlayarak hücreler arası adhezyonu düzenlemektir. Ayrıca sitoplazmada serbest olarak da bulunur. Bu gendeki değişiklikler sebebiyle yapısı bozulan beta-katenin proteini, hücre-hücre adhezyonunun zayıflamasına neden olmaktadır. Hücre adhezyonunun düzenlenmesi ve gen transkripsiyona yardımcı bir faktör olarak çalışması sebebi ile beta-katenin geninin, metastatik kanserlerin gelişiminde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (7,12).

Beta-kateninin transkripsiyona yardımcı işlevi, Wnt sinyal yolağındaki görevinden ileri gelmektedir. Wnt sinyal yolağı aktif değilken sitoplazmada serbest halde bulunan beta-katenin, glikojen sentaz kinaz (Gsk3Beta) ve kazein kinaz 1 (CK1) tarafından fosforilize edilerek aktin, adenomatoz polipozis koli (APC), Gsk3Beta ve CK1 ile birlikte yıkıcı kompleksi oluşturur. Fosforilize olan beta-katenin E3 ubikuitin tarafından tanınarak proteazoma götürülür ve yıkıma uğrar. Wnt sinyal yolağı, plazma membranında bulunan frizzled reseptörüne Wnt'nin bağlanması ile birlikte aktifleşir ve uyarılan disheveled proteini beta-kateninin, kinazlar tarafından fosforilizasyonunu engeller. Böylece sitoplazmada serbest halde bulunan beta-katenin bozunuma uğramaz ve birikmeye başlar. Beta-kateninin sitoplazmadaki miktarı arttıkça hücre çekirdeğinin içine girer ve burada TCF/LEF molekülleri ile etkileşerek c-myc, cyclin D1 gibi kritik genleri aktive eder (7).

Wnt sinyal yolağında bulunan beta-katenin ve APC mutasyonları tümör oluşumları ile ilişkilendirilmiştir. Özellikle sitoplazmada serbest beta-katenin düzeyinin arttığı çeşitli kanser türlerinde (hepatosellüler ve kolon kanserleri gibi) gösterilmiştir. Bu kanser türlerinde, beta-katenin artışına bağlı olarak birçok hedef genin aktivasyonu veya inhibisyonu söz konusudur (11). Bu bilgilere dayanarak sunulan **tez çalışmamızdaki amaç; deneysel kolon tümörü gelişimi sırasında uygulanan, 50 Hz sinüsoidal manyetik alanın ortaya çıkardığı biyolojik etkilerin, beta-katenin geni ile olan muhtemel ilişkisini sağlamaktır.**

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Kanser vücut hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde çoğalması sonucu oluşan patolojik duruma verilen genel isimdir. Vücut hücrelerinin kontrolsüz olarak çoğalması ve büyümesi çevresel, kalıtsal ya da her iki faktörün etkisi ile DNA' da meydana gelen hasar sonucu ortaya çıkabilir. Tümör enflamasyona bağlı şişliği tanımlar, malign tümörler ise genellikle kanser olarak adlandırılmaktadır. Ancak günümüzde neoplazma ile eş anlamlı kullanılmaktadır. Tümörler benign ve malign olmak üzere ikiye ayrılır; benign tümörler metastaz yeteneğine sahip olmayan tümörlerdir. Benign (iyi) kelimesi hastalığın progresif olmadığını tanımlamak için kullanılır. Benign tümörler çoğunlukla zararsız olsa da tümörün geliştiği organın fizyolojisi üzerinde olumsuz etkileri olabilir. Kanser olarak da tanımlanan malign tümörler buldukları bölgede çevre dokuyla yapışık bir halde, sınırları belirsiz olarak bulunurlar. Kanser hücreleri kan ve lenf sistemini kullanarak vücut içersinde geliştikleri odaktan çok daha uzak bölgelerde metastaz yapabilirler. Bu gibi durumlarda ek tanı yöntemleri uygulanmazsa hücre orijininin belirlenmesi mümkün olmayabilir (13).

2.1.1. Kanserin Sınıflandırılması

Tablo 2-1: Kanserin sınıflandırılması ve tümör derecelendirilmesi (13)

Kanserin Sınıflandırılması	
Adenokarsinoma	Glandüler dokuları temel alır
Blastoma	Organların embriyonik dokularını temel alır
Karsinoma	Epitel dokularını temel alır
Lösemi	Kan hücrelerini oluşturan dokuları temel alır
Lenfoma	Lenf dokusunu temel alır
Miyeloma	Kemik iliğini temel alır
Sarkoma	Bağ ve destek dokusunu temel alır
Tümör Derecelendirilmesi	
Grade 1	Hücreler iyi diferansiye (düşük dereceli)
Grade 2	Hücreler orta derecede diferansiye (orta dereceli)
Grade 3	Hücreler kötü diferansiye (yüksek dereceli)
Grade 4	Hücreler diferansiye olmamış (yüksek dereceli)

2.1.2. Kanserin Epidemiyolojisi

Epidemiyoloji, çeşitli sağlık olaylarının görülüş sıklığı, dağılımı ve nedenlerini inceleyen bilim dalı olup sadece salgınlarla değil, tüm sağlık olaylarıyla ilgilenir. Epidemiyolojik çalışmalar ve sağlık hizmetlerinin planlanması sırasında öncelikli sorunlar, grupların tespiti ve sağlık olaylarının nedenleri üzerine yapılan araştırmalarda hipotezlerin oluşturulması için önemlidir (14). Uluslararası Kansere Araştırmaları Kurumu' nun (IARC) verilerine göre 2008'de dünya genelinde 12,4 milyon yeni kanser vakası ve 7,6 milyon kanser nedeni ölüm meydana gelmiştir. 2000 yılı itibari ile dünya genelinde 22 milyon kanserli hastanın yaşadığı ve yeni olgular içerisinde

akciğer, meme, kolorektal, mide ve karaciğer kanserlerinin en sık görülen türler olduğu belirtilmiştir (Tablo 2-2) (15).

Tablo 2-2: DSÖ'nün verilerine göre, 2008 itibariyle her iki cinsiyet için tahmini ve öngörülen kanser vaka ve ölüm sayıları (milyon cinsinden), (*Şu anki oranlarda bir değişim olmazsa. **Yıllık %1'lik bir artış olması halinde) (15).

Bölge	2008		2030*		2030**	
	Vakalar	Ölümler	Vakalar	Ölümler	Vakalar	Ölümler
Tüm Dünya	12,4	7,6	20,0	12,9	26,4	17,0
Afrika (AFRO)	0,7	0,5	1,2	0,9	1,6	1,3
Avrupa (ERO)	3,4	1,8	4,1	2,6	5,5	3,4
Doğu Akdeniz (EMRO)	0,5	0,3	0,9	0,6	1,2	0,9
Pan Amerika (PAHO)	2,6	1,3	4,8	2,3	6,4	3,1
Güney Doğu Asya (SEARO)	1,6	1,1	2,8	1,9	3,7	2,6
Batı Pasifik (WPRO)	3,7	2,6	6,1	4,4	8,1	5,9

2.1.3. Kanserın Etyolojisi (Etkenleri)

Kanserın etyolojisinde birden fazla etkenin rol oynadığı tanımlanmaktadır. Bunlar;

- Virüsler, Bakteriler ve Parazitler
- Fiziksel Faktörler
- Sigara ve Kimyasal Faktörler
- Üreme Faktörleri ve Endojen Hormonlar
- Genetik ve Ailesel Faktörler
- Diyet ve Yaşam Tarzı

Virüsler, Bakteriler ve Parazitler: En azından altı farklı virüs insanlarda belirli kanser türleriyle ilişkilendirilmiştir (16). İnsan karsinogenezinde rol aldığı bilinen diğer enfeksiyon yapıcı ajanlar dört parazit ve bir bakteridir. (Tablo 2-3).

Tablo 2-3: Çeşitli kanser vakaları ile ilişkilendirilmiş virüs, bakteri ve parazitler (15)

Enfeksiyon Yapan Ajan	IARC Sınıflandırması	Kanserin Yeri/Türü	Kanser Vakası Sayısı	Dünya Genelindeki Kanser Vakalarının Yüzdesi
H.Pylori	1	Mide	490000	5,4
HPV	1,2A	Serviks ve diğer yerler	550000	6,1
HBV, HCV	1	Karaciğer	390000	4,3
EBV	1	Lenfomakar ve nazofarenks karsinomu	99000	1,1
HHV-8	2A	Kaposi Sendromu	54000	0,6
Schistosoma Haematobium	1	Mesane	9000	0,1
HTLV-1	1	Lösemi	2700	0,1

Fiziksel Faktörler: Endüstriyel, tıbbi ve diğer kaynakların, iyonizan radyasyon etkisiyle lösemi, meme kanseri ve tiroit kanseri de dahil olmak üzere çeşitli neoplazmaların oluşması riskini artırabilmektedir (17,18). İnsanların maruz kaldığı radyasyona en büyük etki tıpta görüntüleme amaçlı kullanılan X-ışınlarından ve radyofarmasötiklerden, nükleer testlerin neden olduğu düşük dozlardaki serpintilerden, nükleer kazalardan (Çernobil ve Fukuşima gibi) ve nükleer tesislerden kazara ve rutin olarak salınan radyasyondan kaynaklanmaktadır (19). Bunların dışında güneşten gelen ultraviyole (UV)

ışınlarına maruz kalmanın kutanöz melanom (CM), bazal hücre karsinomu (BCC) ve skuamoz hücre karsinomunun (SCC) başlıca sebebi olduğu gösterilmiştir ve 1992 yılından bu yana güneş radyasyonu IARC tarafından 1. grup karsinojenik olarak sınıflandırılmaktadır (15).

Sigara ve Kimyasal Faktörler: Dünya genelinde yaklaşık olarak 1,3 milyar insan sigara içmektedir. Sigara kullanımı, insanlarda akciğer, ağız boşluğu, geniz ve sinüsler, yutak, gırtlak, yemek borusu, mide, pankreas, karaciğer, idrar torbası, böbrek ve serviks uteri ile miyeloid lösemi kanserlerini tetikleyen önemli bir etken olduğu gibi, pasif içicilik de akciğer kanserine neden olmaktadır (15,20). Tütün dumanı insanlarda en yaygın kanserojen kaynaktır. Mililitresinde 10^{10} parçacık ve 66'sı kanserojen olan 4800 bileşik içermektedir (15). Bunlar arasında polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve tütüne özel nitrozaminler en önemlileridir.

Üreme Faktörleri ve Endojen Hormonlar: Cinsiyet steroidleri ve büyüme faktörlerinin meme, over ve endometriyum kanseri gibi birkaç tür kanserin etiyolojisinde ve gelişiminde rol oynadıkları bilinmektedir (21,22). İnsan prostat kanserlerinin çoğu endrojenlere ve anti androjen terapilerine karşı çok hassastır. Prostat kanserleri ve endrojenik steroidlerin kullanımı arasında nedensel bir ilişki olduğu düşünülmektedir (23). Kadınlarda serviks kanseri riski birden fazla erkekle ilişkisi olanlarda, erken yaşta cinsel ilişkiye başlamış olanlarda ve erken evlenenlerde yüksektir (24). Meme kanseri riski ise geç evlenenler, geç doğum yapanlarda ya da hiç doğum yapmamış kadınlarda daha yüksektir (25).

Genetik ve Ailesel Faktörler: Genetik ve ailesel faktörlerin kanser oluşumuna katkısı, kanserin türüne ve yaşanılan çevreye göre değişmektedir. Bazı kanser vakaları yalnızca çevresel faktörlerin etkisiyle, genlerde meydana gelen bozukluğa bağlı olarak ortaya çıkabilir. Ancak meme, kolorektal gibi kanser türlerinde ailesel yığılım gözlenmektedir. Bu ailesel kanserlerin ise düşük

penetranslı genler veya düşük penetranslı genlerin çevresel faktörler ile etkileşimi sonucu ortaya çıktığı kabul edilmektedir (26). Sporadik kolorektal kanserli vakaların birinci derece yakınlarında, kolorektal kanser gelişme riski 2-4 kat artmaktadır. Hastanın bir ya da birden fazla akrabasında erken yaşta tanı konan adenom veya karsinom varsa risk daha yüksektir (27).

Diyet ve Yaşam Tarzı: Alkol kullanımı ağız, yutak, gırtlak, yemek borusu, kolon, rektum ve meme kanserleri ile ilişkilendirilmiştir (3,28,29). Alkol kullanımının kanserojen etkisinin hangi mekanizma ile işlediği tam olarak bilinmese de, asetaldehitin genotoksitesi ile başka karsinojen maddeler için solvent rolü oynamasının ve reaktif oksijen türevlerinin metabolizması üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir (30,31). Özellikle IARC çalışma grubuna ait değerlendirmelerde kolon kanserlerinde fiziksel aktivitenin kanseri önleyici etkisi olduğuna dair yeterli kanıtın olduğu savunulmaktadır. Bu koruyucu etkinin vücut ağırlığı ile arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır (15). İstatistiksel çalışmalar fiziksel aktivitenin kanseri önleyici etkisi olduğuna dair yeterli kanıt olduğunu göstermektedir. Buna göre düzenli yapılan fiziksel aktivitenin süresi ve yoğunluğunun artışı ile önleyici etki artmaktadır.

