

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**KOLOREKTAL KANSERDE ADİPONEKTİN (ADIPOQ) VE
ADİPONEKTİN RESEPTÖR 1 (ADIPOR1) GENLERİNİN
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Badel ARSLAN MAMUR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Etem AKBAŞ

MERSİN – 2011

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**KOLOREKTAL KANSERDE ADİPONEKTİN (ADIPOQ) VE
ADİPONEKTİN RESEPTÖR 1 (ADIPOR1) GENLERİNİN
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Badel ARSLAN MAMUR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Etem AKBAŞ

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
BAP-SBE TBG (BA) 2009-9 YL nolu proje olarak desteklenmiştir

Tez No: 188

MERSİN – 2011

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi Programı çerçevesinde yürütülmüş olan "Kolorektal Kanserde Adiponektin (ADIPOQ) ve Adiponektin Reseptör 1 (ADIPOR1) Genlerinin Polimorfizmlerinin Araştırılması" adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.



Doç. Dr. Etem AKBAŞ

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Jüri Başkanı

Tez Savunma Tarihi : 15/06/2011

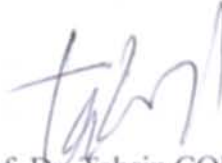


Doç. Dr. Nurcan ARAS ATEŞ

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Jüri Üyesi



Prof. Dr. Tahsin ÇOLAK

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Jüri Üyesi

Yukarıdaki tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 22.06.2011 tarih ve 2011.229 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Ülkü ÇOMELEROGLU



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, akademik açıdan yetişmemde büyük katkısı olan, danışman hocam Doç. Dr. Etem AKBAŞ'a, tezimin hazırlanması boyunca gösterdiği titizlik, özveri ve bilimsel katkıdan dolayı teşekkür ederim.

Anabilim Dalı Başkanımız, Sn. Prof. Dr. M. Emin ERDAL'a, anabilim dalımızın diğer değerli hocaları; Sn. Doç. Dr. Nurcan ARAS ATEŞ'e, Sn. Yrd. Doç. Dr. Özlem İzci AY'a ve Sn. Yrd. Doç. Dr. Ertan AY'a yüksek lisans eğitimim boyunca yaptıkları bilimsel ve akademik katkıdan dolayı teşekkür ederim. Tez çalışmamda özellikle deneysel aşamada karşılaştığım zorluklarda benden akademik desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. İ. Ömer BARLAS'a teşekkür ederim.

Tezimde yer alan hasta gruplarının toplanması sırasındaki yardımlarından dolayı, ME.Ü. Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sn. Prof. Dr. Tahsin ÇOLAK'a, Yrd. Doç. Dr. M. Özgür TÜRKMEÑOĞLU'na, Arş. Gör. Dr. Hakan SEYİT'e ve tüm Genel Cerrahi Anabilim Dalı araştırma görevlilerine teşekkür ederim. Tezimin istatistikleri ve bulguların değerlendirilmesi konusundaki yardımlarından dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sn. Prof. Dr. Arzu KANIK'a ve Arş. Gör. Mehmet Ali SUNGUR'a teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim boyunca, her türlü desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma, deneysel aşamada her zaman yanımda olan değerli arkadaşım doktora öğrencisi Şenay GÖRÜCÜ YILMAZ'a diğer anabilim dallarındaki çalışma arkadaşlarımla teknik ve idari personele teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, maddi ve manevi destekleriyle, eğitimimin akademik yönde devam etmesini sağlayan aileme sonsuz teşekkür ederim. Karşılaştığım tüm zorluklarda benden manevi ve akademik desteğini esirgemeyen değerli eşim Arş. Gör. Emrah MAMUR'a ve ailesine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL ve ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.Kalın Barsak Hakkında Genel Bilgi	3
2.2. Kolorektal Tümörler.....	8
2.3. Kolorektal Kanser İçin Risk Faktörleri	15
2.4.Kolorektal Karsinogenez	17
2.4.1. Lokalizasyon	18
2.4.2.Klinik Özellikler.....	19
2.4.3. Erken tanı ve klinik tarama yöntemleri	20
2.4.4. Makroskopik Özellikler	21
2.4.5. Adenokarsinom	22
2.4.6. Tümör Evrelemesi	23
2.4.7. Moleküler Genetik Özellikler.....	24
2.5. Yağ Dokusu ve Yağ Hücresi	26
2.5.1. Adipositokinler ve Kanser.....	27
2.5.2. Adiponektin.....	28
2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Tekniği (PCR)	32
2.6.1. PCR'ın Temel Bileşenleri	35
2.6.2. PCR'ın Kullanım Alanları.....	37

2.7. Elektroforez Tekniği	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	40
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	40
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	40
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	41
3.1.3. Kullanılan Tampon Çözeltiler	42
3.1.3.1. Elektroforez İçin Kullanılan Çözeltiler	42
3.2. Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması	42
3.3. ADIPOQ geninde ekzon2 bölgesindeki (+45, kodon 15 T/G) gen polimorfizmi ile ADIPOR1 geninde intron 1 bölgesindeki (-106 A/G) gen polimorfizminin belirlenmesi:.....	43
3.3.1. DNA İzolasyonu.....	43
3.3.2. ADIPOQ geninin 2.ekzonu ile ADIPOR1 geninin 1.intronun özgül primerlerle amplifikasyonu	45
3.3.3. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) Analizi	48
3.3.4. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi ile Görüntülenmesi.....	49
3.3.5. Genotiplendirme	50
3.4. İstatistiksel Analizler.....	51
4.BULGULAR	53
4.1. ADIPOQ exon 2 (+45, kodon 15) polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Oranlarının Kontrol ve KRK'lı Hasta Gruplarındaki Dağılımı ve KRK ile İlişkisi	55
4.2. ADIPOR1 intron 1 (-106) Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Oranlarının Kontrol Grubu ile KRK'lı Hastalar Arasındaki Dağılımı ve KRK ile İlişkisi	56
4.3. KRK İçin Risk Faktörleri ile Hastalık Arasındaki İlişki	57
5.TARTIŞMA	64
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	71
KAYNAKLAR.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	80

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Kolonun anatomik yapısının şematik görünümü.	3
Şekil 2.2. Kalın barsak duvarı.	6
Şekil 2.3. Epitelyal kökenli olmayan kolorektal tümörlerin sınıflandırılması.....	8
Şekil 2.4. Epitelyal kökenli kolorektal tümörlerin sınıflandırılması.	9
Şekil 2.5. Kolorektal karsinomun yaş artışıyla ilişkisi.....	10
Şekil 2.6. Kolorektal karsinomların tipleriyle ilişkili genler ve bulgular.	12
Şekil 2.7. Kolorektal kansere eşlik eden genetik sendromlar ve yaşa bağlı artışı.	13
Şekil 2.8. Kolorektal kanser için risk ve koruyucu faktörlerin şematik gösterimi.....	17
Şekil 2.9. Tümörün kolonoskopi görüntüsü.....	19
Şekil 2.10. Familial adenomatöz polipozis makroskopik görünüm.	21
Şekil 2.11. Gelişmekte Olan Tümörün Evrelemesi ve Şematik Gösterimi.	24
Şekil 2.12. Endokrin Organ Olarak Adipöz Doku.....	28
Şekil 2.13. İnsan adiponektin geninin kromozomal lokalizasyonu ve rs2241766 exon2 (+45 kodon 15) polimorfizminin şematik gösterimi.....	29
Şekil 2.14. İnsan adiponektin reseptör 1 geninin kromozomal lokalizasyonu ve rs2275738 intron 1 (-106) polimorfizminin şematik gösterimi.....	30
Şekil 2.15. Adiponektinin işlevleri.	31
Şekil 2.16. PCR döngüsünün şematik gösterimi.....	33
Şekil 2.17. PCR aşamalarının gerçekleştiği ortalama sıcaklık değerleri.....	34
Şekil 3.1. T/G 2241766ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) polimorfizmi için çoğaltılan bölgenin dizisi.	46
Şekil 3.2. A/G 2275738ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmi için çoğaltılan bölgenin dizisi.	47
Şekil 3.3. Gene ruler 100bp DNA ladder.....	50
Şekil 3.4. Gene ruler 50bp DNA ladder.....	50
Şekil 4.1. ADIPOQ geninin exon 2 (+45,kodon 15) bölgesinin PCR sonrası elektroforez fotoğrafı (Marker: 50bp).	54

Şekil 4.2. ADIPOR1geninin intron 1 (-106) bölgesinin PCR sonrası elektroforez fotoğrafı (Marker: 50bp).....	54
Şekil 4.3. ADIPOQ geninin exon 2 (+45,kodon 15) bölgesinin RFLP sonrası elektroforez fotoğrafı (Marker 100bp).....	54
Şekil 4.4. ADIPOR1geninin intron 1 (-106) bölgesinin RFLP sonrası elektroforez fotoğrafı (Marker: 50bp).	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. A/G 2275738ADIPOR1 intron 1 (-106) bölgesi için görülen genotipler..	51
Çizelge 3.2.T/G 2241766ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) bölgesi için görülen genotipler .	51
Çizelge 4.1. ADIPOQ exon 2 (+45, kodon 15) polimorfizmi allel ve genotip oranlarının kontrol grubu ve KRK'lı hastalar arasındaki dağılımı.....	56
Çizelge 4.2. ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizminin allel ve genotip oranlarının kontrol grubu ve KRK'lı hastalar arasındaki dağılımı.....	57
Çizelge 4.3. Yaş gruplarına göre KRK görülme oranları... ..	58
Çizelge 4.4. KRK'nin cinsiyete göre dağılımı.....	59
Çizelge 4.5. KRK'lı hastalarda cinsiyete göre yaş ortalaması.	59
Çizelge 4.6. Boy, Kilo ve BMI değerlerinin kontrol grubu ve KRK'lı hastalardaki ortalamaları.....	60
Çizelge 4.7. BMI değerlerinin KRK'lı hastalar ve kontrol grubundaki dağılımları... ..	61
Çizelge 4.8. ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmine ait genotiplerin ile BMI gruplarına dağılımının gösterimi.	61
Çizelge 4.9. ADIPOQ exon 2 (+45) polimorfizmine ait genotiplerin ile BMI gruplarına dağılımının gösterimi... ..	62
Çizelge 4.10. Sigara ve alkol kullanımının kontrol grubu ve KRK'lı hastalar arasındaki dağılımı.....	62
Çizelge 4.11. Kontrol grubunda ve KRK'lı hastalarda ailede KRK öyküsünün karşılaştırılması.....	63

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABD.....	Amerika Birleşik Devletleri
ADIPOQ.....	Adiponektin
ADIPOR1.....	Adiponektin Reseptör 1
APC.....	Adenomatöz Polipozis Koli
APM1	AdiPose Most Abundant Gene Transcript
ASP.....	Asilasyon-Stimüle Edici Protein
BMI.....	Vücut Kitle İndeksi
DCC geni.....	Kolorektal Kanserde Delesyon Geni
DMSO.....	Dimetilsülfoksit
DNA.....	Deoksiribonükleik Asit
dNTP.....	Deoksiribonükleotid trifosfat
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
FAP.....	Ailesel Polipozis Koli
GBP28.....	Gelatin-Binding Protein
GTP.....	Guanozin Trifosfat
HDL.....	High Density Lipoprotein
HMW.....	Yüksek Moleküler Ağırlıklı Adiponektin
HNPCC.....	Kalıtsal Nonpolipöz Kolorektal Kanser
HPCC.....	Kalıtsal Polipöz Kolorektal Kanser
IGFBP1.....	İnsulin-Like Growth Factor-Binding Protein 1)
IGF-I.....	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL-6.....	İnterlökin-6
KRK.....	Kolorektal Kanserler
LKB1.....	Serin/Threonin Kinaz 11
LMW.....	Düşük Moleküler Ağırlıklı Adiponektin

MMW.....	Orta-Moleküler Ağırıklı Adiponektin
MSI.....	Mikrosatellit İnstabilitesi
NFkB.....	Nükleer Faktör-KappaB
PAI-1.....	Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1
PCR.....	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PG F2 α	Prostaglandin F2 α
PG I2.....	Prostaglandin I2
PPAR.....	Peroxisome Proliferator-Activated Receptors
PTEN Geni.....	Fosfataz ve Tensin Homolog Geni
RFLP	RestriksiyonUzunluk Polimorfizmi
RNA.....	Ribonükleik asit
SNP.....	Single Nücleotid Polimorphism
Taq	Thermus Aquaticus
TCF4.....	Transkripsiyon Faktör 4
TERT.....	Telomerik Reverse Transkriptaz
TGF- α	Transforming Büyüme Faktörü- α
TGF- β	Transforming Büyüme Faktörü- β
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör- α

ÖZET

Adiponektin ve Adiponektin Reseptör 1 Genlerinin Polimorfizmlerinin Kolorektal Kansere Yakalanma Riski Açısından İncelenmesi

Kolorektal Kanserler (KRK) dünyanın değişik toplumlarında farklı sıklıkta görülen onkolojik bir sorundur ve görülme sıklığı giderek artmaktadır. KRK'in gelişmesi ve ilerlemesi diğer kanserler gibi çoklu genetik değişimlerin bir sonucudur. KRK karsinogenezisinin anlaşılması için tümör gelişimi sırasında oluşan moleküler değişikliklerin araştırılması gerekmektedir. Adiponektin adipöz doku tarafından sentezlenen bir proteindir ve endojenik insulin duyarlayıcısıdır. Adiponektinin preneoplastik kolonik lezyonlarda hücre büyümesini aktive ederek, değiştirerek veya leptin ve Nükleer Faktör-KappaB yollarını da içeren birkaç farklı yol aracılığıyla etkilediği görülmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda; Türk populasyonu için Mersin örneklemini temelinde bu polimorfizmlerin kolorektal kansere yakalanma riskine olası etkisinin belirlenmesi temel hipotezimizi oluşturmuştur.

Çalışmamız Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde KRK tanısı konmuş yaş ortalaması 55,96 olan 129 kolorektal kanserli birey ve yaş ortalaması 54,82 olan 137 sağlıklı birey (kontrol grubu) olmak üzere toplam 266 kişiden oluşturuldu. Kontrol ve deney grubundaki bireylerden alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıldı ve genotipler PCR ve RFLP yöntemleri kullanılarak belirlendi.