2.1.4. Kolon Kanseri

2.1.4.1. Kolon Kanserinin Sınıflandırılması

1-Kalıtsal Sendromlar

Familyal Adenomatöz Polipozis (FAP): Kalıtsal olduğu bilinen bu sendroma sahip bireylerde, gençlik yıllarında dahi kolonlarından birden fazla benign yapıda polipler gelişebilir. Bu durumda kolon alınmadığı takdirde, bu polipler zaman içinde malign özellik kazanırlar. FAP sendromuna sahip kişilerde gelişen polip sayısı yaş ilerledikçe artar, binlerce olabilir. APC (Adenomataus Polipozis Coli) mutasyonları FAP sendromunun klasik bir bulgusudur. Bu gende meydana gelen mutasyonlar sonucu FAP sendromunda görülen polipler

gelişir. APC mutasyonuna sahip hastaların büyük çoğunluğu kolon kanserine yakalansa da gelişen poliplerin sayısı ve malign yapıya dönüşüp dönüşmeyeceği gende mutasyonun olduğu bölgeye göre değişmektedir (32,33,34). Benzer şekilde MUTYH geninde meydana gelen mutasyonlar da otozomal resesif FAP sendromuna sebep olur. MUTYH mutasyonları sonucu hücre bölünmeye hazırlanırken meydana gelen DNA hatalarının düzeltilmesi mümkün olmayabilir. Böylece hastalardaki DNA hataları hücrelerin kontrolsüz büyümesini ve kolon poliplerinin kansere dönüşme ihtimalini arttırmaktadır (34). FAP gelecek nesillere farklı şekillerde aktarılabilir. APC'den kaynaklanan FAP otozomal dominant yolla geçer. Her hücrede değişikliğe uğramış genin tek kopyası olması yeterlidir. Çoğu vakada hastanın ebeveynlerinden birisinde bulunması yeterlidir. MUTYH ise otozomal resesif yolla geçer. Her hücrede genin iki kopyasında da değişiklik meydana gelmiş olmalıdır. Çoğunlukla bu genin tek kopyasını taşıyan kişiler herhangi bir belirti göstermezler (35).

Kalıtımsal Non-Polipozis Kolorektal Kanser (HNPCC): Lynch sendromu olarak ta bilinen HNPCC, otozomal dominant geçişli bir kanser sendromu olup kolorektal kanserlerin %4-6'sını oluşturur. Metastazları endometrium, over, mide, ince bağırsak, hepatobilier traktüs, üst idrar yolları, beyin ve deride görülür. HNPCC vakalarının büyük çoğunluğuna sebep olan DNA uyumsuzluğu tamir genlerinin (MSH6, PMS1, PMS2, MSH3, özellikle MLH1 ve MSH2) mutasyona uğradıkları görülmüştür. Bu genler, hücrede DNA hasarlarının tamirinden sorumludur. Hata tamir edilemiyorsa hücrede apoptozisi başlatarak hücrenin imhasını, dolayısıyla hasarlı DNA'nın ortadan kaldırılmasını sağlarlar. Bu genlerde meydana gelen bir hasar sonucu hücrelerde mutasyonlar birikmeye başlar ve kanser oluşur (35,36).

2-Sporadik Sendromlar

Ailesinde güçlü bir kalıtsal olgu olmamasına rağmen, kanser teşhisi konulan vakalar bu sınıfta değerlendirilir. Yine de hastaların %20'sinde ailesel kanser öyküsüne rastlanmaktadır. Kalıtsal vakalarda sıklıkla rastlanan; APC, mismatch tamir genleri, p53, k- ras, MAD (mother against DPP), MADR (MAD-related genes) ve DCC gen mutasyonlarına, sporadik vakalarda da rastlanmaktadır. Kolon kanseri gelişme riski, sporadik kolon kanseri hastalarının birinci derece yakınlarında 2-4 kat artmaktadır. Eğer kanser, 50 yaşından küçük bir aile bireyinde ortaya çıkmışsa, diğer aile üyeleri için kolon kanserine yakalanma riski daha da artmaktadır (35,36).

2.1.4.2. Kolon Kanserinin Epidemiyolojisi

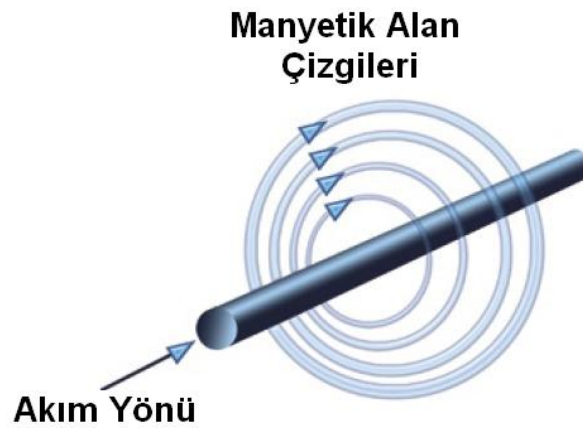
Kolon ve rektum kanserleri, ABD, Kanada, İngiltere, Fransa, Almanya gibi gelişmiş batılı ülkelerde, yüz binde 40-60 aralığında görülme sıklığına sahip önemli bir sağlık sorunudur. Yalnızca 2008 yılında tüm dünyada kanser teşhisi konulmuş 12,4 milyon kişiden 7,6 milyonu bu hastalık nedeniyle hayatını kaybetmiştir ve bunların arasında kolorektal kanserler 1,15 milyon ile en sık rastlanılan 3. kanser türüdür (15,37). Ülkemizde Kanserle Savaş Dairesi'nin yayınladığı "2004-2006 Türkiye Kanser İnsidansı" raporuna göre kolorektal kanserler erkeklerde en sık görülen 4. kanser türü iken kadınlarda 3. sırada yer almıştır (38). ABD'de yılda yaklaşık olarak 150 000, Avrupa'da 170 000 tüm dünyada ise yaklaşık olarak yılda bir milyon yeni vaka görülmektedir. Yaşam süresi boyunca toplumda her 50 kişiden birinde kolorektal kanser oluşmaktadır. A.B.D.'de tüm yeni kanser vakaları içinde görülme sıklığı erkekte ve kadında % 11 oranı ile üçüncü sırayı almaktadır (15,37).

Kolon kanserinin görülme sıklığı değişik coğrafyalarda yaşayan toplumlarda farklıdır. Örneğin, Kuzey Amerika, Kanada, Avustralya, Yeni Zelanda ve Orta Avrupa'da yüksek insidans gösterirken, Asya ve Güney

Amerikada düşüktür. Kolon kanseri ve rektal kanser sıklığı genelde paralellik göstermekle birlikte coğrafi farklılık kolon kanserinde daha belirgindir. Kuzey Amerika gibi yüksek riskli bölgelerde kolon kanseri rektal kansere göre iki kat daha sık görülmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar kolorektal kanserin yüksek yağ ve düşük lif oranı içeren diyetle beslenen toplumlarda daha sık görüldüğünü göstermektedir (39,40). Bazı ailesel kanser sendromları kolon kanseri riskini spesifik olarak arttırır, bunlar; Ailevi Adenomatous Polipozis Koli (FAP), Kalıtsal Non-Poliozis Kolon Kanseri (HNPCC), Peutz-Jeghers Sendromu (PJS), ve Cowden Hastalığı'dır (41).

2.2. Manyetik alanlar

Bir mıknatıs parçasının yanında duran iğne doğal olarak mıknatısa doğru yönelir. Bunun sebebi mıknatıs tarafından oluşturulan manyetik alanın iğne üzerine uyguladığı kuvvettir. Manyetik alan bir gözlemciye göre, düzgün doğrusal hareket eden yükler tarafından da oluşturulur. Manyetik alan vektörü B ile gösterilir, alan çizgilerinin yönü hareket halindeki yüklerin yönüne diktir (Şekil 2-1). Manyetik alanı oluşturan manyetik alan çizgileri kendi üzerlerine kapanan eğriler oluştururlar.



Şeki 2-1: Akım yönü ve manyetik alan çizgilerinin yönü arasındaki ilişki

Hidroelektrik santraller veya barajlarda üretilen elektrik alternatif akım olarak enerji nakil hatları üzerinden taşınır. Elektrik akımları, alternatif akımlar ve doğru akımlar olmak üzere ikiye ayrılır. Alternatif akımların, genliği ve yönü periyodik olarak değişir. Örneğin ülkemizde kullanılan şehir şebekesi 50Hz frekansında çalışmaktadır. Bu akımlar tarafından üretilen manyetik alanlar tıpkı kaynakları gibi zıt kutuplar arasında saniyede 50 salınım yapar. Saniyede 50Hz frekansa sahip manyetik alanlar ELF (Aşırı Düşük Frekanslı) manyetik alanlar olarak adlandırılırlar (42,43).

2.2.1. Manyetik Alanların Biyolojik Etkileri

ELF manyetik alanlar sahip oldukları şiddete göre canlı vücudunda bulunan yüklü tanecikleri etkileyerek vücutta elektrik akımcıklarının oluşmasına sebep olabilirler (43). Birçok laboratuvar çalışması ELF manyetik alanların canlılarda süre gelen biyolojik olayların büyük kısmına etkisi olmadığını göstermiştir. Ancak manyetik alanların özellikle hücre büyümesi, hormon aktivitesi ve hücre içersindeki kalsiyum miktarı üzerinde etkili olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Ancak kimi etkilerin meydana gelebilmesi için koşulların normal günlük manyetik alan etkisinden oldukça farklı olması gerekmektedir (44,45).

2.2.2. Manyetik Alanlar ve Kanser

ELF manyetik alanların muhtemel kanserojen etkilerini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar arasında laboratuvarda yapılan hücre kültürü ve hayvan deneyleri, meslekleri sebebiyle manyetik alana sürekli maruz kalan insanların verilerinden çıkılarak yapılan epidemiyolojik çalışmalar yaygındır. Sonuç olarak şiddetli manyetik alana maruz kalan ve çocuklarda görülen lösemi arasında zayıf ancak tutarlı bir korelasyon olduğuna dair bir fikir birliği oluşmuştur (45). Özellikle ICNIRP (Uluslar Arası Non-İyonizan Radyasyondan Korunma Komisyonu) tarafından belirlenen limit değerlerin üstünde, 0,4

μT 'dan yüksek şiddete sahip manyetik alanlar ve çocuklarda artan lösemi insidansı arasında bir korelasyon kurulmuştur (46,47). Ancak yapılan bu epidemiyolojik çalışmalar manyetik alanların kanser gelişim mekanizmasını açıklayamamaktadır. Ayrıca, yapılmış olan hayvan deneyleri kanser ve manyetik alanlar arasındaki ilişkiyi tam olarak ortaya koyamamaktadır (48). Çocuklarda görülen lösemi vakaları ve manyetik alan arasında bir ilişki olduğuna dair kuvvetli şüpheler olmasına rağmen, yapılan laboratuvar çalışmaları manyetik alanların kanser üzerindeki etkisini tam olarak gösterememiştir. Sonuç olarak çalışma grupları arasında manyetik alanların kanserojen etkisi üzerine bir anlaşmazlık ortaya çıkmaktadır (49,50).

2.3. Wnt/Beta-katenin Sinyal Yolu

Wnt/Beta-katenin sinyal yolu ismini wnt ligandları ve bir adhezyon molekülü olan beta-katenin proteininden alır. Wnt/Beta-katenin sinyal yolu hayvanlar aleminde, omurgalılar ve omurgasızlar arasında oldukça yaygındır (51). Embriyonik dönemde ve yetişkin doku homeostazisinde hücre çoğalması, hücre polaritesi ve hücre kaderinin belirlenmesinde kritik öneme sahiptir. Gelişim ve homeostazis gibi önemli süreçlerde rol alan Wnt sinyal yolu insanlarda birçok doğum defekti, kanser ve bazı gelişim hastalıkları ile ilişkilendirilmiştir (51-54). Kısaca Wnt ligandlarının sekresyonuna bağlı olarak hücre, içerisinde bulunan beta-katenin düzeyinin kontrol edilmesini sağlayan bir çalışma mekanizmasına sahiptir. Ayrıca Wnt ligandlarının, hücre içerisindeki beta-katenin regülasyonuna ihtiyaç duymayan birkaç farklı sinyal mekanizması daha bulunmaktadır (55,56).

2.3.1. Wnt/Beta-Katenin Sinyal Yolu Elemanları

2.3.1.1. Beta-katenin (Beta-Catenin)

Katenin protein ailesinin bir üyesi olan beta-katenin proteini, 90 kDa'lık, armadillo (Arm) tekrar bölgelerine sahiptir. Arm tekrar bölgeleri, ilk olarak *Drosophila*'da beta-kateninin homologu olan armadillo proteininde keşfedilen, yaklaşık 40 amino asitlik bir dizidir (11).