ADIPOQ exon 2 (+45, kodon 15) polimorfizmine ait allel ve genotip oranları ile kolorektal kanseri arasında ilişki olmadığı belirlendi. Aynı şekilde ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmine ait allel ve genotip oranları ile kolorektal kanser arasında ilişki olmadığı saptandı. KRK'ya yakalanmayı etkilediği düşünülen diğer risk faktörlerden; ileri yaş, erkek cinsiyet, hastalığa yakalanma riskini artırırken, boy uzunluğu, alkol kullanımı ve ailede kolorektal kanseri öyküsünün KRK'ya yakalanma riskini etkilemediği, sigara kullanımının KRK'ya yakalanma riskini azalttığı belirlendi. Kontrol grubunun BMI ortalamasının KRK'lı hastaların BMI ortalamasından yüksek olduğu tespit edildi. Bu farklılığın sadece obez grupta ortaya çıktığı, diğer grupların ise birbirine benzer olduğu gözlemlendi. Polimorfik alleller ile BMI değerleri korele edildi ve ilişkili olmadığı saptandı.

Çalışmamız, ADIPOQ ve ADIPOR1 genine ait bu polimorfizmlerin allel ve genotip oranlarının Türk populasyonundaki ilk örneğini oluşturmaktadır. Yapılacak yeni çalışmalarla bu polimorfizmlerin populasyondaki dağılımları belirlenebilir.

Anahtar Kelimeler: Adiponektin, ADIPOQ, Adiponektin Reseptör 1, ADIPOR1, Polimorfizm, Kolorektal Kanser.

ABSTRACT

Investigation for Polymorphisms of Adiponectin and Adiponectin Receptor 1 Genes at Risk of Developing Colorectal Cancer

Colorectal Cancer (CRC) occurs at different rates in different societies, a problem in the oncologic and the incidence is increasing. CRC's development and progression result of multiple genetic changes such as the other cancers. To understand the carcinogenesis of CRC, molecular changes that occur during tumor development need to be studied. Adiponectin is a protein synthesized by adipose tissue and endogenous insulin-sensitizing. Effects of adiponectin has been observed by activating and modifying cell growth or several different ways including ways of leptin and Nuclear Factor-CappaB in preneoplastic colonic lesions. According to this information to the Turkish population of Mersin, on the basis of the sample to determine the effects of these polymorphisms in the risk of developing colorectal cancer has established the basic hypothesis.

Our study's sample volume is including the mean age 55,96 of 129 patient with colorectal cancer and 137 healthy subject with the mean age of 54,82, for a total of about 226 people who were diagnosed with CRC at Mersin University Medical Faculty Hospital. The control and experimental group consisted of DNA isolation from blood samples taken from each individual was performed and genotypes were determined using PCR and RFLP methods.

ADIPOQ exon 2 (+45, codon 15) polymorphism's alleles and genotype rates was determined not associated with colorectal cancer. Likewise, ADIPOR1 intron 1 (-106) polymorphism's alleles and genotype rates was determined not show correlation with colorectal cancer. To the risk factors in terms of developing CRC; the risk of advanced age, male sex, statistically significant with developing CRC. Smoking is associated with decreased risk of CRC. On the other hand, we determined no risk of being tall, using alcohol and having family history of colorectal cancer in CRC. BMI average of the control group showed a higher average than the patient's BMI average. This difference is emerged only in obese groups, the other groups have been observed to be similar to each other. There was no association between polymorphic alleles and BMI.

Our study is the first example of AdipoQ and ADIPOR1 gene's allele and genotype rates of the Turkish population. Population distributions of these polymorphisms can be determined to do new studies.

Key words: Adiponectin, ADIPOQ, Adiponectin Receptor 1, ADIPOR1, Polymorphism, Colorectal Cancer.

1. GİRİŞ

Kolorektal Kanserler (KRK) dünyanın değişik toplumlarında farklı sıklıkta görülen onkolojik bir sorundur. Sanayileşmiş ülkelerde görülme sıklığı gelişmekte olan ülkelerden daha fazladır. Dünyada görülme sıklığı giderek artan kolorektal kanser, özellikle gelişmiş toplumlarda en sık görülen ikinci kanser türü olup, kansere bağlı ölüm sıralamasında erkeklerde akciğer ve prostat kanserinden, kadınlarda ise akciğer ve meme kanserinden sonra üçüncü sırada yer almaktadır. Her yıl tüm dünyada tahmini 570.000 yeni olguya teşhis konulmaktadır (1,2). ABD’de her yıl yaklaşık olarak 150.000 yeni olgu bildirilmekte ve bu hastaların 57.000’i bu hastalıktan kaybedilmektedir (3,4). Ülkemizde de Sağlık Bakanlığı kanser kayıt verilerine göre gastrointestinal kanserler ikinci sıklıkta görülmektedir. Ancak, tüm kanserler içerisindeki KRK görülme oranı erkeklerde % 4, kadınlarda ise % 3,7 olarak belirlenmiştir (5).

Kolorektal kanser hastalarına erken tanı konulduğunda ve etkili cerrahi tedavi uygulandığında hastalık ortadan kaldırılmakta, tanı konulmasının geciktiği durumlarda tam şifa şansı bulunmamaktadır (6). ABD’de son zamanlarda bildirilen araştırmalarda, kolorektal kansere bağlı ölümlerde azalma olduğu bildirilmekte, bunun da erken tanı, tarama metotları sırasında tespit edilen poliplerin çıkarılması ve kemoterapideki ilerlemeler sayesinde olduğu ileri sürülmektedir. Bunlara rağmen yeni olguların yaklaşık % 40-45’i bu hastalıktan dolayı ölmektedir (7). KRK’dan daha etkili koruma yöntemlerinin geliştirilmesi, erken tespit edilmesi ve tedavisi için, çevresel ve endojen faktörlerin daha iyi anlaşılması gerekmektedir .

KRK’in gelişmesi ve ilerlemesi diğer kanserler gibi çoklu genetik değişimlerin bir sonucudur. KRK karsinogenezisin anlaşılması için tümör gelişimi esnasında oluşan moleküler değişikliklerin araştırılması gerekmektedir. Moleküler biyolojik yöntemlerin gelişimine paralel olarak, kolorektal kanser hastalarında pek çok prognostik belirteç adayları tanımlanmıştır. Ancak kolorektal kanserlerin değerlendirilmesinde tek bir belirtecin kullanılması yerine birbirleriyle etkileşim gösteren birçok belirtecin birlikte değerlendirilmesi önerilmektedir (8). Yapılan birçok epidemiyolojik çalışma adipozite ile kolorektal kanser arasında bir ilişkinin varlığını göstermiştir. Deneysel çalışmalarda C-peptid ve insulin-like growth factor-binding protein 1 (IGFBP1) gibi yüksek sirkulasyon seviyeleri olan insülin resistans markerları direkt olarak kolorektal kanser riski ile ilişkili bulunmuştur (9). Adiponektin adipöz doku tarafından sentezlenen bir proteindir ve endojenik insülin

duyarlayıcıdır. Leptin gibi diğer adipokinlerin aksine adiponektin sirkülasyon seviyesi obez bireylerde azalmaktadır. Adiponektin yolunun kolorektal kanser riskini direk etkileyebileceği düşünülmektedir. Birkaç farklı kanıt bu hipotezi desteklemektedir. Adiponektin ve reseptörleri kolon dokusunda eksprese edilmektedir. Adiponektinin preneoplastik kolonik lezyonlarda hücre büyümesini aktive ederek, değiştirerek veya leptin ve Nükleer Faktör-KappaB yollarını da içeren birkaç farklı yol aracılığıyla etkilediği görülmektedir. Ayrıca kolorektal kanserli hastalarda adiponektin serum seviyesinin artış gösterdiği tespit edilmiştir. Adiponektin reseptör 1 (ADIPOR1) geni çeşitli genetik çalışmalarda insülin dirençliliği ile ilişkili bulunmuştur (9). Adiponektin reseptör gen polimorfizmleri kolorektal kanserle ilişkili olabileceğine dair düşünceler olmakla birlikte bu konuda yapılmış çalışma sayısı çok azdır. Ayrıca obezite ve bazı kanser çeşitleri arasındaki bağlantı uzun süreden beri bilinmektedir (10). Kanser ve obezite arasındaki diğer bir bağlantı noktası olan karsinogenez regülasyonundaki adipositokinlerin muhtemel rolü araştırmacıların ilgisini çekmektedir (11).

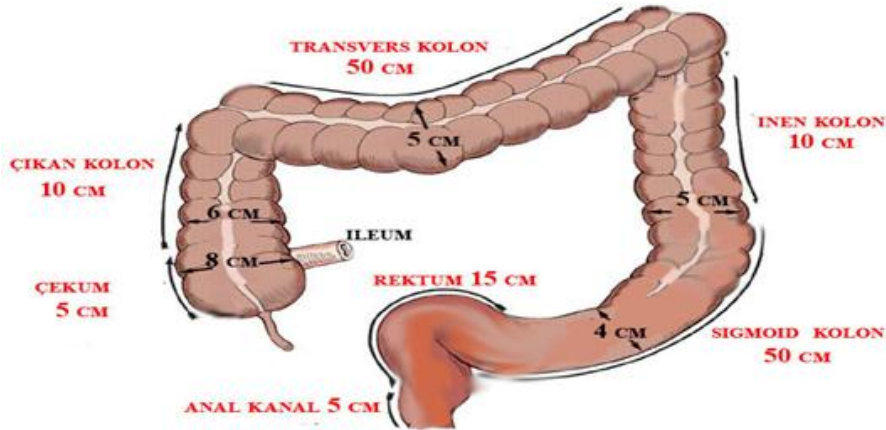
Yukarıdaki bilgiler kapsamında bu çalışmanın temel amacı; Kolorektal kansere yakalanma açısından Adiponektin ve Adiponektin Reseptör 1 gen polimorfizmlerinin risk oluşturup oluşturmadığının belirlenmesidir. Ayrıca kolorektal kansere yakalanmada risk faktörleri olduğu düşünülen; Ailede kolorektal kanseri öyküsü, yaş artışı, cinsiyet, kilo, BMI, alkol kullanımı ve sigara kullanımının örneklemimiz temelinde risk faktörü olup olmadıkları ve söz konusu gen polimorfizmleri ile BMI arasındaki ilişki araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalın Barsak Hakkında Genel Bilgi

➤ Kolonun anatomik yapısı

Kalın barsak ileumun bitiminden anüse kadar uzanır ve ortalama 150 cm uzunluğu ile sindirim kanalının 1/5'ini oluşturur. Kalın barsaklar periton içinde ve retroperitoneal alanda karaciğer, dalak, mide, duodenum, ince barsaklar, böbrekler, üreterler ve mesane gibi çok sayıda organla komşuluk gösterir. İnce barsaklardan farklı olarak longitudinal kas liflerinin yoğunlaşmasıyla oluşan tenyalara (tenya libera, tenya omentalis, tenya mezokolika), yağ dokusundan oluşan yaprak şeklinde periton ile örtülü “appendices epiploica”lara ve sirküler kas liflerinin oluşturduğu fonksiyonel ceplenmeler olan haustralara sahiptirler. Kalın barsak ince barsaktan daha geniştir ve ileum-çekum birleşme yerinde kalın barsak içeriğinin ince barsağa geçişini engelleyen ileoçekal valv olarak adlandırılan bir kapak bulunur. Kalın barsak: Çekum, Kolon (Çıkan kolon, Transvers kolon, İnen kolon, Sigmoid kolon) ve rektum olmak üzere üç bölüme ayrılır.



Şekil 2.1. Kolonun anatomik yapısının şematik görünümü.

- ❖ **Çekum;** Kalın barsağın ilk parçasıdır. Sağ iliak çukurda intraperitoneal yerleşmiştir. Uzunluğu 4-8 cm, çapı 7.5-8.5 cm olup kolonun en geniş kısmıdır. Çekumdan karaciğerin sağ lobunun alt yüzüne kadar uzanır ve burada hepatik fleksurayı yapar. Ön ve yan yüzleri peritonla örtülüdür. Yaklaşık 15-20 cm uzunluğundadır.
- ❖ **Transvers kolon;** Hepatik fleksura ile splenik fleksura arasında uzanır. Ortalama 50 cm (30-60) uzunluğundadır. Transvers kolonun sağ ucu duodenum ikinci parçasına ve

pankreas başına tutunmuştur. Pankreas başından splenik fleksuraya kadar tamamı peritonla örtülüdür ve mezokolon ile karın arka duvarına tutunur. İnen kolon; splenik fleksuradan sol iliak fossaya kadar uzanır. Ortalama 25 cm uzunluğundadır. Yan ve ön yüzü periton ile örtülüdür. Arka yüzü gevşek bağ dokusu ile karın arka duvarına yapışıktır.

- ❖ **Sigmoid kolon;** Krista iliaka hizasında psoas major kasının iç kenarından başlar; 3. sakral vertebra hizasında rektumda sonlanır. Ortalama uzunluğu 40 cm olup çapı kolon çapının en dar yeridir (ortalama 2.5cm). Tamamen peritonla sarılıdır ve mezokolon ile karın arka duvarına tutunmuştur. Sigmoid kolonun aşağı kısımlarında tenyalar incelmeye başlar ve rektuma yakın kısımda tamamen kaybolurlar.
- ❖ **Rektum;** 3. sakral vertebra hizasından başlayıp sakrum eğilimini takip ederek anal kanalla devamlılık gösterir. Uzunluğu 12-15 cm arasındadır. Rektum, başlangıç yeri olarak kabul edilen sakral promontorium hizasından pelvik tabana doğru ilerlerken proksimalde ve distalde sağa, orta bölümde sola konveksite gösteren üç kavis yapar. Bunlar lümen içinde mukoza çıkıntıları olarak görülürler ve Houston valvleri olarak adlandırılırlar. 2/3 üst kısmı peritonla örtülüdür(10-12).

➤ **Kan dolaşımı**

Kalın barsaklar inferior ve superior mezenterik arterden beslenir. Superior mezenterik arterin ileokolik, sağ kolik ve orta kolik dalları çekum, appendiks, çıkan kolon ve transvers kolonun sağ yarısını; inferior mezenterik arterin ise sol kolik, sigmoid ve superior hemoroidal dalları sol fleksura, inen kolon, sigmoid, rektosigmoid ve rektumun proksimalinin kanlanmasını sağlar. Rektumun orta 1/3'lük kısmı arteria hemoroidalis media, alt 1/3'lük kısmı ise arteria pudenda internanın dalı olan arteria hemoroidalis inferior ile beslenir. Sol ve orta kolik arterler birbirine dal vererek Riolan kavsini oluşturur. Kolonun tüm arterleri kendilerine komşu arterlerle, kalın barsağın tüm uzunluğu boyunca anastomoz yapar, bunlara Drummond'un marjinal arterleri adı verilir. Arterler kolon duvarına ulaşmadan önce vasa recta'ları oluşturur. Kolonun venöz dönüşü bu arterlere eş giden venlerle olur. Özelliği portal sisteme dökülmeleridir. Superior ve inferior mezenterik venler vena lienalis ile birlikte portal sistemi oluşturur. Rektumun ve anal kanalın çevresindeki ven pleksusundan çıkan dalların bir kısmı superior rektal ven ile inferior mezenterik vene, bir kısmı da medial ve inferior rektal venler ile internal iliak vene dökülür (10,11).