Beta-katenin mutasyonları amino terminal bölgede meydana geldiklerinde, proteinin yıkım kompleksi ile bağlanma yeteneği ortadan kalkar. Bu nedenle fosforilize olamayan beta-katenin ubiquitinler tarafından tanınmazlar ve sitoplazmada birikirler. Birçok insan ve deneysel tümörde beta-kateninin mutasyonuna rastlanmaktadır. Özellikle APC mutasyonları ile beta-katenin mutasyonları arasında bir ilişki göze çarpmaktadır. APC mutasyonuna sık rastlanan tümörlerde beta-katenin mutasyonları oldukça seyrek görülürken, APC mutasyonunun düşük seviyede olduğu tümörlerde beta-katenin proteinini sentezleyen beta-katenin geni mutasyonuna rastlama olasılığı oldukça yüksektir. APC ve beta-katenin arasındaki bu ilişkinin kalıtsal ve sporadik kanser formlarında da benzer şekilde olduğu görülmüştür; ancak bu korelasyona endometrial kanserlerde rastlanmamıştır. Gastrik kanserler ve hepatoselüler karsinomada wnt/beta-katenin sinyal yolunda, özellikle beta-kateninde meydana gelen mutasyonlara sıklıkla rastlanmaktadır. Düşük oranda olsa da melanoma ve prostat kanseri dahil bir çok kanser türünde beta-katenin mutasyonlarına rastlanmıştır (12).

2.3.1.2. APC (Adenomatous Polyposis Coli)

İlk olarak FAP hastalarının genetik analizi sonucu tanımlanmış olan APC geni, beta-katenin üzerine yapılan çalışmalarda da sıklıkla incelenen bir bölgedir. *Drosophila*'da yapılan çalışmalarda APC'nin mutasyonu sonucu beta-katenin sinyalizasyonunun arttığı gözlemlenmiştir. Bu özelliği nedeniyle APC

tümör süpresör olarak tanımlanır. APC'nin sahip olduğu üç bağlanma bölgesinden birinde meydana gelen mutasyon, aksin ile bağ kurmasını engelleyerek beta-kateninin yıkım kompleksine katılmasını engeller (12).

2.3.1.3. Dishevelled

Yapılan genetik analizler wnt sinyal yolunun pozitif mediyatörü olarak çalışan Dishevelled'in hücre içersinde bulunan beta-katenin proteinin pozitif regülâtörü olduğu anlaşılmıştır. Dishevelled'in aşırı ekspresyonu ya da mevcut miktarının aktivasyonu sitoplazmada bulunan aksin proteinini bağlayarak yıkım kompleksinin oluşumunu engeller. Bu sebeple neoplastik transformasyonun oluşumu üzerinde etkili olduğu düşünülebilir, ancak insan kanserleri ile direkt bir ilgisi rapor edilmemiştir. Dishevelled ile kanser arasındaki muhtemel bir ilişki Dishevelled'in fosforilize ederek bağlanabilen ve lenfoma formasyonun oluşumunu tetikleyen kazein kinazların etkisi ile olabileceği bildirilmektedir (12).

2.3.1.4. Aksin

Aksin, ilk olarak xenopus embriyolarında wnt sinyal yolu inhibitörü olarak tanımlandı ve direkt olarak APC, beta-katenin, Gsk3Beta ve dishevelled ile bağlanarak yıkım kompleksine katıldığı anlaşıldı. Xenopus, drosophila, memeli hayvan kültür hücreleri aksinin, beta-katenin down regülasyonunda merkezi oluşturduğunu gösterdi. Çalışma mekanizması tam olarak bilinmese de aksin, beta-katenin ve APC' nin, Gsk3Beta tarafından fosforilizasyonunu kolaylaştırdığı bilinmektedir (12).

2.3.1.5. CK1 (Casein Kinase 1)

Kazein kinaz 1 proteinleri Wnt/beta-katenin sinyal yolunda birden fazla formu bulunan kinaz ailesi üyeleridir. Kazein kinaz 1'in Wnt/beta-katenin sinyal yolunda disheveled'in fosforilizasyonundan sorumlu olduğu

düşünülmektedir. Yıkım kompleksinin yapısına katılan CK1, aksin, beta-katenin ve APC proteinlerinin fosforilizasyonunu başlatır (12).

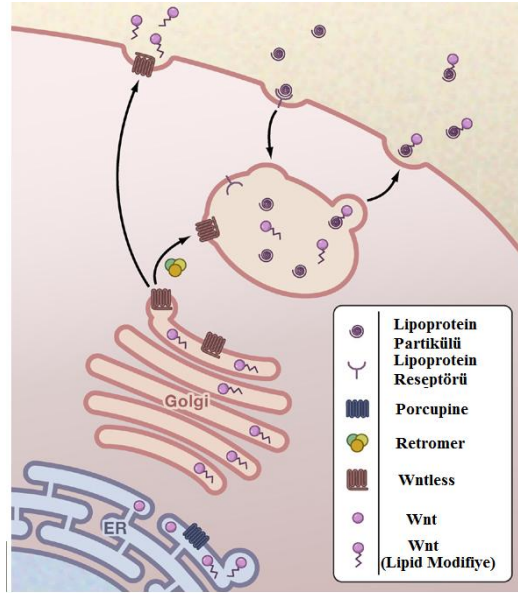
2.3.1.6. Gsk3Beta (Glycogen synthase kinase 3-Beta)

Gsk3Beta, wnt sinyal yolunda bir dizi proteinin fosforilizasyonundan sorumlu serin/treonin kinaz proteindir. Sinyal yolunda serbest beta-kateninin negatif regülatörü olduğu için potansiyel tümör süpressör olarak sınıflandırılabilir. Ancak kolon kanseri vakalarında yapılan incelemelerde Gsk3Beta'ya ait herhangi mutasyon ya da kodlamada eksik bir bölgeye rastlanmamıştır (12).

2.3.2. Wnt Ligandlarının Sekresyonu

Hücrede wnt sekresyonunun gerçekleşebilmesi için iki önemli protein bulunmaktadır; wntless ve retromer kompleksi (Şekil 2-2). Endoplazmik retikulumda porcupine isimli protein tarafından palmitasyonu gerçekleştirilen wnt ligandları, golgi cisminin membranlarında bulunan wntless proteinleri eşliğinde sekresyon için geçici olarak depolandıkları endozomlara götürülürler. Ardından taşıma görevini yerine getiren wntless proteinleri retromer kompleksi tarafından tekrar golgi membranına taşınır ve döngü devam eder.

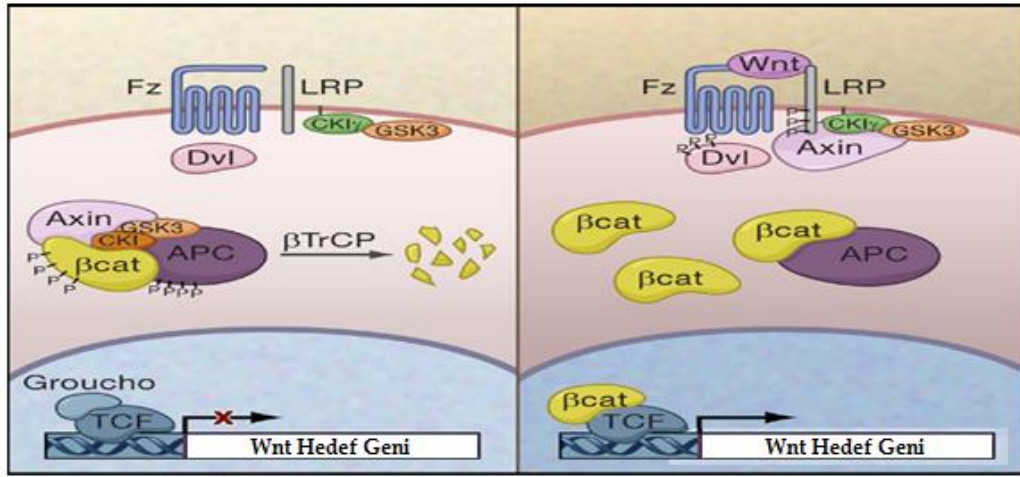
Tam olarak anlaşılammış olsa da wnt ligandlarının kısa ve uzun mesafelerdeki dağılımları iki temel ekstraselüler dağılım mekanizması ile açıklanmaya çalışılır. Kısa mesafelerde Wnt ligandlarının sahip olduğu lipidler multimerler tarafından kaplanarak yüksek oranda su içeren ekstraselüler ortamda ilerlemesini kolaylaştırıldığı düşünülmektedir. Uzak mesafelerde ise lipoproteinlere bağlanarak taşındıkları düşünülmektedir. Membran yapısında bulunan kimi lipoproteinlerin aktivitesi ve Wnt sinyalizasyonunun kat ettiği mesafe arasında ilişki bulunmuştur (54).



Şekil 2-2: Wnt sekresyonu (54)

2.3.3. Wnt/Beta-Katenin Sinyal Mekanizması

Hücrede iki farklı bölgede beta-katenin proteinlerine rastlanır. İlk grup, sitoplazmada serbest halde bulunan ve sinyalizasyon mekanizmasında aktif rol oynayan serbest beta-katenin ya da sitoplazmik beta-kateninlerdir. İkinci grup ise kaderin ailesi ile birlikte kaderin-katenin kompleksinde yer alarak hücre adhezyonunda görev alan gruptur. Adhezyon boşluklarında beta-katenin ve plakoglobin kaderinlerin transmembran reseptörlerinin sitoplazmik uçlarına bağlandıkları gibi diğer taraftan alfa katenin yardımı ile aktin iskeleti arasında bağ yapmaktadır. Hücrelerde Wnt sinyal yolunun inaktif olduğu durumda sitoplazmada serbest halde bulunan beta-katenin yıkım kompleksi adı verilen glikojen sentez kinaz 3, kazein kinaz 1, adenomatus polyposis coli ve aksin tarafından yakalanır. Bu kompleks tarafından fosforilize edilen beta-katenin ubikuintinler tarafından yakalanarak protozoma götürülür ve indirgenir. Böylece sitoplazmada serbest halde bulunan beta-kateninler baskılanmış olur (Şekil 2-3).



Şekil 2-3: Wnt/Beta-Katenin sinyal yolu mekanizması (54)

Wnt ligandlarının varlığında ise frizzled ve LRP5/6 reseptörleri uyarılır ve sitoplazmada bulunan dishevelled proteinini bağlarlar. Dishevelled'in aksine olan afinitesi yıkım kompleksindeki diğer proteinlerden yüksektir. Bu sebeple yıkım kompleksinin oluşumu engellenir ve sitoplazmada serbest halde bulunan beta-katenin miktarı zaman içinde artmaya başlar. Artan beta-katenin bir süre sonra nükleer membrandan geçerek Groucho tarafından baskılanan ekspresyon faktörleri TCF/LEF'in aktivasyonunu sağlar. Bu sayede cyclin D1 veya MYC gibi transkripsiyon faktörleri açığa çıkar. Benzeri şekilde beta-katenin proteininin fosforilizasyon bölgelerinde meydana gelen bir mutasyon, yıkım kompleksinin başarılı bir şekilde kurulmasını engeller ve sonuç olarak çekirdek içindeki ekspresyon faktörleri aktifleşir (12).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Grupların Oluşturulması ve Örneklerin Eldesi

Bu çalışmada, Doç.Dr. Handan Tuncel'in arşivinde bulunan deneysel olarak geliştirilmiş sıçan kolon tümörü olgulara ait 58 adet parafin blok kullanılmıştır (57,58). Bu doku örneklerine ait kodlar ve gruplar aşağıda verilmiştir (Tablo 3-1).

Tablo 3-1: Deney grupları

Gruplar	Örnek Kodları	Örnek Sayısı
Kontrol Grubu	1-10	10
SMA Grubu	11-24	14
SMA+MNU Grubu	25-40	16
MNU Grubu	41-58	18

3.1.1 Tümör Modelinin Geliştirilmesi

Geliştirilen tümör modeli, manyetik alan uygulaması ve arşiv blokları Doç.Dr.Handan Tuncel tarafından 1997 yılında kendi doktora çalışmasında kullanılmak üzere şu şekilde yapıldı;

60 mg MNU, 6 ml steril izotonik (%0,9 NaCl) içinde çözülmüştür. Hazırlanan solüsyon MNU ve SMF+MNU grubu hayvanlarına denek başına 0,2 ml olmak üzere intrarektoral yolla verilmiş. İşlemden No:8 feeding tüpü, rektumdan 6 cm sokulmuş ve solüsyon uygulanmıştır. Bu uygulama haftada 1 defa olmak üzere 10 hafta boyunca tekrarlanmış (57,58).

Manyetik alan kaynağı olarak 12 adet seri bağlı, 560 sarımlı, yumuşak demir çekirdekli, bakır telden hazırlanan selenoid bobin kullanılmış. Bobinler 220V, 50 Hz'lik şehir şebeke sistemine bağlanmış ve oluşturdukları manyetik

alan şiddeti 5 mT olarak ölçülmüş. Hayvanlar bu şiddette manyetik alana 13 ay boyunca haftada 5 gün, günde 6 saat maruz bırakılmışlar (57,58).

Deneyin 8. ve 13. aylarında rastgele seçilen hayvanlar sakrifiye edilmiş ve kolon dokuları formol içine alınmıştır. Ardından fikse edilen dokular İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda incelenmiş (57,58).