➤ **Lenfatik drenaj**

Kalın barsak lenfatikleri dört ana ganglion grubunda toplandıktan sonra cisterna chyli aracılığıyla venöz sisteme dökülür.

- 1) Epikolik lenf bezleri; kolon duvarının hemen yanında yer alır.
- 2) Parakolik lenf bezleri; marjinal arterler etrafındadır.
- 3) İntermedier lenf bezleri; mezenter içindedir.
- 4) Esas lenf bezleri; mezenterik arter ve venin kökleri etrafındadır.

Rektuma ait lenf drenajı bu organı besleyen kan damarlarını takip eder. Üst 1/3'e ait lenfatikler arteria hemoroidalis superior ve arteria mezenterika inferioru takip ederek aorta etrafındaki lenf bezlerine gelirler. Orta 1/3'e ait olanlar arteria hemoroidalis mediayı izleyerek pelvis yan duvarı üzerindeki lenf bezlerine; alt 1/3'e ait olanlar ise anal kanal ve perianal derinin lenf yolları ile beraber her iki inguinal lenf bezlerine veya arteria iliaca interna etrafındaki lenf bezlerine drene olurlar (10,11).

➤ **İnnervasyon**

Kalın barsağın innervasyonu otonom sinir sistemi ile olur. Sempatik lifler T7-12 den çıkar ve submukozal (Meissner) ve miyenterik (Auerbach) sinir ağlarında sonlanır. Parasempatik innervasyon, sağ kolonda sağ vagus ile olurken, sol kolonda L1-3'den gelen liflerle olur. Sempatik sistem sekresyonu ve hareketleri inhibe ederken, parasempatik sistem uyarıcı etki gösterir. Rektum ve anal kanalın üst kısımları sempatik dallarını sempatik trunkusun lomber kısmından ve superior hipogastrik pleksustan, parasempatik dallarını pelvik splantik sinirlerden alırlar. Alt kısımları ise hipogastrik sinir yoluyla sempatik innervasyon, S2-4 den çıkan liflerle parasempatik innervasyon alır (10,11).

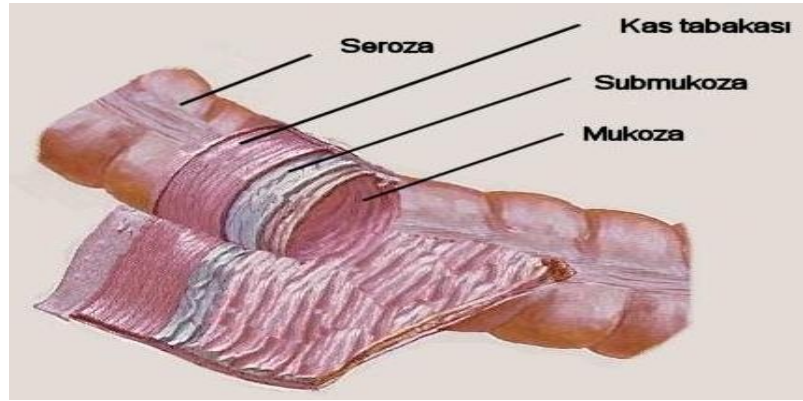
➤ **Embriyoloji**

Kolonun proksimal kısmı (çekum, çıkan kolon, transvers kolon) embriyolojik orta barsaktan köken alır; kolonun kalan kısmı ve rektum ise embriyolojik arka barsaktan gelişir. Gelişiminin erken dönemlerinde orta barsağın uzaması dorsal mezenterin oluşmasına ve bu oluşumun karın arka duvarına asılmasına neden olur. Gebeliğin yaklaşık 6. haftasında çekum bir divertikulum halinde tanınabilir. Kolon fetusun gelişimi süresince uzamaya devam eder ve

son pozisyonunu alır. Distal arka barsak kloakaya girer ve anal kanal ile ürogenital yapının bazı kısımlarını oluşturur (13).

➤ **Histoloji**

Kalın barsak duvarı dört tabakadan oluşmaktadır: Mukoza, submukoza, muskularis propriya ve seroza (rektumda perimuskuler doku). Mukoza da epitel, lamina propriya ve muskularis mukoza olmak üzere üç tabakaya ayrılır.



Şekil 2.2. Kalın barsak duvarı.

➤ **Tunika mukoza**

Mukozal yüzey tek sıralı alçak kolumnar veya küboidal epitel ile döşeli olup absorbtif hücreler ve goblet hücreleri içerir. Mukozal yüzeye açılan Liberkün kriptleri de matür absorbtif hücreler ve goblet hücreleriyle devamlılık gösterir. Buna ek olarak immatür ve indiferansiye prekürsör hücreler, endokrin hücreler ve Paneth hücreleri de kriptlerin bazalinde bol miktarda bulunur. Absorbtif hücreler su ve elektrolitleri absorbe ederken goblet hücreleri müsin sentez, depo ve salınımından sorumludur. Kolon mukozası ince barsak mukozasından daha fazla goblet hücresi içerir. İmmatür hücreler diğer bütün epitel hücrelerinin öncülüdür. Paneth hücrelerinin çok sayıda eozinofilik sekretuar granülü bulunur ve lizozim, epidermal büyüme faktörü gibi ürünler içerir. Bunlar normalde çekum ve proksimal sağ kolonda bulunurlar. Kolonun endokrin hücreleri proksimal ve distal kolonda özellikle rektumda bulunur. Lamina propriada kollojen lifler, düz kas demetleri, sinirler, kapillerler ve lenfatikler arasında seyrek dağılım gösteren lenfosit, plazma hücresi, histiosit ve mast hücreleri

mevcuttur. Lamina propria germinal merkezleri olan, boyutları yaş ile değişen ve rektumda daha büyük ayrıca sayıca daha fazla olma eğiliminde lenfoid nodüller içerebilir. Muskularis mukoza kapillerler ve lenfatiklerle sarılı kas ve sinir lifleri içerir.

➤ **Tunika submukoza**

Lamina proprianın hücresel içeriğine sahip, nöral pleksusu (Meissner pleksusu) bulunan, gevşek bağ dokusundan oluşmuş bir tabakadır.

➤ **Tunika muskularis**

İçte sirküler, dışta longitudinal kas tabakalarından oluşmuştur ve bunların arasında miyenterik Auerbach pleksusu mevcuttur.

➤ **Tunika seroza**

Tek sıralı yassılaştırmış ya da küboidal mezotelyal hücreler ile döşeli peritondan ve fibroelastik dokudan oluşur. Kan damarları ve lenfatikler içerir. Çekum, appendiks, transvers kolon ve sigmoid kolonu tam olarak sarar. İnen kolon, çıkan kolon ve rektumun distali ile anal kanal peritonun arkasında kalır (11,12,14,15).

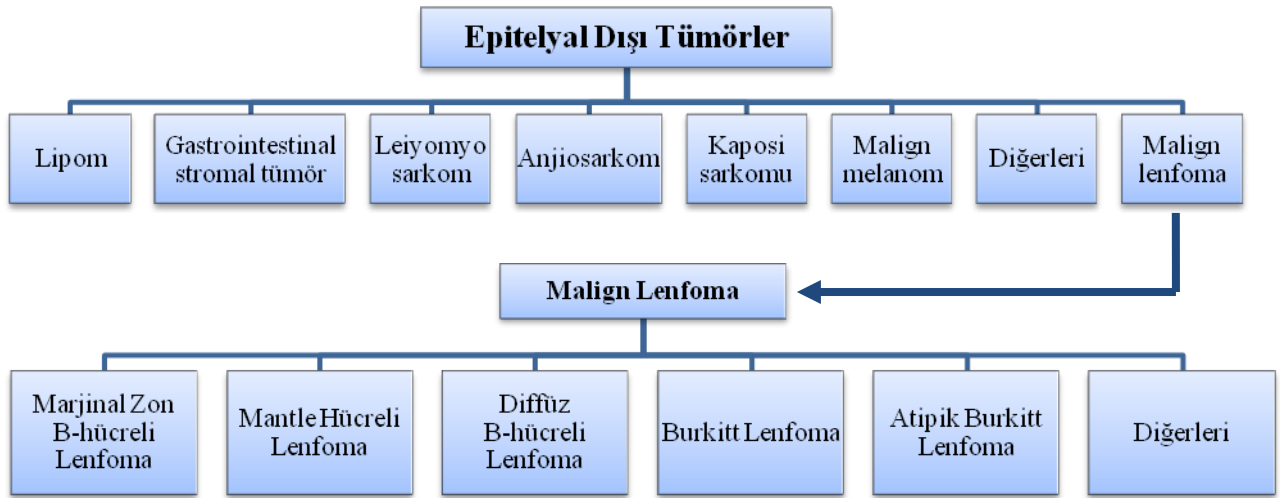
➤ **Fizyoloji**

Kalın barsakların başlıca görevi depolama, emilim, taşıma ve salgılamadır. Kolonun geniş lümeni, proksimalde ileoçekal kapak, distalde anal sfinkterler arasında kapalı tutularak en önemli işlev olan emilim gerçekleştirilir. Salgılama, klorür emilimi karşılığında az miktarda bikarbonat lümene verilerek ortamın alkali olması sağlanır (pH 8-8.4). Potasyum salgılanan mukus ile lümene geçer. Emilim ile hergün yaklaşık 600-1000 ml ileum içeriği kolona geçer. Bunun %90'ı sudur. Ancak dışkı ile atılan su miktarı 180 ml düzeyindedir. Su emiliminin hemen tamamı çekum ve çıkan kolonda meydana gelir. Ayrıca kolondan sodyum, klorür, sakkaroz ve laktoz da emilir. Depolama, kalın barsaklar dışkı ve bazı gazları depolarlar. Normal dışkının %70'i su, %30'u ise katı maddeden oluşur. Motilite, kalın barsaklarda itici ve itici olmayan tip olmak üzere iki farklı hareket görülür. İtici olmayan hareketlerde haustraların sırayla kasılmasıyla kolon içeriğinin karışması ve sıvı elektrolit emilimi ve değişimi için mukoza teması sağlanmış olur. İtici tip hareketlerle içerik distale doğru taşınır. Bu taşınma birden fazla haustranın birarada kasılması, kütleli itme ve peristaltik hareketlerle olur. Ender olarak antiperistaltik hareketler de görülebilir. Normalde

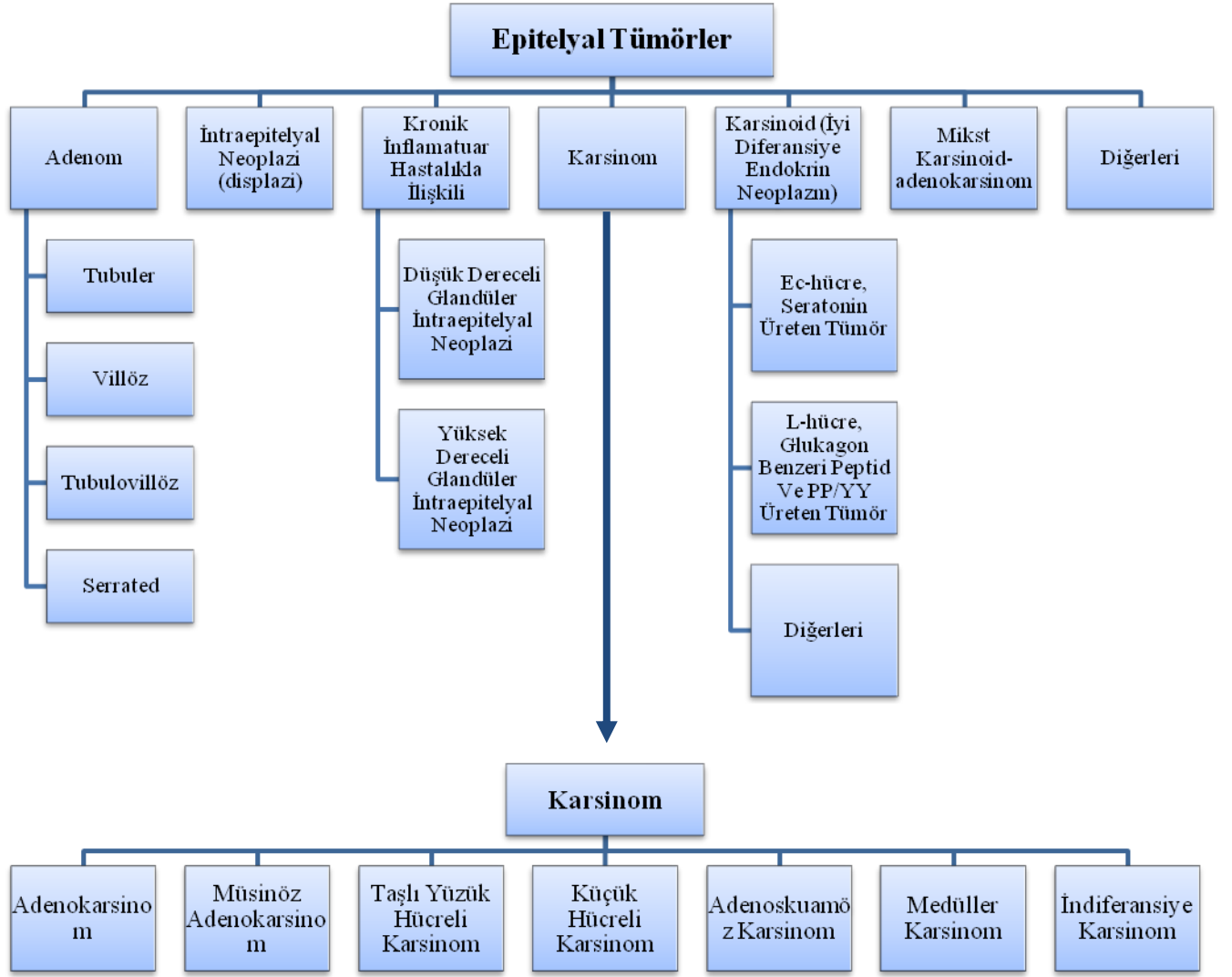
ağızdan alınan gıda 4.5 saatte çekuma gelir, 6 saat içinde çıkan kolonu doldurur, sağ fleksuraya erişir, 12 saatte sol fleksuraya varır ve yaklaşık 20 saatte rektosigmoide ulaşır (11).