3.2 Kullanılan Malzemeler

3.2.1 Kimyasallar

Tablo 3-2: Kullanılan kimyasallar

Kimyasal	Marka
Agaroz	Sigma
Akrilamid	Sigma
Asetik Asit	Sigma
Bisakrilamid	Sigma
dNTP	Takara
Etanol	Merck
Etidyum Bromür	Sigma
Formaldehit	Sigma
Glasiyel Asetik Asit	Sigma
Gliserol	Merck
AgNO ₃	Sigma
Ksilen	Merck
Marker	Biobasic
MgCl ₂	Qiagen
Na ₂ CO ₃	Sigma
Proteinaz K	Qiagen
NaOH	Merck
Taq Polimeraz	Qiagen
TEMED	Sigma

3.2.2 Çözeltiler

%30'luk Akrilamid/Bisakrilamid Çözeltisi: 200 ml distile su içersinde 60 gr akrilamid ve 1.6 gr N,N'-methylenebisacrylamide karıştırılarak çözülür.

50X TAE Tamponu: 242 gr Tris karıştırılarak 600 ml distile suda çözülür, 100 ml 0,5 M EDTA pH 8,0 ve 57,2 ml glasiyel asetik asit eklenir ardından karışım distile su ile 1 litreye tamamlanır.

10X TBA Tamponu: 108 gr Tris karıştırılarak 600 ml distile suda çözünür, 55 gr borik asit ve 40 ml 0,5M EDTA pH 8,0 eklenir ardından karışım distile su ile bir litreye tamamlanır.

TRIS 1,5 M pH 8,8: 181,65 gr Tris 700 ml distile suda karıştırılarak çözünür, pH 8.8 olana kadar HCl eklenir ardından çözelti distile su ile 1 litreye tamamlanır ve otoklavlanarak sterilize edilir.

TRIS 1 M pH 6,8: 121 gr Tris 750 ml distile suda karıştırılarak çözünür, pH 6,8 olana kadar HCl eklenir ardından çözelti distile su ile 1 litreye tamamlanır ve otoklavlanarak sterilize edilir.

SSCP Yükleme Tamponu: 49 ml formamid, 1 ml 0,5M EDTA, 0,0013gr bromfenol mavisi, 0,0013 ksilen siyanol

Gümüş Nitrat Boyama Çözeltileri:

1. Çözelti: 20 ml etanol ve 10 ml asetik asit karıştırılır ardından karışım distile su ile 250 ml'ye tamamlanır.
2. Çözelti: 250 ml distile su içersinde 0.25 gr $AgNO_3$ çözdürülür.
3. Çözelti: 250 ml distile su içersinde 3,75 gr NaOH çözdürülür ardından 375 μ l formaldehit eklenir

4. Çözelti 250 ml su içerisinde 1,875 gr Na_2CO_3 çözündürülür.

3.2.3 Ekipman

Tablo 3-3: Kullanılan gereçler

Kullanılan Gereç	Marka
Buzdolabı	Arçelik
Yatay Elektroforez Sistemi	Thermo
Dikey Elektroforez Sistemi	Hoefer
Güç Kaynağı	Thermo
Hassas Terazı	Radwag
Isıtıcı	Sinbo
Manyetik Karıştırıcı	Elektromag
Mikrodalga Fırın	Altus
Mikropipet (1-10 μl , 10-250 μl , 100-1000 μl)	Eppendorf
Mikrotom	Slee
Mikrosantrifüj	Scanspeed
Otoklav	Hirayama
Termal Cyclcer	Techne TC-312
Termomiksır	Eppendorf
Translümünatör	-
Vorteks	Harmony VTX-3000L
Fotoğraf Makinası	Kodak
Nanodrop	Thermo
pH Metre	Hanna

Tablo 3-4: Kullanılan sarf malzemesi

Kullanılan Sarf Malzemesi	Marka
Eppendorf (0,2 ml, 0,5 ml, 1,5 ml)	Eppendorf
Mikropipet Ucu (1-10µl, 10-250µl, 100-1000µl)	Capp
Lam	Isoterm

3.2.4 Kit

QIAGEN - QIAamp DNA FFPE Tissue Kit

3.3 Parafin Bloklardan DNA Eldesi

1. gün

1- Mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesilen örnekler lam üzerine alınarak kurumaları sağlandı.

2- Örneklerin bulunduğu lamlar parafinin çözülmesi için iki defa 10'ar dakika temiz ksilen içersinde bekletildi.

3- Deparafinizasyon işlemi ardından dokularda kalan ksileni temizlemek için lamlar iki defa 10 dakika %96'lık temiz etanolde bekletildi. Bu işlemin sonunda örnekler alkolden çıkarıldı ve oda sıcaklığında kurumaları sağlandı.

4- Kuruyan örneklerin lamdan kazınması için üzerlerine bir damla ATL tamponu (QIAGEN-QIAamp DNA FFPE Tissue Kit) damlatıldı ve otoklavlanmış steril kürdanlar ile lamdan kazındı.

5- Her bir örnek kendi için hazırlanmış olan ve içersinde 180 µl ATL tamponu (QIAGEN - QIAamp DNA FFPE Tissue Kit) bulunan ependorflara alındı. Ependorfa alınmış her bir örneğe 20 µl proteinaz K (QIAGEN - QIAamp DNA FFPE Tissue Kit) eklendi, vorteks ile karıştırıldıktan sonra tüpler 56 °C'deki inkübatöre kaldırılarak tüm dokular parçalanana kadar gece boyunca inkübe edildi.

2. gün

6- Ertesi sabah proteinaz K (QIAGEN-QIAamp DNA FFPE Tissue Kit) inaktivasyonunun sağlanması için örnekler 90 °C' deki termomiksıra alınarak 1 saat inkübe edildi.

7- Her bir tüpe 200 µl AL tamponu koyuldu (Qiagen FFPE DNA Extraction Kit) ve 200 µl %96'lık etanol eklendi, vorteksin ardından tüpler kısa bir süre santrifüj edildi.

8- Karışım, QIAGEN-QIAamp DNA FFPE Tissue Kit'ine ait kolonlara aktarılarak 6000 g'de 1,5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminin ardından kolonun altındaki tüp atılarak kolon yeni bir tüpe yerleştirildi.

9- Kolona 500 µl AW1 tamponu (QIAGEN-QIAamp DNA FFPE Tissue Kit) eklenerek karışım 6000 g'de 1,5 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden alınan kolonların altlarındaki tüpler atılarak yeni tüpler yerleştirildi.

10- Her kolona 500 µl AW2 tamponu (Qiagen FFPE DNA Extraction Kit) eklendi ve karışım 20.000 g'de 4 dakika santrifüj edildi.

11- Santrifüjün ardından kolonların altındaki tüpler atılarak kolonlar temiz ependorflara yerleştirildi. Kolonlara 100 ATE tamponu (Qiagen FFPE DNA Extraction Kit) eklenerek tüpler 20000 g'de 1,5 dakika santrifüj edildiler. DNA altta kalan tamponda toplandı.

12- Ardından DNA örneklerinin çözeltideki konsantrasyonu nanodrop cihazı ile ölçüldü.

3.4 PZR Reaksiyonları

3.4.1 Kullanılan Primer Dizisi ve PZR Miksi

Tablo 3-5: Beta-Katenin ekson 3 primer dizileri

Foward	5'-GGAGTTGGACATGGCCATGG-3'
Reverse	5'-TCCACATCCTCTTCCTCAGG-3'

Tablo 3-6: PZR Miksi

Bileşen	Miktar
10X Dream Taq Green Buffer	5 µl
dNTP(0,2 mM her baz)	5µl
Forward Primer	0,5 µl
Reverse Primer	0,5 µl
Kalıp DNA	1 µl
Dream Taq DNA Polimeraz	1,25 U
Distile Su	39 µl

Tablo 3-7: Kullanılan PZR Programı (*)

Siklus Aşaması	Sıcaklık	Süre
İlk Denatürasyon	94 °C	3 dakika
Anneling	57°C	30 saniye
Elongasyon	72 °C	1 dakika
Bitiş	72 °C	1 dakika

(*)Örnekler tabloda verilen değerler ile 35 döngüye tabi tutuldu.

3.5 Elektroforez

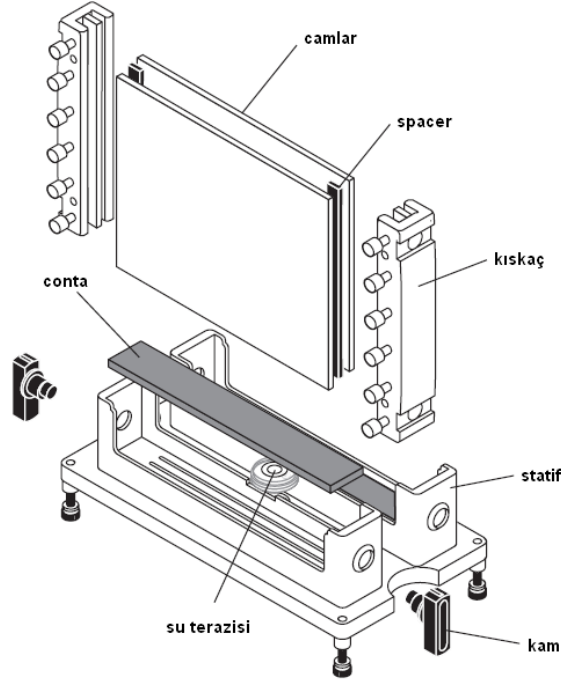
Agaroz Jel Elektroforezi

Agaroz jel elektroforezi PZR tepkimelerinin verimli çalışıp çalışmadığının kontrolünde kullanıldı. Örnekler, % 2 oranında hazırlanmış olan agaroz jelde 110 voltta 20 dakika (50-1100 bç aralığında) DNA belirleyici eşiliğinde yürütüldü ve etidyum bromür ile boyanarak UV ışık altında görüntülendi.

%2' lik Agaroz Jelin Hazırlanması: 100 ml 1X TAE tamponu 200 ml'lik erlende 2 gr toz agaroz karıştırıldı. Karışım mikrodalga fırına konularak toz agaroz tamamen çözünüp, karışım şeffaflaşana kadar kaynatıldı. Fırından çıkartılan çözeltinin ısı dağılımının dengeli bir biçimde sağlanması için 5 dakika dairesel hareketlerle sallayarak bir miktar soğuması beklendi. İçersine 10 µl etidyum bromür eklendi ve çözelti içersinde homojen bir biçimde dağılması sağlandı. Son olarak çözelti yatay elektroforez sistemine ait tabağa döküldü ve taraklar yerleştirildi, jel donana kadar bekletildi.

Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmi Tayini (SSCP)

Dikey Sistemin Kurulması: Hoefer sistemine ait conta lar yumuşak kısmı alta gelecek şekilde statife yerleştirilirler. Camlar %70'lik alkol ile silinerek temizlendi ve spacerlar camın iki tarafına gelecek şekilde dikkatlice yerleştirildi. İkinci cam spacerların üzerine yerleştirildikten sonra camlar kışkaçlarla iki ucundan sıkıştırıldı. Kışkaçların statife yerleştirilmeden önce alt uçları vazelinlendi. Böylece jellerin boyama safhasında sistemden kolay ayrılması sağlandı.



Şekil 3-1: SSCP incelemesinde kullanılan Hoefer dikey elektroforez sistemi

Kışkaçların statife yerleştirilmesinin ardından camlar yuvalarına takılıp çevrilerek sıkıştırıldı. Ardından aşağıdaki protokole uygun olarak hazırlanmış jel çözeltisinden bir miktar alındı ve kapatma jeli olarak sisteme 1-2 cm yüksekliğinde olacak şekilde döküldü. Kapatma jelinin donmasının ardından alt jel sisteme döküldü (Şekil 3-1).

%12'lik Poliakrilamid Jelin Hazırlanması

Sistemin kurulmasının ardından ilk olarak alt jel hazırlandı (Tablo 3-7).

Tablo 3-8: Alt Jel Bileşenleri

10 ml dH ₂ O
7,5 ml 1,5 M Tris (pH:8,8)
12 ml Akrilamid/Bis
1,5 ml Gliserol
100 µl %10'luk APS
25 µl TEMED

Alt Jelin Hazırlanmasının 1. Gün İşlemleri:

1-10 ml dH₂O içersinde; 12 ml akrilamid/bis, 1,5 ml gliserol, 7,5 ml 1,5 M Tris pH 8,8 ve 100 µl APS karıştırıldı.

2- Karışımdan 5 ml kapatma jeli hazırlamak üzere ayrı bir kaba alındı ve üzerine 25 µl TEMED eklendi, jel donmadan dikey sisteme 1-2 cm yüksekliğinde kapatma jeli olarak döküldü.

3- Kapatma jelinin donmasının ardından hazırlanan ana stoka 25 µl TEMED eklenir. Çözelti dikey sisteme döküldükten donması için sistem 16 saat +4 °C' deki buzdolabına kaldırıldı. Ertesi gün üst jel hazırlandı(Tablo 3-8);

Tablo 3-9: Üst Jel Bileşenleri

6,5 ml dH ₂ O
1,25 ml 1M Tris (pH: 6,8)
2 ml Akrilamid/Bis
100 µl APS (%10'luk)
25 µl TEMED

Alt Jelin Hazırlanmasının 2. Gün İşlemleri:

4- Alt jelin donmasının ardından üst jel hazırlandı ve sisteme dökülerek taraklar yerlerine yerleştirildi.