2.2. Kolorektal Tümörler

Kolorektal tümörler ayrıntılı sınıflandırılması şekil 2.3 ve şekil 2.4'te verildiği üzere Epitelyal ve Epitelyal dışı tümörler olmak üzere iki ana grupta toplanır.



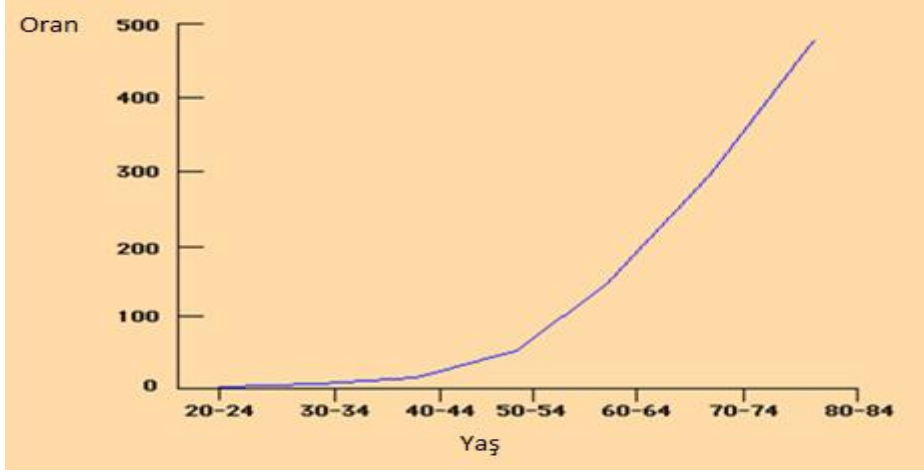
Şekil 2.3.. Epitelyal kökenli olmayan kolorektal tümörlerin sınıflandırılması.



Şekil 2.4. Epitelyal kökenli kolorektal tumorlerin sınıflandırılması.

➤ Epidemiyoloji

Kolorektal Kanser, gelişmiş ülkelerde üçüncü sıklıkta görülen kanser tipi olup bütün kanserlerin yaklaşık %9'unu oluşturur (16, 18). Kolorektal karsinomlar için her yıl tahmin edilen yeni vaka sayısı 570.000'dir. Hayat boyunca kolorektal karsinom gelişme riski yaklaşık % 6 dır ve bu oran erkeklerde kadınlardan daha yüksektir (19). Ortalama görülme yaşı 62'dir (20). Gelişme riski 40 yaşından sonra erkek ve kadınlar için artmaktadır (19).



Şekil 2.5. Kolorektal karsinomun yaş artışıyla ilişkisi.

Kolorektal kanser geniş bir coğrafik alanda gözlenir. En sık Batı Avrupa, Kuzey Amerika, Yeni Zelanda, Avustralya gibi endüstriyel ülkelerde görülür. Ayrıca, ülke içinde de görülme sıklığı açısından farklı bölgeler mevcuttur. Örneğin Amerika Birleşik Devletlerinde, endüstriyel kuzeydoğuda oran en fazla iken, kırsal güneydoğuda en azdır. Japonya, Polonya gibi düşük riskli bölgelerden Amerika Birleşik Devletleri, Avustralya gibi yüksek riskli bölgelere göç edenlerde kolon kanser oranları hızlı bir artış göstermektedir. Kolorektal kanser, gelişmişlik düzeyinin artışıyla çoğalmaktadır (16,21). Amerika Birleşik Devletleri gibi yüksek riskli ülkelerde beyaz ve siyah ırk oranları benzer olmakla beraber Afrika kökenliler, İspanyol ve Hint kökenlilerde hızla artmaktadır (16,18).

➤ Etyoloji

Kolorektal karsinomlar genellikle displazik adenomatöz poliplerden gelişmektedir (16). Sağ kolon yerleşimli olanlar, kolorektal kanserlerin büyük bir kısmını oluşturmakta ve düşük riskli toplumlarda, yüksek riskli toplumlardan daha sık görülmektedir. Neoplastik gelişimde çevresel ve genetik etmenler farklı noktalarda etkindir. İyi tanımlanmış birkaç KRK sendromu, genetik eğilimin KRK patogenezinde önemli rol oynadığını göstermiştir (22).

➤ **Genetik faktörler**

Kalıtımsal kolorektal kanserler tüm olguların %6-10'unu oluşturmaktadır. Kalıtsal polipöz kolorektal kanserler (HPCC) ve kalıtsal nonpolipöz kolorektal kanserler (HNPCC) olarak adlandırılırlar.

➤ **Kalıtsal polipöz kolorektal kanser (HPCC)**

Polipozis sendromları ile ilişkili, neoplazik poliplerin zemininden gelişirler. Senkron ya da metakron kolorektal kanserler olup, sporadik vakalara oranla daha genç yaşlarda görülürler. Polipozis zemininde gelişen kolorektal kanserler familyal adenomatöz polipozis (FAP), Gardner, Turcot ve son yıllarda tanımlanan Herediter Flat (yassı) adenom sendromunda olduğu gibi otozomal dominant geçiş gösteren sendromlarda daha sık olarak görülmektedir.

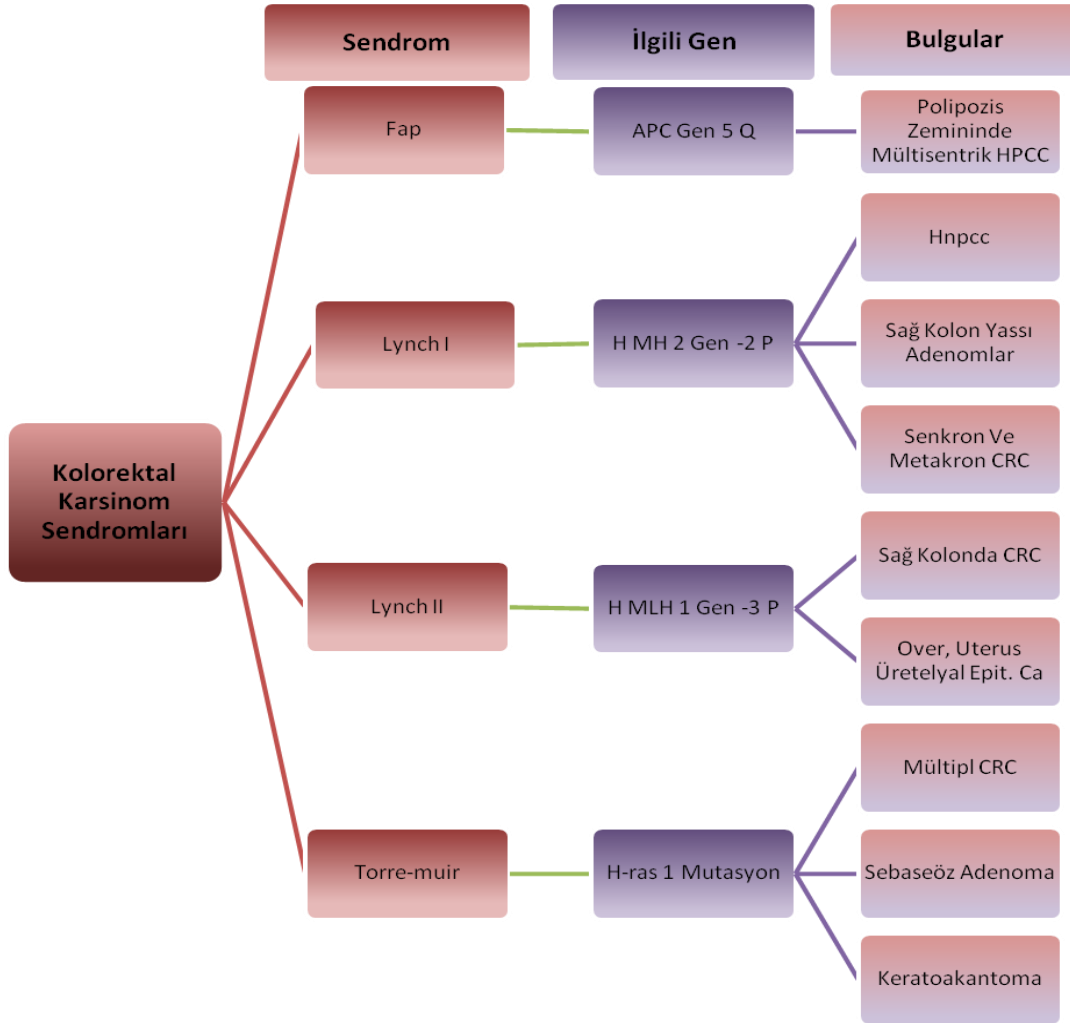
➤ **Kalıtsal nonpolipozis KRK sendromları (HNPCC)**

Ailesel KRK sendromlarının prototipidir. Otozomal dominanttır (16, 19 ,20). Her yıl tanı konan kolorektal karsinomlarının %10'undan sorumludur (23). HNPCC iki sendromdan (Lynch family-I ve Lynch family-II) oluşur (22,24). Lynch I sendromu; Otozomal dominant kalıtım, erken başlangıç, başlıca sağ taraf, sıklıkla birden çok, KRK gösterir (16,23) Lynch II sendromu; Lynch I sendromuna benzer ve ek olarak endometriyum, meme, over, mide kanserleri gibi, kolon dışı kanserlere, eğilim gösterir (16,23). HNPCC için Amsterdam kriterleri tanımlanmıştır. Buna göre:

- ❖ Kolorektal kanser en az üç aile üyesinde olmalıdır.
- ❖ Üç aile üyesinden birisi, diğer ikisinin birinci derece akrabası olmalıdır.
- ❖ Birbirini takip eden en az iki nesil etkilenmiş olmalıdır.
- ❖ Etkilenen aile üyesinin en az birinde 50 yaşından önce kolorektal kanser gelişmelidir.
- ❖ Kanser tanısı patolojik olarak doğrulanmalıdır (16, 23).

HNPCC, ailesel polipozis koli sendromundan beş kat fazla görülmektedir. Lynch II sendromlu hastaların birinci derece akrabalarında kolon kanser insidansı yedi kat artmıştır.

HNPCC hastaları, sporadik kanserli hastalardan daha genç yaşta ortaya çıkar ve ortalama yaş erkeklerde 39 iken kadınlarda 37'dir (16).

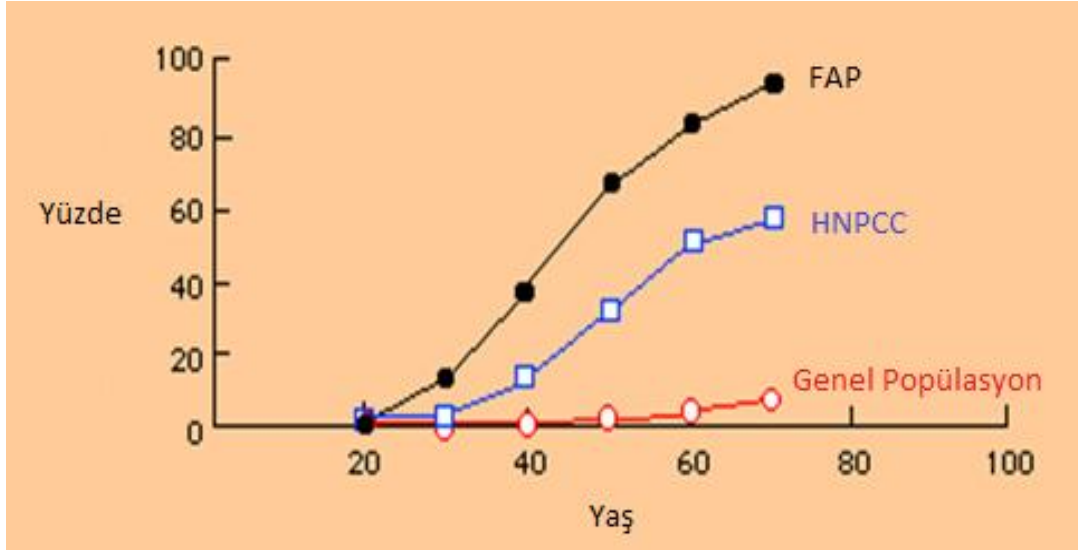


Şekil 2.6. Kolorektal karsinomların tipleriyle ilişkili genler ve bulgular.

➤ Ailesel polipozis koli (FAP)

Otozomal dominant kalıtım gösterir (20). APC tümör süpresör geninde mutasyon vardır (25). Sorumlu APC geni 5q21'de lokalizedir. Genellikle yaşamın ikinci on yılında görülür. Radyografik ve makroskopik olarak barsakta normal mukozanın çok hafif kabarıklıklarından büyük kitlelere kadar değişen polipler vardır (20). Hastalığın tanısı için en az 100 polip olmalıdır. Tedavi edilmeden bırakılırsa hemen hemen daima kalın barsakta bir veya daha

fazla karsinom geliŖecektir. Çoğu karsinom üncü dekatta baŖlayacaęından profilaktik kolektomi en geç 20-25 yaŖlarında yapılmalıdır (20).



Ŗekil 2.7. Kolorektal kansere eŖlik eden genetik sendromlar ve yaŖa bağlı artıŖı.

➤ Muir- Torre sendromu

Otozomal dominanttır. Lynch II sendromuna benzer. KRK erken yaŖta geliŖir. Sağ taraf KRK daha siktir ve sporadik KRK'ndan daha iyi prognozu vardır. Bu hastalarda birden fazla deri lezyonu ve iç organ kanserleri geliŖir (16).

➤ Gardner sendromu

Otozomal dominant geiŖlidir. Kalın barsakda adenomatöz poliplerle birlikte kafatası ve mandibulada birden fazla osteomlar, deride birden fazla keratinöz kistler, özellikle fibromatozis olmak üzere yumuŖak doku neoplazilerinin görüldüğü ailesel bir durumdur. Kalın barsak karsinomu geliŖim potansiyeli ailesel polipozis kadar yüksektir (20,26).

➤ **Turcot sendromu**

Otozomal dominant kalıtım gösterir. Kolorektal adenomatöz poliplerle birlikte genellikle glioblastom tipi beyin tümörleri vardır (20,26).

➤ **Peutz-Jeghers sendromu**

Otozomal dominant bir sendrom olup LKB1 gen mutasyonu sebebiyle oluşur. Ağır derecede atipi gösteren adenomatöz poliplerin bazılarında kolorektal kanser gelişebilir. Bu sendromda pankreas, meme, akciğer, over ve uterus kanser gelişim riski artmıştır (20,26)

➤ **Cowden sendromu**

Mukokutanöz lezyonlar (fasial trisilemmoma, akral keratoz ve oral mukozal papillom), kolorektal polipler ve değişik bölgelerde artmış malignite riski ile karakterize otozomal dominant bir hastalıktır. 10. kromozomda lokalize PTEN geninde mutasyon vardır (24,26).

➤ **Adenomlar**

Benign glandüler neoplaziler olup KRK gelişiminin habercisi olabilirler. Tek veya birden fazla görülebilir. Birden fazla olduklarında genetik bir sendrom ile ilişkili olabilirler (16). Adenomlar erkeklerde kadınlardan daha sık oluşur. Adenom insidansı 60-70 yaşlarında pik yapar. Sol kolon adenomları genç hastalarda sık görülürken, sağ kolonda lokalize olanlar 65 yaş üstünde daha siktir (16). Makroskopik olarak; pediküllü (saplı), sesil (sapsız) ve yassı (deprese) olmak üzere üç sınıfa ayrılır. Adenomlar yapılarına göre tubüler, villöz veya tubülovillöz olarak ayrılır. Tubüler adenom % 75'den fazla tubüler yapı, villöz adenom % 50'den fazla villöz yapı, tubülovillöz adenom ise % 25- 50 villöz yapı içerir. En sık tubüler adenom görülürken, en az oranda da villöz adenom görülür (16, 21, 26).

Adenomlarda malignite riski boyut, histolojik yapı ve epitel displazisinin derecesine bağlıdır. Tanısal olarak düşük ve yüksek dereceli displazi, karsinoma insitu, intramukozal karsinom ve invaziv karsinomun tespiti önemli noktalardır (16, 26, 27). Düşük dereceli displazide çok katlı displastik, silindirik epitel hücreleri vardır. Çekirdek iğsi veya ovaldir. Çok katlı çekirdekler epitel yüksekliğinin $\frac{3}{4}$ 'ünü geçmezler. Yüksek dereceli displazide epitel

yüzeyine kadar gelmiş nükleuslar ve nükleositol plazmik oranı artmış hücreler mevcuttur. Hücreler silindirikten yuvarlağa dönerler. Polarite kaybı ve pleomorfizm vardır (16, 26). İntraepitelyal karsinoma'da (karsinoma insitu) malign hücreler bazal membrana sınırlıdır. İntramukozal karsinomda neoplastik hücrelerin bazal membrandan lamina propriaya geçişi söz konusudur. İnvaziv karsinomda ise muskularis mukozadan submukozal bölgeye geçiş vardır(16, 26). Yüksek dereceli displaziler metastaz yapmazlar. Klinik olarak benign lezyonlardır. Lenfatik kanallar kolon mukozasında yok kabul edilir. Nadiren lamina propria bazalinde izlenirler. Bundan dolayı intramukozal karsinom malign potansiyeli yok veya çok az kabul edilir (26).

Patologlar kronik ve aktif enflamatuvar hastalıkta oluşan reaktif değişiklikleri displaziden ayırmada bazen zorlanmaktadırlar (16, 20, 28). Reaktif enflamatuvar durumda açık renk kromatin yapısı ve sitoplazmik müsin azlığı vardır. Ayrıca yüzeyde maturasyon görülür. Sitoplazmanın yoğun eozinofilik olması, reaktif veya rejeneratif epitelyal hücreler için karakteristiktir ve glandüler yapı da korunmuştur. Aktif enflamasyonun bu bulguları displazide görülmez. Displazilerde de enflamasyon bulunabileceğinden şüpheli enflamasyon, agresif medikal tedavi ile azaltılmalı ve tekrar biyopsi önerilmelidir. Tedaviden displazi etkilenmeyecektir (28).

2.3. Kolorektal Kanser İçin Risk Faktörleri

Diyete bağlı faktörler: Yüksek yağ oranlı diyetlerde KRK riski artmıştır. Hayvansal protein içeren kırmızı et tüketimi KRK'dan bağımsız faktör olarak görülmektedir (16, 20, 21, 23). Düşük oranlı yağ içeren balık, kümes hayvanları gibi ürünlerin tüketimi tavsiye edilmektedir (29). Lifli, yeşil yapraklı sebzeler ve meyveler antioksidan vitamin kaynağı olup kanser oluşumunu engellemektedir (16, 20). C vitamini, tokoferol ve selenyum barsak epitelinin kuvvetli mutajen olan fekapentanlardan ve diğer karsinojenik (oksidatif) tahribattan korur. C vitamini nitritlerin nitrosamine ve nitratlara dönüşümüne engel olan bir antioksidandır. E ve C vitaminleri polipektomi sonrası rektal adenom tekrar sayısını azaltırlar. Sarımsak KRK riskini, detoksifiye enzim içermesi, tümör çoğalmasına engel olması veya antibakteriyel aktivitesi ile güçlü olarak tersine çevirir (16). Alkol alımı anormal DNA metilasyonundan dolayı KRK ve adenom görülme riskini artırır (16, 29). Yeşil çay ve kahve, KRK gelişimine karşı koruyucu olabilir (16).

Yaşam tarzı: Fiziksel inaktiflik rektal kanserden daha çok kolon kanseri ile ilişkilidir (85). Mekanizma açık olmamasına rağmen sedanter yaşam tarzı kolorektal kanser için artmış bir risk faktörüdür.

Obezite: Özellikle abdominal yağlanma ve artmış vücut kitle indeksi KRK riskini ve kanserden ölümleri arttırmaktadır (16, 29). Fazla kilolu ve fiziksel olarak inaktif erkeklerde KRK gelişimi riski yüksektir (16, 22).

Sigara içimi: Tütün kullanımı rektal kanser ve adenom insidansını önemli ölçüde arttırmaktadır. İlk kullanım yaşının erken olması ve yıllık paket sayısı kanser riskini artırır (16, 21).

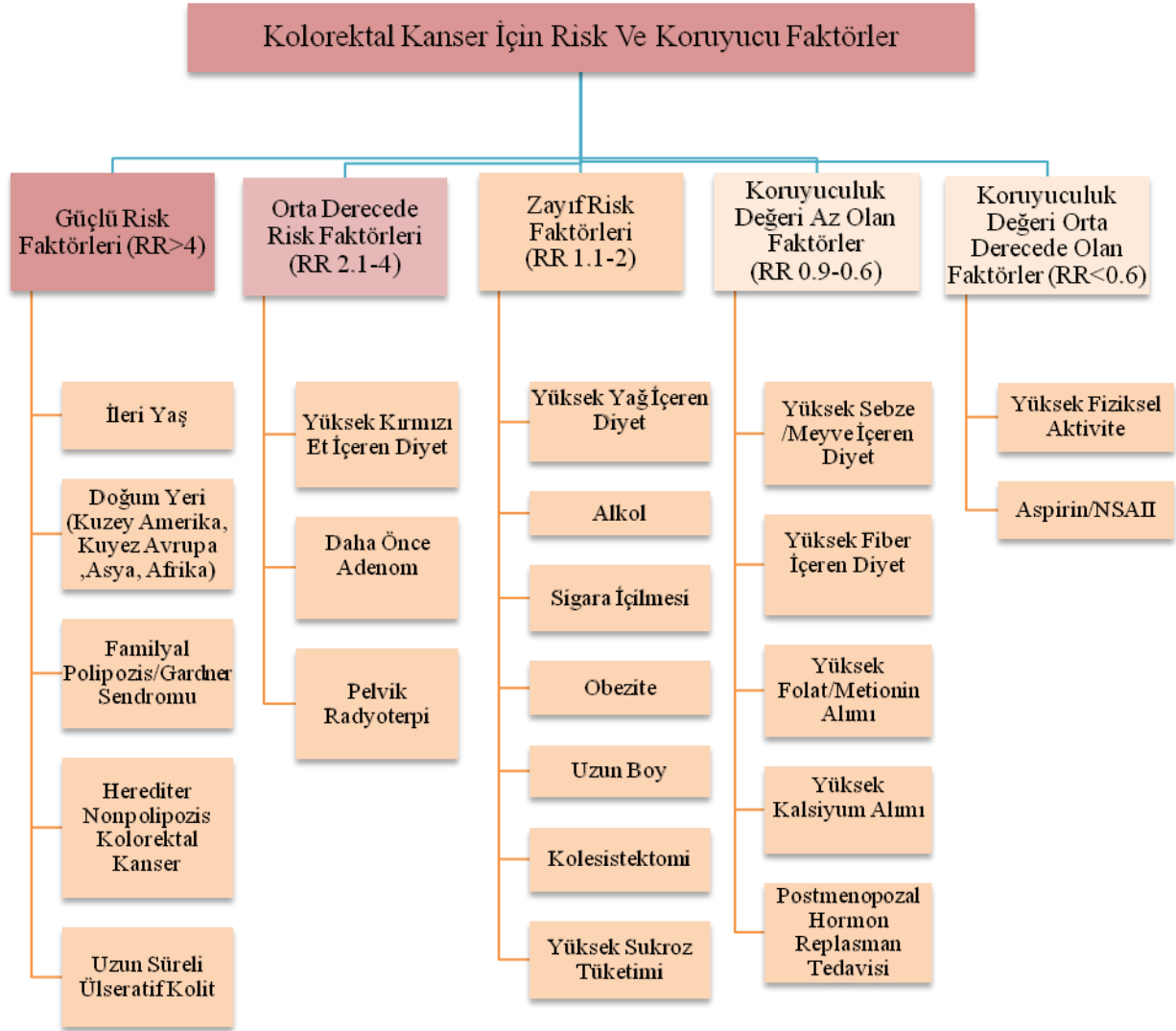
Divertikulozis ile ilişkisi: Divertiküler hastalığı olanlarda sol kolon neoplazilerinde artmış bir insidans vardır. Batı toplumlarında divertikül ve adenom birlikteliği beklenirken, Asya toplumlarında az sıklıkta görüldüğü bildirilmiştir (16).

İdiyopatik inflamatuvar barsak hastalıkları ile ilişkisi: Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı bulunan hastalarda kolorektal kanser gelişme riski artış göstermektedir. Ülseratif kolitte 4,4 kat, Crohn hastalığında ise 3 kat artmış risk vardır. (16, 21). Kanser gelişimi hastalığın süresi ve tutulan bölgenin genişliği ile ilgilidir (16,20, 21).

Radyasyon: Kolorektal kanserlerin çok az bir kısmında radyasyon etyolojik bir rol oynar. Servikal, uterus veya prostat karsinomlarının tedavisi için radyoterapi alan hastalarda rektal kanserin daha sık geliştiği bildirilmiştir (16).

Sistozomiyazis: Sistozoma japonikum ile enfekte Çinli hastalarda kolorektal neoplazi insidansı artmıştır (16)

Diğer faktörler: Üreterosigmoidostomi uygulanan hastalarda KRK insidansı 500 kat artar (16). Peptik ülser için cerrahi tedavi geçiren hastalarda kolorektal kanser gelişme riski artmıştır (16). Pernisiyöz anemi, diabetes mellitus, çölyak hastalığı, AIDS hastalarında kolorektal adenokarsinom riski artmış olabilir (16).



Şekil 2.8. Kolorektal kanser için risk ve koruyucu faktörlerin şematik gösterimi.

2.4. Kolorektal Karsinogenez

Kolorektal karsinomların % 60-80'inde APC (Adenomatous Polyposis Coli) geninin kaybı vardır. APC, normal hücrelerde β -kateninin azalmasına sebep olan hücre içi bir protein kompleksinin parçasıdır. β -katenin, farklılaşmış hücrelerde hücre iskeletinin aktin liflerine E-kadherin epitelyal adezyon molekülünü bağlar. Azalma, hücre içi β -kateninin miktarını düzenler ve sabit halde tutar. İnsan neoplazilerinde APC fonksiyon mutasyonlarının kaybı ile bir patolojik inhibisyon ortaya çıkar. Sonuçta hücre içi β -katenin birikir ve çekirdeğe

translokasyon oluşur. Nükleer β -katenin TCF4 gibi diğer nükleer faktörlere bağlanır ve transkripsiyonel aktivasyon için çok etkili bir kompleks oluşur. TCF4/ β -katenin transkripsiyonel aktivitesinin hedefindeki ilk genlerden birisi siklin D1'dir. siklin D1, E2F'den retinoblastom gen ürününün ayrılmasını katalizleyen bir kinazı aktif hale getirir. Sonuçta hücre siklüsünün G1-S geçisi için aktive genlerden oluşan nükleer kompleksi meydana gelir ve proliferasyon oluşamaz. Bu bilgiler eşliğinde β -kateninin kolorektal kanser proliferasyonu için bir faktör ve bir onkogen olduğu varsayılmıştır (18). K-RAS geni KRK ve adenomlarda en sık gözlenen aktive onkogendir. Bu gen hücre içi sinyal transdüksiyonunda rol oynar ve 1 cm den küçük adenomların %10'undan daha azında, 1 cm den büyük adenomların yaklaşık %50'sinde, karsinomların yaklaşık % 50'sinde mutasyona uğramış haldedir (26).

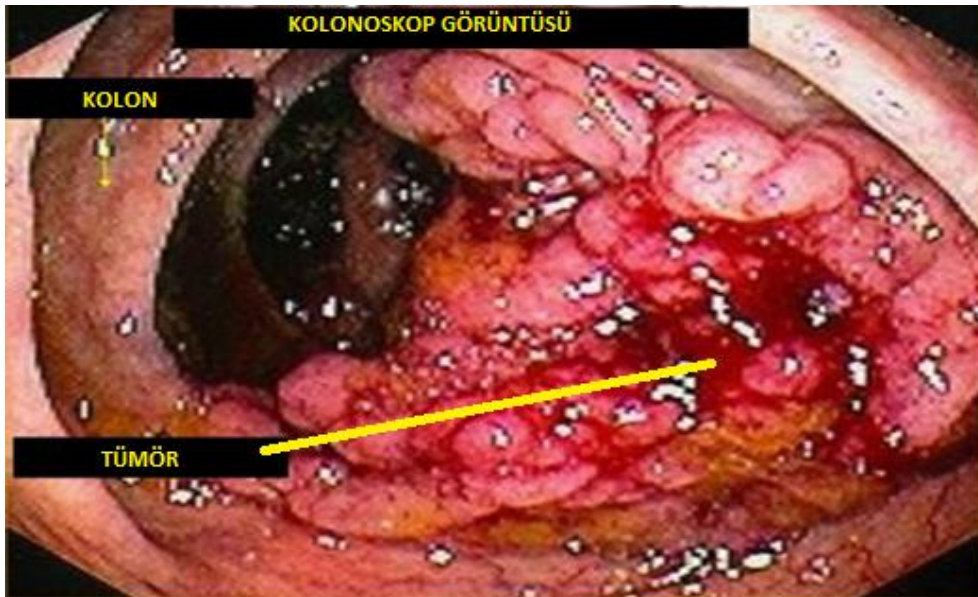
SMAD2 ve SMAD4 18q21'de bulunurlar ve TGF-B sinyali içerirler. SMAD2 ve SMAD4'ün yokluğu gastrointestinal tümör oluşumunu arttırmaktadır (26). Kolon kanserlerinin %70-80'inde 17p kromozomunda kayıp bulunmuştur. Bu kromozomal delesyon p53 genini etkiler. p53 geni hücre siklüsünün düzenlenmesinde kritik rol oynar (26). Telomeraz, kromozom sabitleşmesinde rol oynar. Katalitik bir alt unite gibi davranan telomerik reverse transkriptaz (TERT) ile bir ribonükleoprotein kompleksi yapısındadır. Telomeraz aktivitesi telomere sabitlenmesini sağlar ve hücrelerin ölümsüzlüğü için gereklidir. Çoğu adenomda telomeraz aktivitesi yokken kolorektal karsinomu da içeren kanserlerin büyük çoğunluğunda telomeraz aktivitesi artmıştır (26). HNPCC sendromunda ve sporadik vakaların %10-15'inde DNA yanlış yapım tamir geninde genetik lezyon vardır (26).