5- Üst jelin donması beklendi. Jelin donmasının ardından oluşan kuyular TEB tamponu ile yıkanarak temizlendi.

Örneklerin Hazırlanması ve Yüklenmesi

Daha önce agaroz jelde yürütülen pozitif örnekler 10 µl örnek + 10 µl denatüre edici tampon ile karıştırılarak ependorflara alındı. Örneklerin denatürasyonlarının sağlanması için ependorflar 10 dakika 95 °C'de kaynar suda bekletildi. Ardından çıkarılan örnekler buz kalıplarına yerleştirilerek 5 dakika 4 °C'de olan buzdolabına alındılar. Her kuyuya 20 µl boya+örnek karışımı yüklendi ve örnekler 5 saat boyunca 200 V gerilimde yürütüldü.

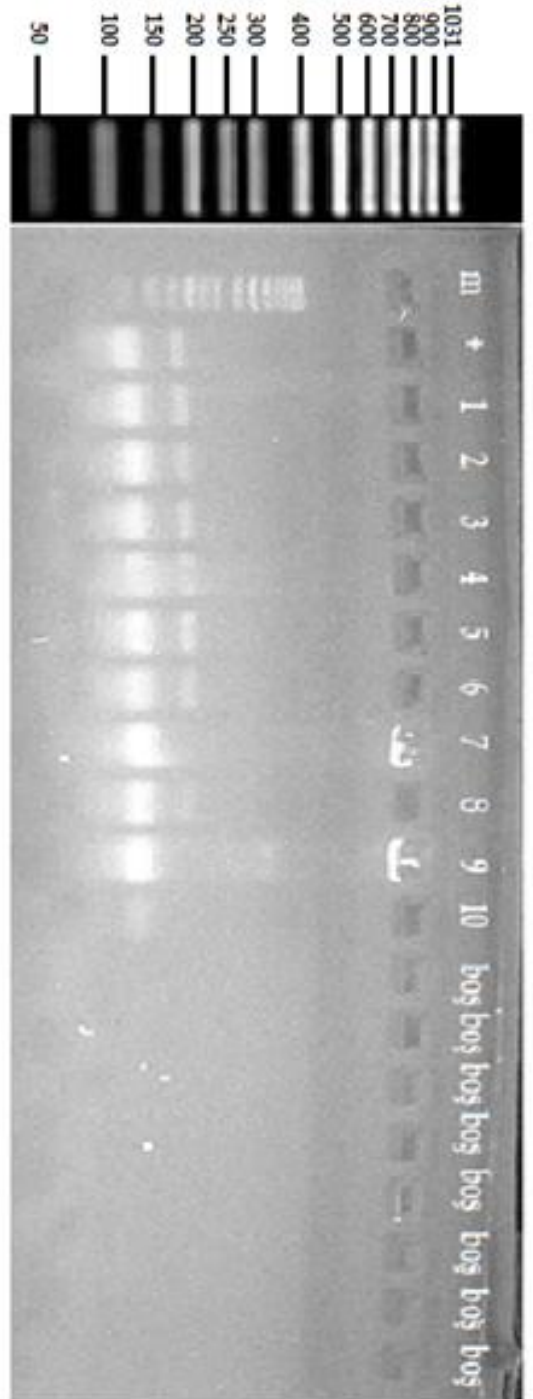
Gümüş Nitrat Boyaması ve SSCP Sonuçlarının Görüntülenmesi

Poliakrilamid jel ile ayrılan ürünlerin gözlenmesi için jel gümüş boyama yöntemi ile boyandı. Jelin yürütmesi tamamlandıktan sonra elektroforez tankından alınan camların arasındaki ayıraçlar çıkartıldı. Bistüriyle dikkatli bir şekilde camın birbirinden ayrılması sağlandıktan sonra jel glasiyel asetik asit çözeltisine alınarak 15 dakika orta hızda çalkalandı. Ardından jel gümüş nitrat içerisine alınarak 30 dakika çalkalandı. 30 dakika sonunda boyanan jelde bantların görünür hale gelmesi için NaOH çözeltisine alınarak elle yavaş bir şekilde çalkalandı. Daha sonra jel Na₂CO₃ çözeltisi içerisine alınarak 5 dakika çalkalandı. Boyama işleminin ardından jeller filtre kağıtları arasına alınarak nemi alındı. Son olarak jeller şeffaf dosyalara alınarak negatoskop üzerinde incelendi ve fotoğraflandı.

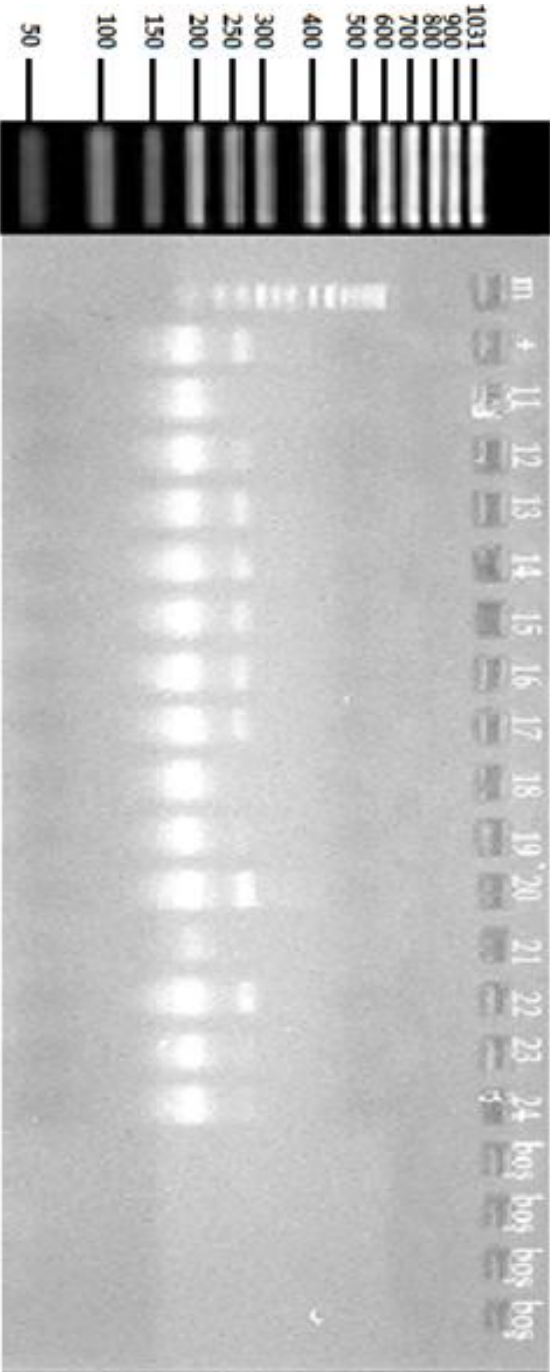
3.5 İstatistik Deęerlendirme

Yapılan PCR-SSCP incelemesi sonucunda kontrol ve deney gruplarının beta-katenin geni ekson 3 bölgesi karşılaştırıldığında gruplar arasında bant kayması bulunmaması sebebiyle istatistiksel inceleme yapılmasına gerek kalmamıştır.

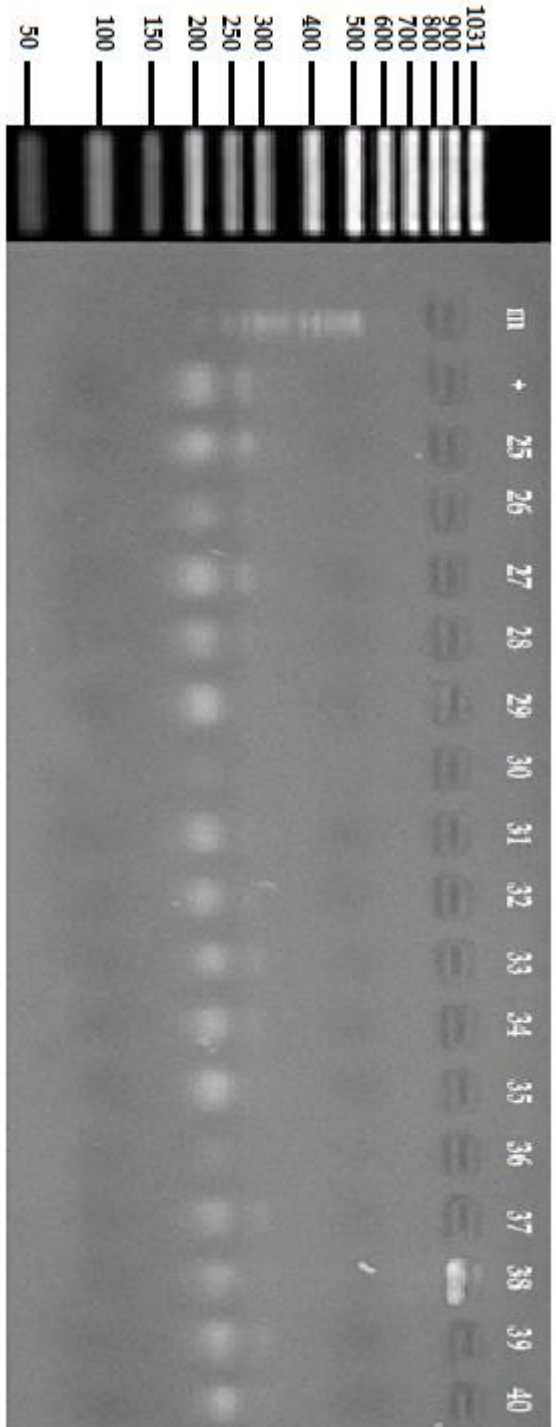
4.BULGULAR



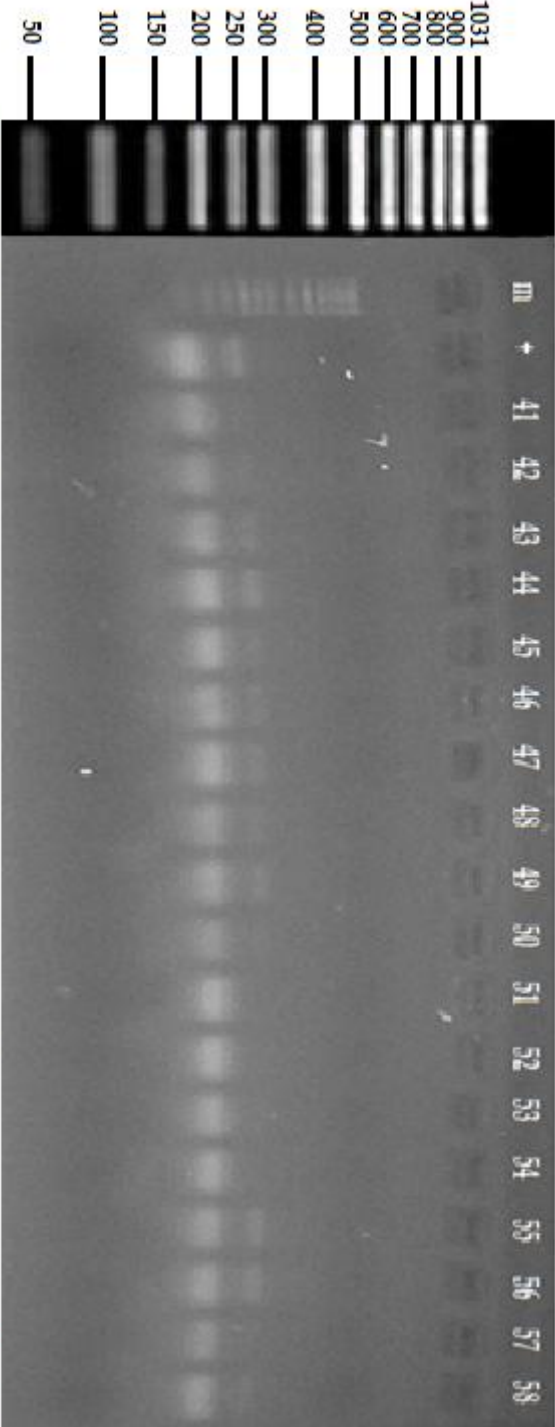
Şekil 4-1: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nın %2'lik agaroz jelde, UV altında görüntüsü: Kontrol grubu



Şekil 4-2: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nın %2'lik agaroz jelde UV, altındaki görüntüsü: SMA grubu



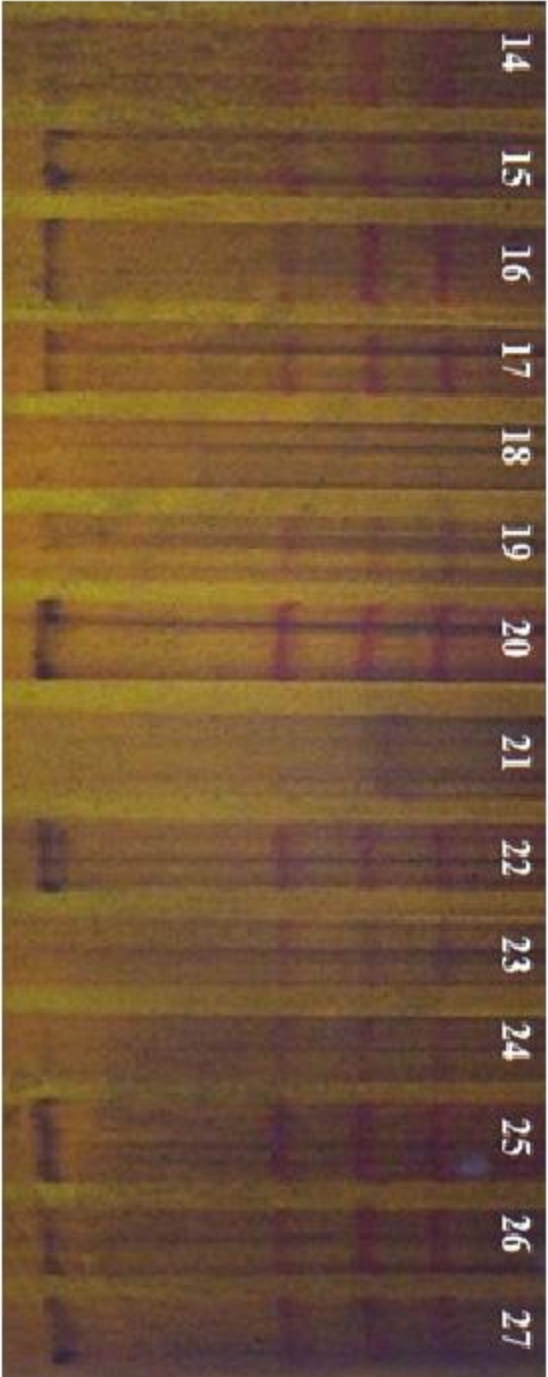
Şekil 4-3: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nun %2'lik agaroz jelde, UV altındaki görüntüsü: SMA+MNU grubu



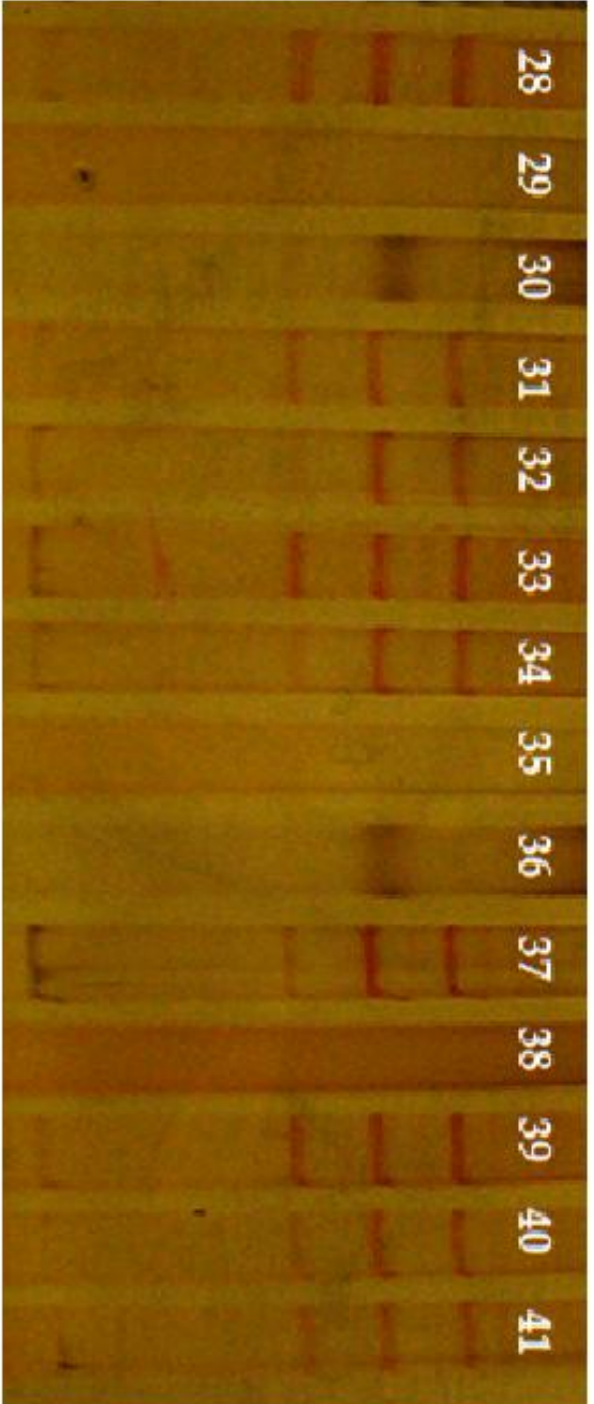
Şekil 4-4: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nun %2'lik agaroz jelde, UV altındaki görüntüsü: SMA+MNU grubu



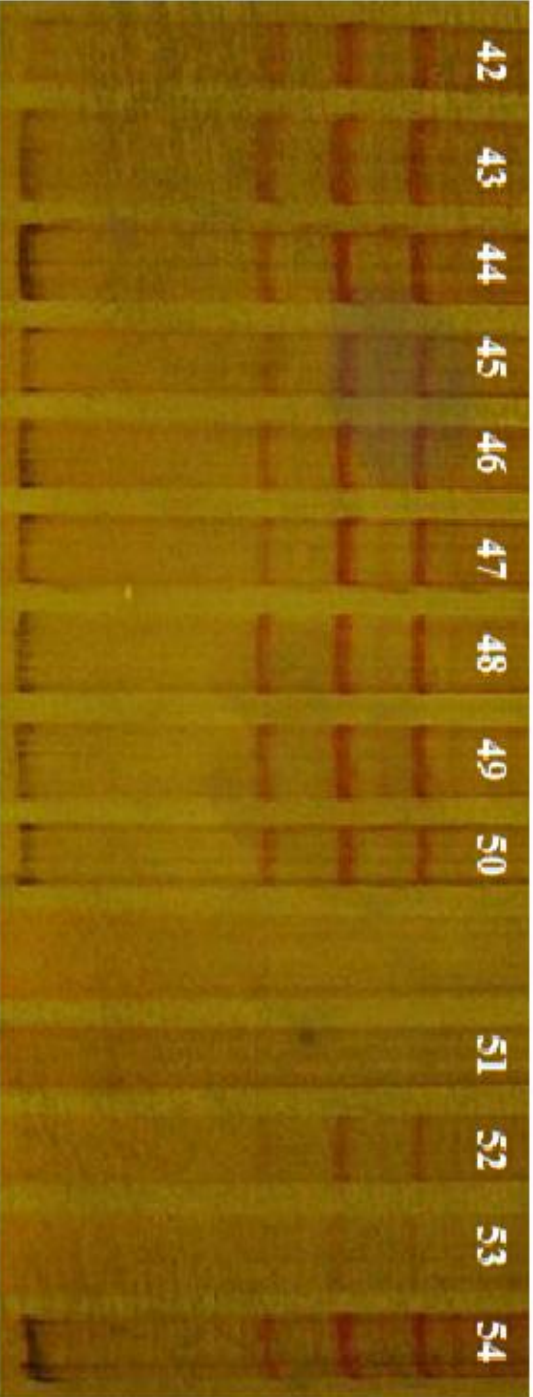
Şekil 4-5: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nın gümüş boyalı SSCP sonuçları: Kontrol Grubu ve SMA Grubu



Şekil 4-6: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nın gümüş boyalı SSCP sonuçları: SMA ve SMA+MNU Grubu



Şekil 4-7: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nın günüş boyalı SSCP sonuçları: SMA+MNU grubu



Şekil 4-8: Parafin bloklardan elde edilmiş DNA'nın günüş boyalı SSCP sonuçları: MNU grubu

Şekil-4.1'de izole edilmiş genomik DNA'nın beta-katenin genin ekson 3 bölgesini çoğaltmak için uygun primerlerle PZR ile amplifikasyonundan elde edilen ürünler %2'lik agaroz jelde yürütüldükten sonra UV ışık altında görüntülenmiştir. Yapılan primer dizaynına bağlı olarak teorikte PZR'den sonra elde edilecek amplikonun büyüklüğü 150 bç olarak hesaplanmıştır. Buna bağlı olarak elde edilen amplikonun hesaplanan büyüklükle aynı olup olmadığının anlaşılması için için agaroz jelde 50 bç'lik DNA ladder ile birlikte yürütülmüş ve hepsinin 150 bç'lik bantlara sahip olduğu görülmüştür.

Sonuçlara göre kontrol grubu ve SMA grubu arasında bir fark bulunmamıştır. MNU grubu ve kontrol grubu arasında bir fark bulunmamaktadır. Benzer şekilde beta-katenin geninin ekson 3 Gsk3beta fosforilasyon bölgesinde kontrol grubu ve MNU+SMA grubu arasında bir fark bulunmamıştır.

4. TARTIŞMA

Beta-katenin proteini hayvanlar aleminde oldukça yaygın olarak rastlanan katenin protein ailesinin bir üyesidir. Kateninler hayvan hücrelerinde genellikle hücre membranında, kaderin-hücre adhezyon molekülleri ile oluşturdukları komplekslerde bulunurlar. Beta-katenin proteini, adhezyon boşluğunda bulunması sebebiyle canlıların embriyonik gelişiminden, doku rejenerasyonuna kadar birçok fizyolojik aktivitede rol oynamaktadır (51,52,54). Beta-katenin proteini, rejenerasyon ve proliferasyon kontrolünde görev alması sebebiyle, beta-katenini kodlayan CTNNB1 geninde meydana gelen herhangi bir mutasyon yada fonksiyon kaybına kimi kanser türlerinde sıklıkla rastlanmaktadır. Bu gende meydana gelen mutasyonlar başta kolon kanseri olmak üzere bazal hücreli karsinoma, medulloblastoma ve rahim kanserlerinde sıklıkla tespit edilmiştir (54,59-60). CTNNB1 geninde meydana gelen mutasyonlar yada fonksiyon kayıpları sebebiyle fosforilasyon bölgelerinde defekt bulunan beta-katenin proteinleri sentezlenebilmektedir. Bu tür bir defekte sahip olan beta-katenin proteini yıkım kompleksinin yapısına katılamadığı için sitoplazmada birikir ve nükleusa nüfuz ederek çeşitli transkripsiyon faktörlerini aktifleştirir (51,53,54,59).

Malign tümörlerin en belirgin özellikleri olan invazyon ve metastaz yetisini kazanmaları oldukça önemlidir. Bu özellikleri kazanan tümör hücreleri buldukları dokudan ayrılarak, kan yada lenf dolaşımına geçerek damarlar yoluyla göç eder. Bu sebeple hücre adhezyonunda önemli bir yeri olan beta-katenin proteinini kodlayan CTNNB1 geninde meydana gelen mutasyonlar önem kazanır.

ELF-Manyetik alanlar 2002 yılında IARC tarafından 2B sınıfına alınarak, muhtemelen kanserojen olarak tanımlandılar (63). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar enerji nakil hatlarının çevresinde yaşayan çocuklarda lösemi

insidansının arttığı gösterilmiştir. Ayrıca, benzeri çalışmalar ELF manyetik alanları, şiddete ve frekanslarına bağlı olarak; beyin, göğüs, cilt kanserleri ile ilişkilendirmiştir (64-67). Canlı dokularının manyetik geçirgenliği boşluğun manyetik geçirgenliğine oldukça yakındır, bu sebeple manyetik alanlar tıpkı boşluktaki gibi ciddi bir şiddet kaybına uğramadan dokulardan geçebilirler. Çalışmamızda, sahip oldukları bu özellik sebebiyle sinüsoidal manyetik alanların tümör gelişiminde beta-katenin geni üzerinde etkili olabileceğini düşünerek, MNU ile geliştirilmiş sıçan kolon tümör modellerini inceledik.

Çalışmamız daha önceden MNU kullanılarak, sinüsoidal manyetik alan etkisi altında geliştirilmiş sıçan kolon tümör modellerine ait arşiv blokları üzerinde yapıldı. Önceki çalışmada MNU ile geliştirilmiş kolon tümörü modelinde manyetik alanların e-kaderin molekülünün üzerindeki etkisi immünohistokimyasal boyama ile incelenmiş, nükleus ve sitoplazmada e-kaderin ekspresyonunun arttığı görülmüştür (58). Artan e-kaderin ekspresyonunun kanser metastazı ile ilişkilendirilmektedir (68).