2.4.1. Lokalizasyon

Karsinomların %50'si rektosigmoid bölgededir. Ancak bu özellik azalıyor gibi görünmekte ve giderek proksimale doğru kaymaktadır (20,21). Düşük riskli ülkelerde kolorektal karsinom çekum ve çıkan kolonda, sol kolondan daha sık oluşurken; yüksek riskli ülkelerde rektosigmoid bölgede görülme oranı daha fazladır (16, 23). Sağ kolon karsinomları özellikle kadınlarda yaş ile beraber artmaktadır. Sağ kolon kanserleri, kolon malignitelerinin %33-63,4'ünü oluşturur. 70 yaştan sonra erkek ve kadınlarda baskın olarak proksimal kolon kanserleri görülmektedir (16). Birden fazla odaklı karsinom vakaların %3-6'sında bulunur (30).

2.4.2.Klinik Özellikler

Klinik, tümörün sağ veya sol kolon yerleşimine ve lezyonun erken veya ilerlemiş olup olmamasına göre değişir. Başlangıç semptomları genellikle belirsiz ve nonspesifiktir. Kilo kaybı ve istahsızlık sıklıkla oluşur. Çekum ve çıkan kolon kanserleri sıklıkla yassı veya polipoiddir. Ayrıca sağ kolonda feçes yumuşaktır. Bundan dolayı sağ kolon kanserleri, melena ve tıkanıklık oluşturmazlar. Sıklıkla klinik olarak sessiz kalır. Diğer taraftan rektosigmoid kanserler intestinal lümeni tıkar veya kanamaya sebep olurlar. Yaşlı hastalar (>80 yaş) gençlere göre erken dönem hastalığa sahiptir (16, 22). Kolorektal karsinomlu hastaların %22-58'inde barsak alışkanlıklarında değişiklik söz konusudur. Bu özellikle sol kolon yerleşimli karsinomlarda belirgindir. Değişiklikler; ishal, tenesmus ve kabızlık şeklinde olabilir (16). Rektal kanama hastaların yaklaşık %50'sinde başlangıç semptomudur (16). Kanama gözle görülmeyebilir ve sadece demir eksikliği anemisi ile farkedilebilir (16, 20, 30). Belirgin hematokezya bazen gelişebilir. Rektal kanama %70 sol kolon lezyonlarında, %25'den az olarak da sağ kolon tümörlerinde gözlenir. Özellikle yaşlı kişilerde malignite dışlanmadan rektal fissür ve hemoroid düşünülmemelidir (16). Yaklaşık %50 hastada abdominal ağrı şikayeti olabilir. Özellikle tümör serozayı invaze ettiğinde ortaya çıkar (16). İlioçekal valvdeki karsinomların %25'i apendiks lümenini tıkayarak apendisite sebep olabilirler (20, 16).



Şekil 2.9. Tümörün kolonoskopi görüntüsü.

Anemi sıklıkla sağ kolon kanserlerinde oluşur (16). %20 hastada kolon iskemisi görülmektedir. İskemik alan tümörün proksimalinde bulunur (16). Tümör barsak duvarını invaze ettiğinde kolon-kolon fistül meydana gelebilir. Nadiren sigmoid KRK akut barsak tıkanıklığı veya peritonit ile beraber akut perforasyona sebep olabilir (16).

2.4.3. Erken tanı ve klinik tarama yöntemleri

Son yapılan çalışmalar uygun tarama ve tedavi ile kolorektal kanserini ve bu maligniteden ölüm sayılarını azalttığını göstermiştir. Adenomatöz poliplerin bulunması ve çıkarılması kolorektal adenokarsinom gelişimini önleyebilir. Erken evre kanserlerin tanı ve tedavisi kolorektal kanser mortalitesini düşürür. Polip ve erken evre kanserler genelde asemptomatiktir (16, 20, 23). 50 yaşından itibaren çoğu kişi kolorektal kanser açısından ortalama risk taşıdığından malignite ve polip açısından düzenli olarak taranmalıdır. Önerilen tarama yöntemleri şöyledir:

- ❖ Yılda bir defa gaitada gizli kan testi,
- ❖ Her beş yılda bir fleksibl sigmoidoskopi,
- ❖ Her beş- on yılda bir çift kontrastlı baryum enema,
- ❖ Her on yılda bir kolonoskopi (30).

Gaitada gizli kan testi spesifik olmayıp birçok küçük kanser ve prekanseröz lezyonu bulmada yetersizdir. Bazı uzmanlar senede bir bu teste beş yılda bir fleksible sigmoidoskopinin eşlik etmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Fleksible sigmoidoskopi ile bulunan adenomatöz polip sonucu kolonoskopi ile tüm barsağın muayenesini gerektirir (30). Çift kontrastlı baryumlu grafiler; 1 cm'den küçük polipleri %50-80, 1 cm'den büyük polipleri %70-90 ve evre I ve II adenokarsinomları %50-80 oranında tespit etmektedir (30). Birinci derece akrabalarında kolorektal kanser veya adenomatöz polip hikayesi olanlarda tarama 40 yaşında veya akrabanın tanı aldığı yaştan 10 yıl önce başlamalıdır. Kolonoskopi ile tüm kolonun değerlendirilmesi gerekmektedir (30).

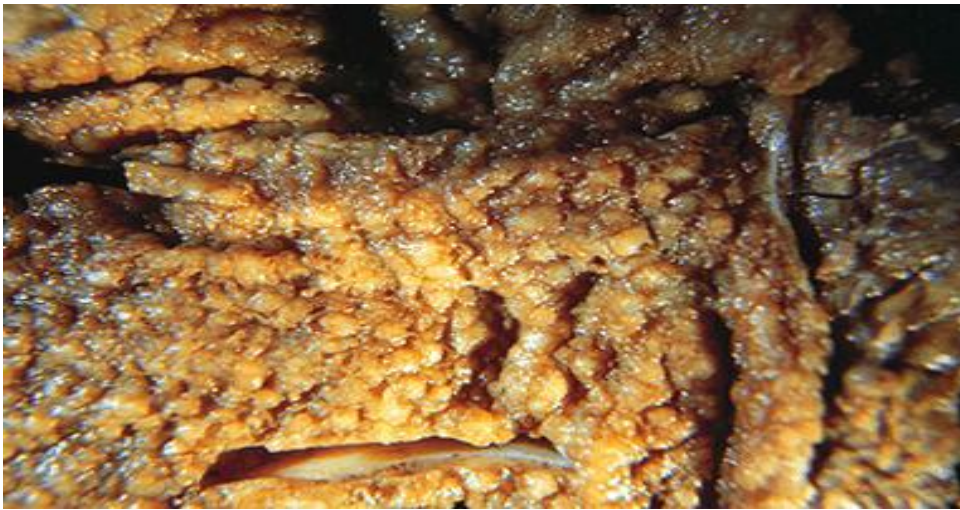
HNPCC'de tarama 21 yaşında başlamalıdır. Bir veya üç yılda bir kolonoskopi, genetik danışma ve genetik testlerin uygulanması söz konusudur (30). FAP'da tarama pubertede başlamalı; her bir-iki yılda bir fleksible sigmoidoskopi veya kolonoskopi, genetik danışma, genetik test yapılması uygundur (30). İnflamatuvar barsak hastalıklarında özellikle ülseratif

kolitte kolorektal kanser riski artmıştır (16, 20, 30). Crohn hastalığında da risk artmakla beraber iyi bir şekilde tanımlanmamıştır. Ülseratif kolitte pankolit tanısından 7-8 yıl sonra, sol taraf kolitin tanısından 12-15 yıl sonra tarama başlamalıdır. Tarama, her bir-iki yılda bir diplazi için kolonoskopi ile biyopsi alınmalıdır (30).

2.4.4. Makroskopik Özellikler

Küçük karsinomlar 1-2 cm çapında olup genelde kırmızı, granüler, düğme benzeri mukozadan kabarık lezyonlardır. Sıklıkla keskin sınırlı ve makroskopik olarak adenomlara benzerler (16). Makroskopik olarak çoğu kolorektal karsinom polipoid veya ülseroinfiltrandır (16, 20). Kolorektal karsinomlar makroskopik olarak polipoid, mantarimsı (egzofitik), ülser, diffüz-infiltratif olabilir (20, 23,19). Polipoid tipte, yüzeyde ülser olabilir ve genelde nodüler, lobüler, papiller, sıklıkla adenom kalıntılı bir şekilde görülürler (22). Ülseroinfiltratif tipte ise santralde ülser vardır. Bu tipin bir varyantı olan flat veya deprese tipte polipoid tipten daha fazla lenfovasküler invazyon eğilimi vardır (20).

Tümörlerin yaklaşık üçte ikisi ülseredir. Kolon duvarını derin olarak tutar. Diffüz infiltrate tip karsinomlar normal mukozadan hafifçe kabarık olup sıklıkla nodüler kitle yapmaksızın barsak segmentini çepeçevre sararlar (16). Mantarsı kanserler sıklıkla çekum ve çıkan kolonda görülürler. Lümene doğru büyüme eğilimindedirler ve nadiren tıkanıklığa sebep olurlar (16, 20, 21). Anemi ile sonuçlanan kan kaybına kadar semptomsuzdur (20, 23).



Şekil 2.10. Familial adenomatöz polipozis makroskopik görünüm.

Transvers ve inen kolon adenokarsinomları genelde infiltratif ve ülseratiftir. Daraltıcı tümörlerdir (16, 20, 21). Tümörün proksimalinde barsak lümeni genişlemiştir. Tümör barsak duvarını kalınlaştırır (16). Tümör barsak duvarına tamamen yayılıp komşu ince barsak, başka kalınbarsak segmenti veya mideyi tutabilir. Barsak duvarındaki perforasyon sonucu peritonit oluşabilir (16, 20, 26). Müsinöz tümörlerin kesiti jelatinöz, parlak görünümlüdür ve mukus barsak tabakalarını ayırabilir. Midede sık görülen lateral yüzeyel yayılım kolorektal karsinomlarda çok nadirdir (20). Makroskopik incelemede tümörün barsak duvarına sınırlı olup olmadığı, kolon etrafı dokulara yayılıp yayılmadığı, venlere makroskopik invazyon varlığı ve kalan kolonda polip veya başka karsinom varlığı belirtilmelidir (20).

2.4.5. Adenokarsinom

Kalın barsak tümörlerinin %95'i klasik adenokarsinomdur (16,20). Bunlar değişik derecede müsin salgılayan iyi, orta ve az gradede diferansiye adenokarsinomlardır (20). Tümör hücreleri silindirik ve goblet hücre kombinasyonu ile nadir endokrin hücreler ve paneth hücrelerinden oluşur. Karsinom özellikle tümörün kenarlarında olmak üzere enflamatuvar ve desmoplazik reaksiyona sebep olur. Enflamatuvar hücrelerin çoğu T-lenfositlerdir, fakat B-lenfositler, plazma hücreleri, histiyositler ve S-100 pozitif dendritik hücreler de bulunabilir. Nadiren bol eozinofil görülür ve tümör stromasında metaplazik kemik oluşumu görülebilir (20). Tümör kenarında rezidüel polip odağı görülebilir. Fakat tümör etrafındaki glandlarda hiperplastik değişiklikler daha sıktır. Bu hiperplastik değişiklikler normal mukozadan daha fazla goblet hücresi içeren daha uzun, daha kıvrımlı glandlar şeklindedir. Bu değişiklik transisyonel mukoza olarak da tanımlanır. Bu mukoza normal mukozadan histokimyasal olarak farklıdır (16, 20).

Adenokarsinomlar infiltratif veya etraf dokuyu itici (ekspansif) tarzda gelişim gösterirler. Ekspansif gelişimde tümör glandları nodüler küme oluştururken, infiltratif gelişimde tümör hücreleri veya küçük gland yapıları duvar boyunca yayılmışlardır. Ekspansif karsinomlar makroskopik olarak genelde polipoid veya mantarsı görünümde iken infiltratif karsinomlar genelde ülseratif veya diffüz infiltratif görünümde (16).