Inomato ve ark. 1996 yılında yaptıkları çalışmada 8 FAP sendromu ve 5 sporadik kolon kanseri olmak üzere toplam 13 vaka incelemiştir (69). İncelenen FAP sendromlu hastaların 5'i kolon kanseri hastasıdır. Vakalara ait sağlıklı kolon epiteli, adenom ve kanser dokusunda beta-katenin proteinin dağılımına immünohistokimyasal metodlarla bakılmıştır. Çalışma sonucunda FAP sendromu bulunan 8 hastaya ait sağlıklı kolon epitelinde, beta-kateninin proteinin dağılımının olması gerektiği gibi hücre membranı yüzeyinde yoğunlaştığı görülmüştür. Buna karşın aynı hastalara ait adenom ve kanserli dokularda beta-katenin dağılımı nükleus ve sitoplazmada, hücre membranında olduğu kadar yoğun olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada incelenen sporadik vakalarda ise nükleusta beta-katenin yoğunluğunun FAP sendromlu vakalara göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmaya katılan yalnızca FAP sendromu bulunan 3 vakada APC geni mutasyonuna rastlanmıştır, normal

epitel dokusunda mutant ve wild-type APC proteinleri bir arada bulunurken tümör dokularında sadece APC mutantlarına rastlanmıştır. Wnt/beta-katenin sinyal yolunda yıkım kompleksinde görev alan APC proteinin mutasyonuna FAP hastalarında sıklıkla rastlanmaktadır. Ancak yapılan çalışmalara göre APC ve beta-katenin mutasyonuna aynı anda nadiren rastlanmaktadır (70).

Dashwood ve ark. IQ ve PhIP mutajenlerini oral yoldan vererek F344 sıçan soyundan oluşan iki ayrı grupta geliştirdikleri hayvan modelinde beta-katenin mutasyonlarını incelemişlerdir (71). Çalışmada mutajen ajanların etkisi ile hayvanlarda 12 kolon ve 23 meme tümörü indüklenmiştir. İncelenen gen bölgesi beta-kateninin önemli bir fosforilasyon bölgesi olan Gsk3Beta bölgesine denk gelmektedir. IQ ile geliştirilen 5 kolon tümöründe ve PhIP ile geliştirilen 4 kolon tümörünün SSCP analizi sonucu bant kaymalarına rastlanırken, PhIP grubuna ait 3 örnekte beta-katenine ait herhangi bir bant kayması gözlenememiştir. Aynı çalışmada geliştirilen meme tümörlerinde ise beta-katenin mutasyonuna rastlanmamıştır. Çalışmamızda kullanılan primer tasarımı bu makaleye dayanmaktadır.

Brabletz ve ark. tarafından yapılan çalışmada 44 kolon kanseri vakası immünohistokimyasal metotlarla incelenmiştir (72). Çalışma sonucunda örneklerin 24'ünün nükleus bölgesinde aşırı beta-katenin ekspresyonu tespit edilmiştir. Ancak yüksek ekspresyona sahip olan bu bölgelerin, tümörlerin invazif özellik gösteren uç noktaları olduğu saptanmış, tümör dokusunun solid yapıdaki bölgelerinin sahip olduğu beta-katenin dağılımının normal epitel dokusunda olduğu gibi hücre membranda yoğun olduğu görülmüştür. İnvaziv uçlardan uzaklaştıkça nükleusta görülen aşırı beta-katenin ekspresyonunun azaldığı görülmüştür. Tümörün sahip olduğu bu heterojen ekspresyon paterni 24 örneğin 20'sinde gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara dayanarak beta-katenin proteininin invazyon ile doğrudan ilişkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Miyaki ve ark. herideter non polizis kolorektal kanser hastalarında APC ve beta-katenin gen mutasyonlarını incelemiştir (70). Beta-katenin mutasyonuna sahip 11'i karsinom 1'i adenom olan 12 HNPCC tümöründe önceki çalışmalarda olduğu gibi APC mutasyonuna rastlanmamıştır. İmmünohistokimyasal boyama sonucunda ise beta-katenin mutasyonları bulunan örneklerde beklendiği gibi nükleus civarında beta-katenin yoğunluğu oldukça yüksek bulunmuştur.

Shimizu ve ark. yaptığı çalışmada MNU yardımı ile sıçanlarda geliştirilen gastrik karsinoma modelinde beta-katenin mutasyonları ve beta-katenin proteinin, tümörlerdeki dağılımları incelenmiştir (73). Çalışmada kullanılan gen bölgesi beta-katenin geninin intron 2 bölgesine denk gelmektedir. İmmünohistokimyasal boyama sonucunda beta-katenin proteinlerinin genellikle hücre membranında yoğunluk gösterdiği buna karşılık sitoplazma ve nükleusta birikmediği görülmüştür. Bu sonuç Brabletz'in yaptığı çalışma ile karşılaştırıldığında indüklenen tümör dokularının invazyon özelliği olmadığı sonucuna varılabilmektedir (72). Ayrıca yapılan SSCP analizi ile incelenen bölgede beta-katenin genin herhangi bir mutasyona sahip olmadığı görülmüştür. Yapılan benzer çalışmalarda ekson 3 bölgesinde beta-katenin geninin mutasyonu 1- HA, MAM, AOM ya da HCA ile geliştirilen kolon kanser modellerinde saptanmıştır (74-76). Ancak MNU gibi MMNG ile geliştirilen kolon tümör modellerinde aynı bölgeye ait mutasyonlara rastlanmamıştır (77,78). Shimizu bu bulgulara dayanarak MNU ile geliştirilen gastrik kanser modelinin oluşumunda beta-katenin geninin bir etkisi olmadığı, MNU'nun oluşturduğu kanser modelinin farklı bir mekanizma ile geliştiği sonucuna varmıştır.

Biz çalışmamızda Dashwood ve Shimizu 'ninde çalıştığı beta-katenin geni ekson 3'te bulunan Gsk3Beta fosforilasyon bölgesini inceledik. Yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda beta-katenin genin bu bölgesinde çeşitli

mutasyonlar rapor edilmiştir (79,80,81). Çalışmamızda bulunan deney gruplarına ait doku örnekleri bu bölgede sahip oldukları farklılıklar açısından değerlendirildi. MNU ve kontrol grubuna ait SSCP sonuçları incelendiğinde beta-katenin geninin ekson 3 bölgesinde herhangi bir farklılık bulunamamıştır. Ancak Dashwood yaptığı çalışmada heterosiklik aminlerle geliştirdiği kolon tümörlerinde çeşitli mutasyonlar tespit etmiştir. Bizim sonuçlarımıza uygun olarak, Shimizu tarafından MNU kullanılarak geliştirilen gastrik kanser modelinde de beta-katenin geninin intron 2 bölgesinde bir mutasyona rastlanmamıştır. Deneyimizdeki MNU ve kontrol grubundan elde ettiğimiz verileri bu sonuçlarla karşılaştırdığımızda, MNU ile geliştirilen kolon tümör modelinde beta-katenin geninin ekson 3 bölgesinde de bir mutasyon oluşmadığı görülmektedir. Yani Shimizu'nin gösterdiği gibi MNU ile geliştirilen tümör modellerinde de beta-katenin geni mutasyonlarının rol oynamadığı sonucu desteklemektedir. Diğer çalışmalardan farklı olarak deneyimizde 50 Hz sinüsoidal manyetik alan etkisi altında MNU ile geliştirilen tümör dokularında da beta-katenin geninin ekson 3 bölgesi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlardan kontrol grubu ve SMA grupları karşılaştırıldığında incelenen bölgede herhangi bir farklılık olmadığı görülmüştür. Bu sonuç 50 Hz sinüsoidal manyetik alanların beta-katenin geninin ekson 3 bölgesine herhangi bir etkisi olmadığını göstermektedir. Benzeri şekilde kontrol grubu SMA+MNU grubu ile karşılaştırıldığında aynı gen bölgesinin herhangi bir farklılığa sahip olmadığı görülmüştür. Böylece SMA ve MNU etkisinin kombinasyonu olduğu durumlarda dahi beta-katenin geninin ekson 3 bölgesinde herhangi bir mutasyona rastlanamamaktadır.

Sonuç olarak arşiv blokları üzerinde yaptığımız bu çalışmada sıçanlarda MNU yardımı ile geliştirilen kolon tümörü modelinde 50 Hz sinüsoidal manyetik alanın varlığında beta-katenin geninin ekson 3 bölgesi üzerinde bir değişim gözlenmemiştir. Ancak beta-katenin geninin başka bir bölgesi ya da Wnt/beta-katenin sinyal yolunda görev alan başka moleküllerde mutasyonlar araştırılmalıdır. Özellikle APC genine ait mutasyonlara kolon kanserlerinde sıklıkla rastlanması nedeniyle elimizdeki örneklerle ileride yapılacak çalışmalarda incelenmesi gereken bir moleküldür.

Ayrıca çalışmalarımızın ilerleyen aşamalarında hücre içersindeki beta-katenin dağılımının immünohistokimyasal açıdan incelenmesi düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar beta-katenin dağılımının tümör dokularında solid ve invaziv uçlar arasında farklı olduğunu göstermiştir (72). Ancak manyetik alanların bu dağılım üzerindeki etkisi hala araştırılmamıştır.

KAYNAKLAR

- 1-Sedghi H., Zare S., Hayatgeibi H., Alivandi S., Ebadi A.G. Effects of 50 hz magnetic field on some factors of immune system in the male guinea pigs. *Am J Immunol* 2005; 1: 37-41.
- 2-Kliukiene J., Tynes T., Andersen A. Residential and occupational exposures to 50-hz magnetic fields and breast cancer in women: a population-based study. *Am J Epidemiol* 2004; 159:852-861.
- 3-Ekmekci A., Konaç E., Önen H.İ. Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. *Marmara Medical Journal*. 2008; 21:282-295.
- 4-Cao G., Lu H., Feng J., Shu J., Zheng D., Hou Y. Lung cancer risk associated with Thr495Pro polymorphism of GHR in chinese population. *Jpn J Clin Oncol* 2008; 38:308–316.
- 5-Lewis R.C., Bostick R.M., Xie D., Deng Z., Wargovich M.J., Fina M.F., Roufail W.M., Geisinger K.R. Polymorphism of the cyclin D1 gene, CCND1, and risk for incident sporadic colorectal adenomas. *Cancer Res* 2003; 1:8549-8553.
- 6-González-Arriaga P., López-Cima M.F., Fernández-Somoano A., Pascual T., Marrón M.G., Puente X.S., Tardón A. Polymorphism +17 C/G in matrix metalloprotease MMP8 decreases lung cancer risk. *BMC Cancer* 2008; 19:378-389.
- 7-Gavert N., Ben-Ze'ev A. Beta-catenin signaling in biological control and cancer. *J Cell Biochem* 2007; 102:820-828.
- 8-Cote M. L. ve ark. : Meta- and Pooled Analysis of GSTP1 Polymorphism and Lung Cancer: A Review. *Am J Epidemiol* 2008, 169:802–814.
- 9-Rollwitz J., Lupke M., Simkó M. Fifty-hertz magnetic fields induce free radical formation in mouse bone marrow-derived promonocytes and macrophages. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1674:231-238.

- 10-Yokuş B., Çakır D.U., Akdağ M.Z., Sert C., Mete N. Oxidative DNA damage in rats exposed to extremely low frequency electro magnetic fields. *Free Radic Res* 2005; 39:317-323.
- 11-Ilyas M., Tomlinson I.P., Rowan A., Pignatelli M., Bodmer W.F. Beta-catenin mutations in cell lines established from human colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:10330-10334.
- 12-Polakakis P. Wnt signaling and cancer. *Genes & Development* 2000; 14:1837-1851.
- 13-Weinberg R.A. *The biology of cancer*. New York, ABD: Garland Science;2007
- 14-Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı. *Temel Epidemiyoloji* 2009. Erişim 23.12.2011, http://ekutuphane.tusak.gov.tr/kitaplar/temel_epidemioloji.pdf
- 15-WHO. *Dünya kanser raporu* 2008. World Health Organization Erişim 25.11.2011, http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789283204237_tur_p1-104.pdf
- 16-Crawford D.H. An introduction to viruses and cancer. *Microbiology Today* 2005; 56:110-112.
- 17-Pizzo A.M., Chellini E., Costantini A.S. Lung cancer risk and residence in the neighborhood of a sewage plant in Italy. A case-control study. *Tumori* 2011; 97:9-13.
- 18-Berrington de González A., Darby S. Risk of cancer from diagnostic X-rays: estimates for the UK and 14 other countries. *Lancet* 2004; 31:345-351.
- 19-Cardis E. Epidemiology of accidental radiation exposures. *Environ Health Perspect* 1996; 104:643-9.
- 20-Kuper H., Adami H.O., Bofferra P. Tobacco use, cancer causation and public health impact. *J Intern Med* 2002; 251:455-466.
- 21-Rajkumar T. Growth factors and growth factor receptors in cancer. *Curr Sci* 2001; 81:535-541.
- 22-Renehan A.G., Brennan B.M. Acromegaly, growth hormone and cancer risk. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008; 22:639-657.

23-Chen Y., Clegg N.J., Scher H.I. Anti-androgens and androgen-depleting therapies in prostate cancer: new agents for an established target. *Lancet Oncol* 2009; 10:981-991.

24-Biswas L.N., Manna B., Maiti P.K., Sengupta S. Sexual risk factors for cervical cancer among rural Indian women: a case-control study. *Int J Epidemiol* 1997; 6:491-495.