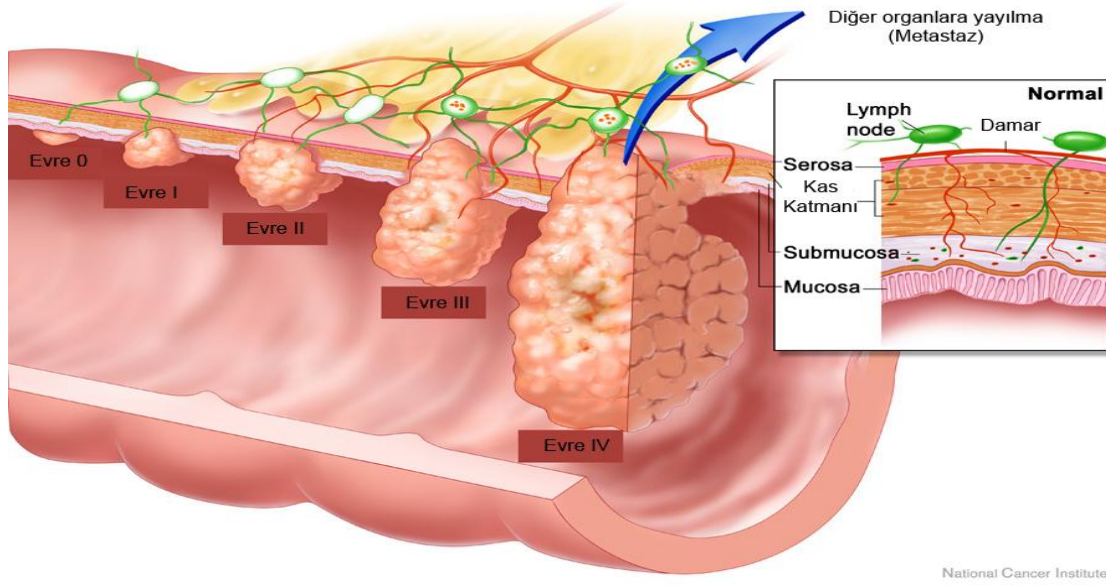
➤ Diğer Mikroskopik Tipler

- ❖ Müsinöz Karsinom
- ❖ Taşlı yüzük hücreli karsinom
- ❖ Bazaloid (kloakojenik) karsinom
- ❖ Berrak hücreli karsinom
- ❖ Hepatoid adenokarsinom
- ❖ Medüller adenokarsinom
- ❖ Anaplastik (iğsi ve dev hücreli,sarkomatoid) karsinom

2.4.6. Tümör Evrelemesi

Evreleme, tedavi planlaması ve prognoz açısından yol göstericidir. Kolorektal karsinom için çok sayıda evre şeması geliştirilmiştir. Bunlar genelde barsak duvarına invazyon derinliği ve lenf nodu tutulumu olup olmamasına bağlıdır (20, 16).

- T1 : Tümör submukozaya ulaşmış
- T2 : Tümör adeleye ulaşmış (Muskularis propria)
- T3 : Tümör subserozaya veya peritonla kaplı olmayan perikolik veya perirektal dokulara ulaşmış
- T4 : Tümör serozayı atlamış, komşu doku yada organları tutmuş
- N1 : 1-3 adet lenf nodu tutulumu
- N2 : 4 veya daha fazla lenf nodu tutulumu
- M1 : Uzak metastaz



Şekil 2.11. Gelişmekte Olan Tümörün Evrelemesi ve Şematik Gösterimi.

2.4.7. Moleküler Genetik Özellikler

Kalın barsak kanserlerinin ailesel birkaç tipi bu tümörlerde bazı genetik değişikliklerin belirlenmesine yol açmıştır. Bu, sporadik kolon kanserlerinde de genlerde somatik mutasyon olduğunu göstermiştir. Bu genlerin en önemlileri APC, mismatch tamir genleri, p53, k-ras, MAD (mother against DPP), MADR (MAD- related genes) ve DCC' dir (16, 20, 40, 41). MSI (mikrosatellit instabilitesi) ile birlikte tümörler, müsinöz veya az diferansiye olmaya eğilimlidir. Bu tümörler; sınırlı gelişim, sağ tarafa yerleşim ve belirgin stromal reaksiyona sebep olurlar (20). MSI durumunun tespiti tümör evre ve gradenin histopatolojik değerlendirmesi için fayda sağlayabilir (42, 43). APC geninde mutasyon ile inaktivasyon FAP'da bulunur (16, 44). APC kolon epitelyum çoğalmasında negatif düzenleyicidir. Kolorektal kanserlerin %60'ında ve adenomların %63'ünde APC geninde en azından bir adet somatik mutasyon vardır (16). Kolorektal karsinomlu hastalarda normal kolon mukozası ile premalign adenomlar karşılaştırıldığında CpG alanında APC geninin promotor bölgesinin ağır metile olduğu bulunmuştur (45, 46). Kolorektal karsinom patogenezi de rol oynayan bir diğer moleküler grup ise E- kadherin ve katenindir. β -katenin APC proteini ile birlikte dir. Adenom karsinom dönüşümünün bütün dönemlerinde düzeni bozar (20). Kolorektal karsinomda E- kadherin ve alfa- katenin ekspresyonu bölgesel invazyon ve metastaz ile orantılıdır (20, 47, 48). p53 mutasyonu kolorektal karsinomların büyük çoğunluğunda bulunmuştur (8,10,12). p53 geni 17. kromozomun kısa kolunda lokalizedir (16, 26). p53 proteini, hücre çoğalması,

diferansiasyonu, DNA tamir ve sentezi kontrolü ve programlanmış hücre ölümünde rol oynar (16). Apoptozisi bcl-2/ Bax yolu üzerinden düzenler (49). Anormal genlerle oluşan protein kodunun yüksek ekspresyonu ile de uyumludur (20,16). Kolorektal karsinomun az miktarında, özellikle de metastatik grupta “ ras” onkogen mutasyonu vardır (20). Ras protoonkogenleri, normal hücre gelişiminde ve diferansiasyonunda önemli rol oynar. Ras GTP, çeşitli hücre hedeflerini harekete geçirir sonuçta hücre döngüsü ilerlemesi, hücre iskeleti organizasyonu değişiklikleri, hücre adezyonu ve çoğalması meydana gelir (16, 50). Bu genin ekspresyonunun erken kanser oluşumunda etkili olduğu söylenmektedir (20, 16, 26).

DCC (deleted in colorectal cancer) geni, tümör süpresör gendir ve 18. kromozomun uzun kolunda lokalizedir. İmmünohistokimyasal olarak DCC proteini hücre içi müsin granüllerine yerleşmiştir. DCC kaybı, p53 delesyonundan erken gelişir. Kolorektal kanserin genelinde allelik kaybı vardır. DCC ekspresyonu, evre II ve III kolorektal karsinomun gidişatı için güçlü pozitif tahmin sağlar (16, 51). Kolorektal karsinomların yine büyük bir kısmında von Hippel Lindau gen delesyonu bulunmuştur (20). bcl-2 bir protoonkojendir. Apoptozu engeller. Normal gastrointestinal sistemde kriptomların bazal hücrelerinde eksprese edilmektedir. Kolorektal adenomların çoğunluğunda (%85’den fazla) eksprese edilmekte ve invaziv karsinoma ilerlerken ekspresyon azalmaktadır (49). KKR’nde bcl-2 ekspresyonunun kemoterapötik tedaviye direnci açıkladığı da belirtilmiştir (52). Kolorektal karsinomların %90’ında c-myc onkogen güçlü ekspresyonu mevcuttur (20). Artmış çoğalma faaliyeti S-dönemine özgü Ki-67, PCNA, AgNOR boyaları ile sâılarak bulunur (20). Yukarıda sayılan tüm bu belirleyiciler tek başlarına prognoz hakkında fikir verebilirken, hiçbiri mikroskopik grade ile yakından ilişkili değildir (20).

K-ras mutasyonlu hastalarda hastalık tekrar oranının arttığı görülmüştür. K-ras mutasyonu taşlı yüzük hücreli karsinomda da tespit edilmiştir (20, 34, 50). p53 aşırı ekspresyonu, sağ kalımın tahmininde bağımsız prognostik belirleyici olarak bulunmuştur (20). p53 ve bcl-2 ekspresyonu faydalı prognostik bilgi sağlayabilir (49, 52). c-myc onkogeni tümör diferansiasyonu ile orantılıdır (20). E-kadherin ekspresyonu kolorektal karsinomun prognozunu tahmin etmede faydalı olabilir (47, 48). Kalretinin ekspresyonu ile tümör diferansiasyonu arasında uyum vardır. Ekspresyon derecesi arttıkça, lenf nodu metastazı sayısı, diğer organ metastazı sayısı da artmaktadır (38).

2.5. Yağ Dokusu ve Yağ Hücresi

Son çalışmalar yağ dokusunun sadece bir enerji deposu değil aynı zamanda aktif endokrin organ olduğunu göstermiştir. Beyaz yağ dokusu, ihtiyaç fazlası enerjiyi trigliserit halinde yağ hücresinde depolar ve ihtiyaç duyulduğunda hızla dolaşıma verebilir. Yağ dokusu vücutta en büyük enerji deposudur ve enerjinin yağ hücresinde depolanması ve salgılanması hormonal sinyallerle (insülin, katekolaminler, glukokortikoidler gibi) kontrol edilir. Yağ hücresinden leptin, resistin, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), adiponektin, adipisin, interlekin-6 (IL-6), plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1), transforming büyüme faktörü- α (TGF- α), anjiyotensinojen, asilasyon-stimüle edici protein (ASP), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I), prostaglandin I₂ (PG I₂), prostaglandin F₂ α (PG F₂ α) gibi çok sayıda madde salgılandığı saptanmıştır. Leptin, enerji homeostazisini düzenler ve vücut yağ dokusu hakkında hipotalamusa bilgi verir. Resistin, insülin direnci ve periferik doku insülin hassasiyeti ile ilgili olabilir. TNF- α , insülin reseptör sinyaline karışır ve obezlerde insülin direnci gelişimine neden olur. Adiponektin, ailevi hiperlipidemi patogenezinde yer alır ve insülin direnci ile ilişkilidir. Adipisin, yağ dokusu metabolizmasında yer alır. IL-6, vücut savunmasında ve glukoz ve yağ metabolizmasında yer alır. PAI-1, fibrinolitik sistemin en önemli inhibitörüdür. TGF- β , proliferasyon, diferansiyasyon ve apoptosis gibi biyolojik cevapları düzenler. Anjiyotensinojen kan basıncı ve elektrolit homeostazisinde düzenleyici rol alan anjiyotensin-II'nin öncü maddesidir. ASP, trigliserit sentez hızını artırır. IGF-I, hücrelerde proliferasyonu stimüle eder ve büyüme hormonunun etkisine aracılık eder. PG I₂ ve PG F₂ α , inflamasyon, pıhtılaşma, ovülasyon, menstrüasyon ve asit sekresyonu gibi düzenleyici fonksiyonlarda yer alır. Yağ dokusu salgıladığı bu ürünleri ile vücutta birçok sistemin fonksiyonunu etkiler. Yağ dokusu hücre sayısı ve büyüklüğü bakımından yaşam boyu, enerji ihtiyacı ve tüketimine bağlı, sürekli hacim değişkenliği gösteren bir dokudur. Yağ hücreleri enerji depolama ve salgılama sürecinde bu fonksiyonlar için çok karışık sistemler tarafından idare edilir. Yağ hücresi pasif bir hücre değildir, aksine günlük enerji alımına bağlı sürekli hacim değişkenliği gösteren, ekstrasellüler sıvıya sitokin, hormon salgılayan bir hücredir. Yağ hücresi bu salgı ürünleri ile endokrin, parakrin ve otokrin yolla diğer hücrelerle haberleşir, hormonlar ve sitokine membran reseptörleri aracılığı ile yağ asidini kana vererek, yağ asitlerini hücre içine alarak depolama ve hormon, sitokin salgılayarak cevap verir. Yağ hücresi enerji depolamaya ve salgılamaya adapte olmuştur. Yağ hücresinde enerji lipid damlacıkları halinde trigliserid olarak depolanır ve bu damlacıklar hücrenin yaklaşık %90'dan fazlasını, geri kalanı diğer hücre organellerini oluşturur.

2.5.1. Adipositokinler ve Kanser

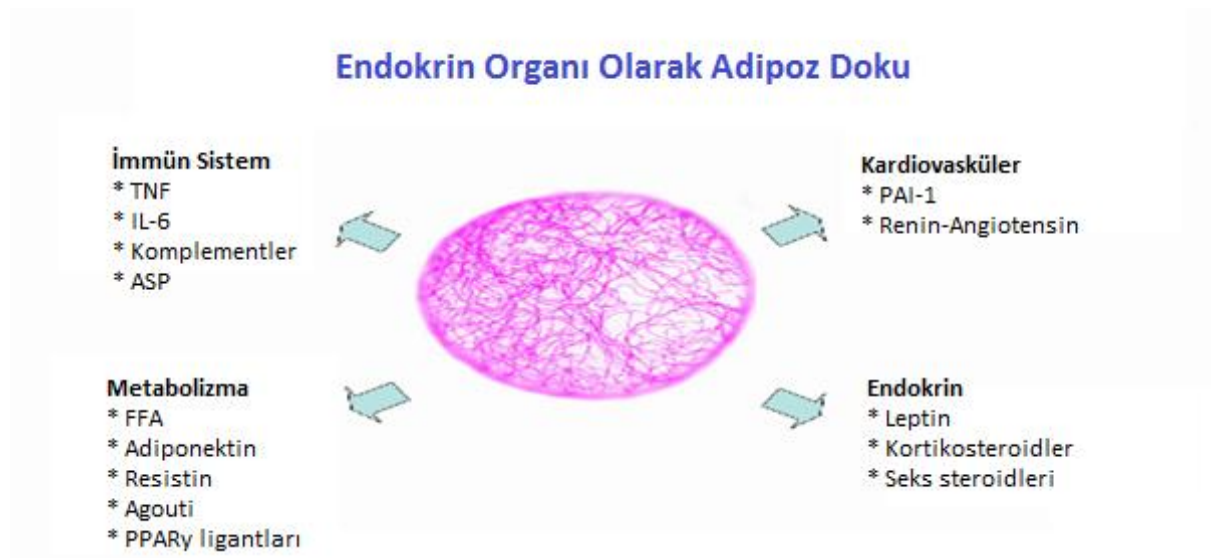
Adipoz doku tarafından üretilen hormonlar insan vücudundaki diğer bir çok işleyişi etkilediği gibi önemli olarak lipid ve karbonhidrat metabolizmasını da etkilemektedirler. Sıklıkla kabul gören görüş adipoz dokudaki endokrin disfonksiyonun obezite ve insülin direnci/diyabet arasındaki nedensel ilişkilerden birine neden olabileceği yönündedir. Her ne kadar mekanizması açıklanamamış olsa da epidemiyolojik çalışmalarda obezitenin kanser gelişimi için anlamlı bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Son günlerde yapılan bir çok çalışmada adipoz doku tarafından üretilen hormonlar tümör stromasının (=destek doku) ve barındırdığı malign hücrelerin gelişimini ve proliferasyonunu önemli ölçüde etkilediği belirtilmiştir. Çalışmaların çoğu leptinin in vitro koşullarda kanser hücresi gelişimini potansiyelize ettiğini göstermekteyken, adiponektinin zıt bir etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Adipoz dokunun obezite nedenli endokrin disfonksiyonunun farklı doku ve organlarda karsinogenez gelişimine doğrudan etkisi olup olmadığına karar verebilmek için daha fazla araştırmaya gereksinim vardır. Adipositokinler 3 farklı grupta tanımlanabilirler:

1. Diğer doku ve organlarda üretilip adipoz dokuya etkiyen (uyaran) hormonlar (örn. TNF-alfa).
2. Esas olarak beyaz adipoz dokuda üretilen hormonlar. Bununla birlikte bu üretimin tek kaynağı adipositler değildir, yağ dokuda ayrıca immunokomponent hücreleri de (resistin) bulunabilir.
3. Beyaz adipoz dokudaki çoğunluğu ya da tamamı adipositler tarafından üretilen hormonlar (leptin ve adiponektin).