25-Barnes D.M, Newman L.A. Pregnancy-Associated breast cancer: a literature review. *Surg Clin North Am* 2007; 87:417-430

26-UKDK. *Türkiye' de kanser kontrolü 2009*, Ankara: Ulusal Kanser Danışma Kurulu. Erişim 25.04.2012, <http://onkofar.com/mwg-internal/de5fs23hu73ds/progress?id=Ki3o7dIIIs>

27-Mamur B.A. Kolorektal kanserde Adiponektin (Adipoq) ve Adiponektin reseptör 1 (Adipor1) genlerinin polimorfizmlerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Mersin, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2011

28-Tuncer M.M., Dinç İ., Sander E., Dobrucalı A., Bal K., Yurdakul İ., Oktay E., Uzunismail H., Karabulut L., Altın M., Çelik S. Gastrik karsinoma. *Endoskopi Dergisi* 1992; 2:21-23.

29-Somunoğlu S. Meme kanserinde risk faktörleri. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi* 2007; 5:1-13.

30-Jelski W., Szmitkowski M. Alcohol dehydrogenase (ADH) and aldehyde dehydrogenase (ALDH) in the cancer diseases. *Clinica Chimica Acta* 2008; 5:395-399

31-Lindbohm M.L., Sallm M., Kyrrönen P., Kauppinen T., Pukkala E. Risk of liver cancer and exposure to organic solvents and gasoline vapors among Finnish workers. *Int J Cancer Suppl* 2009; 124:2954-2959.

32- Nieuwenhuis M.H., Vasen H.F.A. Correlations between mutation site in APC and phenotype of familial adenomatous polyposis (FAP): A review of the literature. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 61:153-161.

- 33- Half E., Bercovich D., Rozen P. Familial adenomatous polyposis. *Orphanet J Rare Dis* 2009; 4:22-46.
- 34- Gala M., Chung D.C. Hereditary colon cancer syndromes. *Seminars in Oncology* 2011; 4:490-499.
- 35-Canda A.E., Terzi C. Kalıtsal kolorektal kanser ve polipozis sendromları. *Kolon ve Rektum Hastalıkları Dergisi* 2008; 18:53-62.
- 36-Yıldız K. Evre I-III kolon kanserinde prognostik faktörlerin araştırılması, Uzmanlık Tezi, Edirne, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 2008.
- 37- Büyükdoğan M. Kolorektal kanserde genetik ve etyolojik faktörler. *Selçuk Tıp Dergisi* 2009; 25:171-180.
- 38-T.C. Sağlık Bakanlığı (2006). 2004-2006 yılları türkiye kanser insidansı,Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı. Erişim 25.04.2012, <http://www.kanser.gov.tr/folders/file/8iL-2006-SON.pdf>
- 39-Kato I., Majumdar A.P., Land S.J., Barnholtz-Sloan J.S., Severson R.K. Dietary fatty acids, luminal modifiers, and risk of colorectal cancer. *Int J Cancer* 2010; 127:942-951.
- 40-Parkin D.M., Pisani P., Ferlay J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 1999; 49:33-64.
- 41-Cappell M.S. The pathophysiology, clinical presentation, and diagnosis of colon cancer and adenomatous polyps. *Med Clin N Am* 2005; 89:1-42.
- 42-Dinçer H. Enerji iletim hatlarının oluşturduğu manyetik ve elektrik alanlar, *Elektrik Mühendisliği* 2009; 436:37-41.
- 43- Koşalay İ. Enerji iletim hatlarının meydana getirdiği elektromanyetik alanlar ve değerlendirmeler, VII. Ulusal Temiz Enerji Sempozyumu, UTES'2008, 17-19 Aralık 2008, İstanbul

- 44- Canseven A.G., Seyhan N., Mirshahidi S., Imir T. Suppression of Natural Killer Cell Activity on *Candida Stellatoidea* by a 50 Hz Magnetic Field. *Electromagn Biol Med* 2006; 25:79-85.
- 45-Comba P. Ve Fazzo L. Health effects of magnetic fields generated from power lines: new clues for an old puzzle. *Ann Ist Super Sanita* 2009; 45: 233-247
- 46-Ahlbom A., Day N., Feychting M., Roman E., Skinner J., Dockerty J., Linet M., McBride M., Michaelis J., Olsen J.H., Tynes T., Verkasalo P.K. A pooled analysis of magnetic fields and childhood leukaemia. *Br J Cancer* 2000; 83:692-698.
- 47-Feychting M., Ahlbom A. Magnetic fields and cancer in children residing near Swedish high-voltage power lines. *Am J Epidemiol* 1993; 138:467-481.
- 48-Lagroye I., Percherancier Y., Juutilainen J., De Gannes F.P., Veyret B. ELF magnetic fields: animal studies, mechanisms of action. *Prog Biophys Mol Biol* 2011; 107:369-73.
- 49-Repacholi M. Concern that "EMF" magnetic fields from power lines cause cancer. *Sci Total Environ* 2012; 426:454-458.
- 50-Schüz J. Exposure to extremely low-frequency magnetic fields and the risk of childhood cancer: Update of the epidemiological evidence. *Prog Biophys Mol Biol* 2011; 107:339-342.
- 51-Logan C.Y., Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004; 20:781–810.
- 52-Case N. Rubin J. Beta-Catenin—a supporting role in the skeleton. *J Cell Biochem* 2010; 110:545–553.
- 53- Paschos K.A., Canovas D., Bird N.C. The role of cell adhesion molecules in the progression of colorectal cancer and the development of liver metastasis. *Cell Signal* 2009; 21:665-674
- 54-Clevers H. Wnt/Beta-Catenin signaling in development and disease. *Cell* 2006; 127: 469-480.

- 55- Onganer P.U., Kypta R.M. Wnt11 in 2011 – the regulation and function of a non-canonical Wnt. *Acta Physiologica* 2012; 204:52–64.
- 56-De A. Wnt/Ca²⁺ signaling pathway: a brief overview. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* 2011; 43:745-756.
- 57- Tuncel H. 50Hz Frekanslı Sinüsoidal Magnetik Alanın Karsinogenezdeki Rolünün, MNU (N-Methyl-N-Nitrosourea) ile Oluşturulan Deneysel Kolon Tümörü Modelinde Araştırılması, Doktora Tezi, İstanbul, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1997
- 58-Tuncel H., Shimamoto F., Cagatay P., Kalkan M.T. Variable E-cadherin expression in a MNU-induced colon tumor model in rats which exposed with 50 Hz frequency sinusoidal magnetic field. *Tohoku J Exp Med* 2002; 198:245-249.
- 59-Polakakis P. Wnt signaling in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011; 4:a008052.
- 60-Demirkan N., Laure L. The importance of Beta-catenin during melanoma formation. *APJ* 2004; 1:1–5.
- 61-Yoshioka S., King M.L., Ran S., Okuda H., Maclean J.A. 2nd, McAsey M.E., Sugino N., Brard L., Watabe K., Hayashi K. WNT7A regulates tumor growth and progression in ovarian cancer through the wnt/beta-catenin pathway. *Mol Cancer Res* 2012; 10:469-482.
- 62-Cimmino F., Scoppettuolo M.N., Carotenuto M., De Antonellis P., Dato V.D., De Vita G., Zollo M. Norcantharidin impairs medulloblastoma growth by inhibition of Wnt/Beta-catenin signaling. *J Neurooncol* 2012; 106:59-70.
- 63- Dünya Sağlık Örgütü (2012). IARC Monographs, Volumes 1–104. Erişim 04.05.2012,
<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsGroupOrder.pdf>
- 64-Kheifets L., Ahlbom A., Crespi C.M., Feychting M., Johansen C., Monroe J., Murphy M.F., Oksuzyan S., Preston-Martin S., Roman E., Saito T., Savitz D., Schüz J., Simpson J., Swanson J., Tynes T., Verkasalo P., Mezei G. A pooled

analysis of extremely low-frequency magnetic fields and childhood brain tumors. *Prog Biophys Mol Biol* 2011; 107:339-342.

65-Pelissari D.M., Barbieri F.E., Wünsch Filho V. Exposure to extremely low-frequency magnetic fields and the risk of childhood cancer: update of the epidemiological evidence. *Cad Saude Publica* 2009; 3:441-452.

66-Basile A., Zeppa R., Pasquino N., Arra C., Ammirante M., Festa M., Barbieri A., Giudice A., Pascale M., Turco M.C., Rosati A. Exposure to 50 Hz electromagnetic field raises the levels of the anti-apoptotic protein BAG3 in melanoma cells. *J Cell Physio* 2011; 226:2901-2907.

67- Kliukiene J., Tynes T., Andersen A. Residential and occupational exposures to 50-Hz magnetic fields and breastcancer in women: A population-based study. *Am J Epidemiol* 2004; 159:852-861.

68-Kowalski P.J., Rubin M.A., Kleer C.G. E-cadherin expression in primary carcinomas of the breast and its distant metastases *Breast Cancer Res* 2003; 5:217-222.

69-Inomata M., Ochiai A., Akimoto S., Kitano S., Hirohashi S. Alteration of beta-catenin expression in colonic epithelial cells of familial adenomatous polyposis patients. *Cancer Res* 1996; 56:2213-2217.

70-Miyaki M., Iijima T., Kimura J., Yasuno M., Mori T., Hayashi Y., Koike M., Shitara N., Iwama T., Kuroki T. Frequent mutation of beta-catenin and APC genes in primary colorectal tumors from patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer Res* 1999; 59:4506-4509.

71-Dashwood R.H., Suzui M., Nakagama H., Sugimura T., Nagao M. High frequency of beta-catenin (ctnnb1) mutations in the colon tumors induced by two heterocyclic amines in the F344 rat. *Cancer Res* 1998; 58:1127-1129.

72-Brabletz T., Jung A., Reu S., Porzner M., Hlubek F., Kunz-Schughart L.A., Knuechel R., Kirchner T. Variable beta-catenin expression in colorectal cancers

indicates tumor progression driven by the tumor environment. *PNAS* 2001; 98:10356-10361.

73-Shimizu M., Suzui M., Moriwaki H., Mori H., Yoshimi N. No involvement of beta-catenin gene mutation in gastric carcinomas induced by N-methyl-N-nitrosourea in male F344 rats. *Cancer Lett* 2003; 195:147-152.

74-Suzui M., Sugie S., Mori H., Okuno M., Tanaka T., Moriwaki H., Different mutation status of the b-catenin gene in carcinogen-induced colon, brain, and oral tumors in rats. *Mol Carcinog* 2001; 32:206–212.

75-Suzui M., Ushijima T., Dashwood R.H., Yoshimi N., Sugimura T., Mori H., Nagao M. Frequent mutations of the rat b-catenin gene in colon cancers induced by methylazoxymethanol acetate plus 1-hydroxyanthraquinone *Mol Carcinog* 1999; 24:232–237.

76-Takahashi M., Fukuda K., Sugimura T., Wakabayashi K., Beta-Catenin is frequently mutated and demonstrates altered cellular location in azoxymethane-induced rat colon tumors. *Cancer Res* 1998; 58:42–46.

77-Hirayama Y., Wakazono K., Yamamoto M., Kitano M., Tatematsu M., Nagao M., Sugimura T., Ushijima T. Rare mutations of p53, Ki-ras, and b-catenin genes and absence of K-sam and c-erbB-2 amplification in Nmethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced rat stomach cancers. *Mol Carcinog* 1999; 25:42–47.

78-Furihata C., Tatematsu M., Saito M., Ishida S., Nakanishi H., Inada K., Tei H., Hattori M., Ito T., Sakaki Y. Rare occurrence of ras and p53 gene mutations in mouse stomach tumors induced by N-methyl-N-nitrosourea. *Jpn J Canc Res* 1997; 88:363–368.

79-Pulling L.C., Klinge D.M., Belinsky S.A. p16INK4a and β -catenin alterations in rat liver tumors induced by NNK. *Carcinogenesis* 2001; 22: 461-466.

80-Yamada Y., Oyama T., Hirose Y., Hara A., Sugie S., Yoshida K., Yoshimi N., Mori H. beta-Catenin mutation is selected during malignant transformation in colon carcinogenesis. *Carcinogenesis*. 2003; 24:91-97.

81-Tsukamoto T., Yamamoto M., Ogasawara N., Ushijima T., Nomoto T., Fujita H., Matsushima T., Nozaki K., Cao X., Tatematsu M. beta-Catenin mutations and nuclear accumulation during progression of rat stomach adenocarcinomas. *Cancer Sci.* 2003; 94:1046-1051.

ETİK KURUL KARARI

Yapılan araştırma bir arşiv çalışması olup etik kurul iznine ihtiyaç duymamaktadır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Mahmut Alp	Soyadı	Kılıç
Doğ.Yeri	Balıkesir	Doğ.Tar.	1985
Uyruğu	TC	TC Kim No	-
Email	malpkilic@istanbul.edu.tr	Tel	5453758589

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi	2012
Lisans	Trakya Üniversitesi	2009
Lise	Ataköy Cumhuriyet Lisesi	2003

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	İyi	İyi	İyi	74	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	81,82253	67,57151	80,17145
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program ve Yazılım Dili	Kullanma becerisi
Fortran	Zayıf
C#	Zayıf
Sql Server	Zayıf