Adipositokinlerin diğer bir sınıflaması onların muhtemel fizyolojik görevlerine dayanmaktadır. Bu sınıflamaya göre adipositokinler iki gruba bölünebilir: Resistin, TNF-alfa, interlökin-6 gibi “insülin direncine neden olan faktörler” ve leptin, adiponektin ve son günlerde tanımlanan visfatin gibi “insülin duyarlılığını arttıran faktörler” (65). Obezite ve bazı kanser çeşitleri arasındaki bağlantı uzun süreden beri bilindiği için (66), kanser ve obezite arasındaki diğer bir bağlantı noktası olan karsinogenez regülasyonundaki adipositokinlerin muhtemel rolünün araştırmacılar tarafından incelenmesi şaşırtıcı değildir (67).

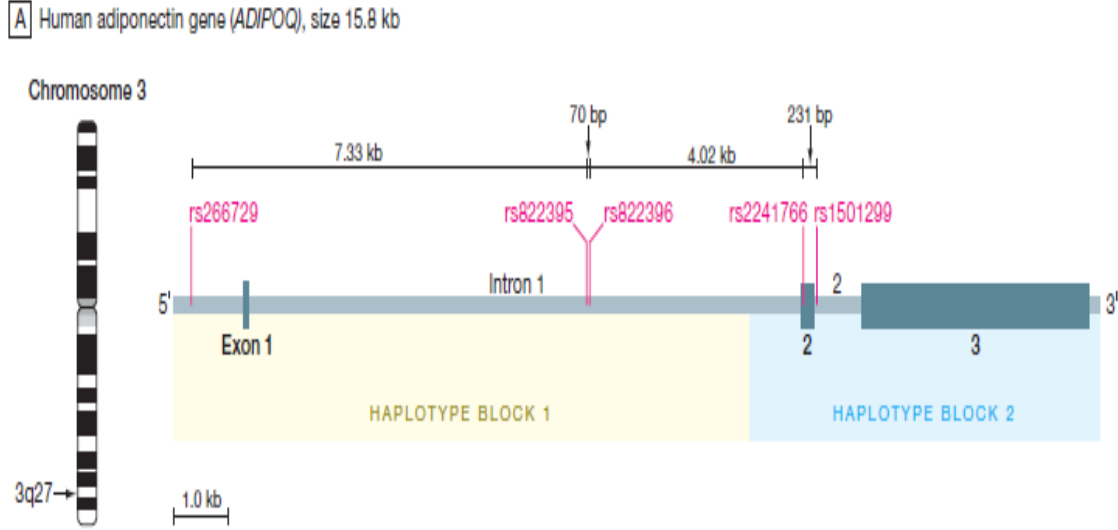
2.5.2. Adiponektin

Adiponektin yalnızca adipositler tarafından salgılanmakta, multimerik formlarda agregere olmakta ve kanda yüksek konsantrasyonlarda dolaşmaktadır. Üç büyük oligomerik formu bulunmaktadır; düşük moleküler ağırlıklı (LMW) trimer, orta-moleküler ağırlıklı (MMW) heksamer ve yüksek moleküler ağırlıklı (HMW) 12-18-mer adiponektin (80, 81). Adiponektin adipoz dokuda yer alan ve preadipozitlerin diferansiasyonunu düzenleyen ve matür adipositlerin oluşumunu kolaylaştıran önemli bir otokrin/parakrin faktördür. Adiponektin ayrıca bir endokrin faktör olarak da fonksiyon göstererek hedef organlar üzerinde gösterdiği etkiler yoluyla tüm vücut metabolizmasını etkilemektedir. Adiponektin multimerleri farklı biyolojik etkiler sergilemekte, özellikle yüksek moleküler ağırlıklı multimer faydalı etkilerin (örn. daha yüksek insülin hassasiyeti, azalmış viseral adipoz doku kütlesi, azalmış plazma trigliseritleri ve artmış HDL kolesterol düzeyi) ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Adiponektin trigliseritten zengin lipoproteinler ve HDL'nin katabolizmasından sorumlu anahtar enzimlerin (lipoprotein lipaz ve hepatik lipaz) seviyelerini ve aktivitelerini etkileyerek plazma lipoprotein düzeylerini etkilemektedir. Bu sayede adiponektin, plazmadaki aterosjenik ve antiaterojenik lipoproteinlerin dengesini etkileyerek ve köpük hücre oluşumunda görev alan hücresel işlevleri modüle ederek aterosklerozun ortaya çıkışını etkilemektedir.



Şekil 2.12. Endokrin Organ Olarak Adipöz Doku.

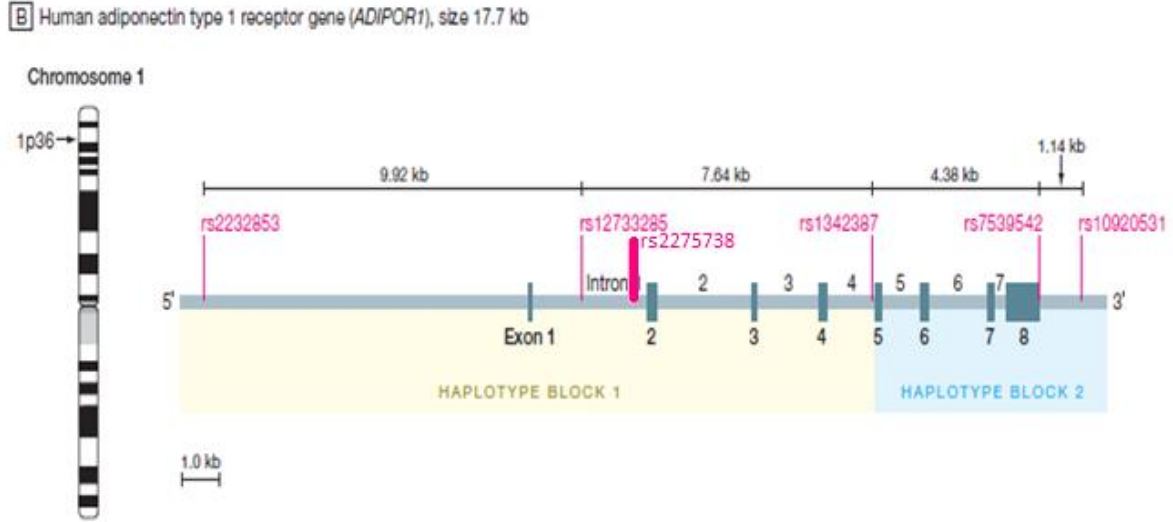
GBP28 ve Acrp30 olarak da bilinen adiponektin kromozom 3q27 bölgesinde lokalizedir, 15,8kb uzunluğundadır ve 82 SNP bulundurur (68, 82)(Şekil 2.13). İlk olarak fare adiposit hücre dizisinden salgılanan 3T3-L1 isimli bir protein olarak tanımlanmıştır. İnsan adiponektini bundan 1 yıl sonra tanımlandı ve APM1 olarak isimlendirildi (AdiPose Most abundant gene transcript =Adipoz dokunun yoğun olarak salgıladığı gen transkripti). (69, 70).



Şekil 2.13. İnsan Adiponektin geninin kromozomal lokalizasyonu ve rs2241766 exon2 (+45 kodon 15) polimorfizminin şematik gösterimi.

Adiponektin moleküler ağırlığı 30 kDa olan her ne kadar kahverengi adipoz dokudaki T37i hücrelerinden salındığı bazı araştırmalarda rapor edilse de esas olarak beyaz adipositlerden salınan bir proteindir (71). İnsan adiponektin molekülü 244 aminoasitten oluşmaktadır; N-ucunda diğer bilinen herhangi bir sekansla homologluk göstermeyen 22 tekrar kısmı kısa hiperdeğişken (=hipervariable) bir bölgeyi takiben 18 aminoasit uzunluğunda bir sinyal peptidi bulunmaktadır. C-ucunda 22 tekrar parçalı küresel (=globular) bir bölge bulunmaktadır. C-ucunda kompleman kaskadı molekülü olan C1q'yla homolog (=benzer) küresel bir bölge bulunmaktadır. Tip VII ve X kollejenleri, komplemanın C1q parçası, preserebellin ve hibernation regülasyon proteinleri 20, 25 ve 27 arasında şaşırtıcı bir benzerlik bulunmaktadır. C-ucu küresel bölgesi ayrıca TNF-alfa trimerik sitokin ailesiyle benzerlik göstermektedir. Adiponektin reseptörlerinin yapısı yakın bir zamanda ortaya çıkarılmıştır ve iki izoformu tanımlanmıştır (72). AdipoR2 esas olarak karaciğerden salınırken

AdipoR1 esas olarak çizgili kaslardan salınmaktadır. Adiponektin reseptörlerinden olan ADIPOR1 geni ise 1p36.13-q41 bölgesinde lokalizedir ve 8 exon içermektedir, yapılan araştırmalarda vücut kitle indeksi ile ilişkisi olduğu belirlenmiştir. Adiponektin ve reseptörleri kolon dokusunda da eksprese edilmektedir (82)(Şekil 2.14).



Şekil 2.14. İnsan Adiponektin Reseptör 1 geninin kromozomal lokalizasyonu ve rs2275738 intron 1 (-106) polimorfizminin şematik gösterimi.

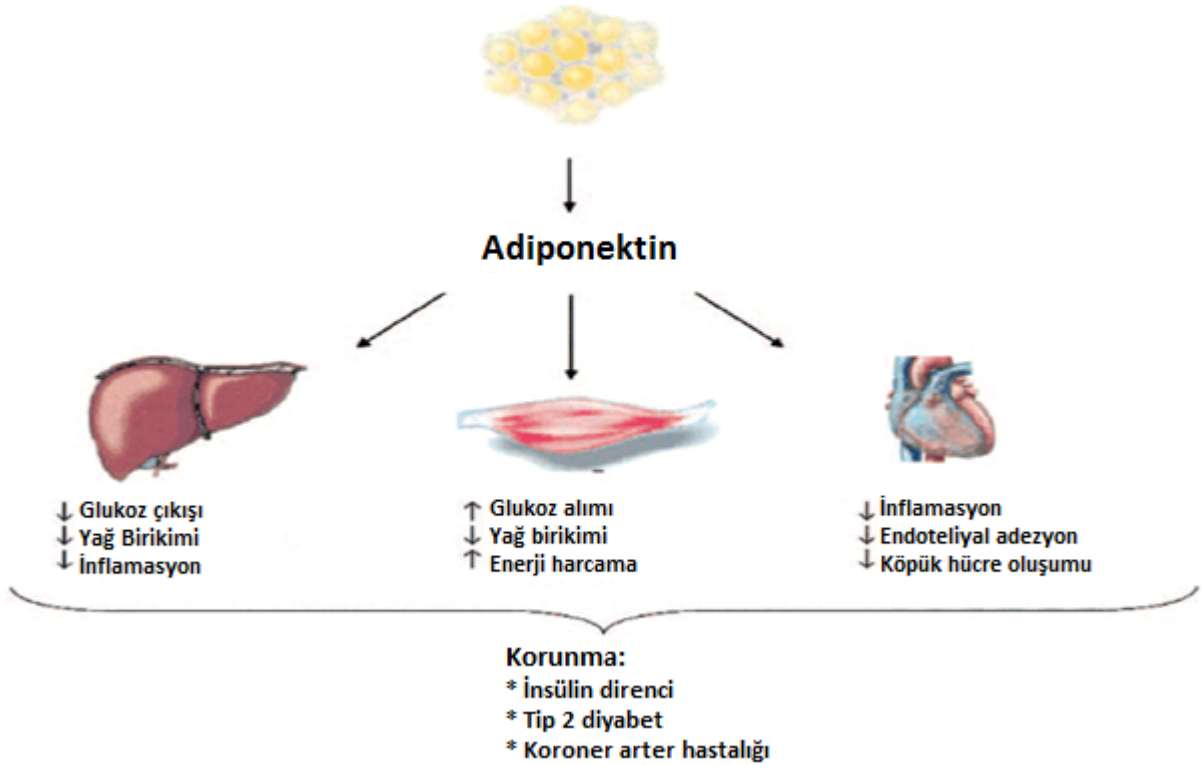
Her iki AdipoR1 ve AdipoR2’de G-proteini çift reseptörleriyle benzerlik gösteren yedi transmembran bölgesi bulunmaktadır. Adiponektinin şimdiye kadar tanımlanmış en önemli fonksiyonları anti-aterogenik, antiinflamatuvar ve insülin duyarlılaştırıcı etkileridir. Adiponektin yetmezliğinin ateroskleroz ve insülin direncinin esas nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu hala açığa çıkartılmayı beklemektedir (73, 74).

Adiponektin, yağ hücresinden insülin stimülasyonu ile salgılanan, kollegen VIII ve kompleman C1’e benzeyen, bir hormondur. Plazmada 2-25 µg/mL kadar bulunan adiponektin salgılandıktan sonra plazmada kollegen I, III, V’e bağlanır, II ve IV’e bağlanmaz. Adiponektin endotelial adezyon moleküllerinin VCAM-I, ICAM-I ve E-selektin ile ilişkisini inhibe eder ve inflamatuvar sitokinler (TNF-α gibi) ile ilişkiyi tetikler.

Obezlerde ve insülin direnci gelişenlerde plazma seviyesi düşüktür. İn vivo koşullarda, kronik uygulamalarda, Adiponektin enjeksiyonlarının plazma serbest yağ asidi miktarını azalttığı

görülmüştür. Adiponektinin insülin direncini birçok dokuda düzelttiği de saptanmıştır. İnsülin direnci gelişmiş kemirici hayvanlarda intravenöz adiponektin enjeksiyonları insüline hassasiyeti düzeltir. Adiponektin üretimi PPAR γ agonistleri ile uyarılır.

Yakın zamanlı çalışmalarda adiponektinin özellikle adipoz doku homeostazında ve metabolik sendrom, tip 2 diyabet ve ateroskleroz gibi hastalıkların patogeneğinde oynadığı rol vurgulanmaktadır. Adiponektinin bu pleiotropik etkileri onu obezite ile ilişkili durumlara yönelik çekici bir terapötik hedef haline getirmektedir.



Şekil 2.15. Adiponektinin işlevleri.

➤ Adiponektin ve meme kanseri

Postmenopozal kadınlarda, IGF-I'in, leptinin, BMI'nin ve diğer parametrelerin etkisinden bağımsız olarak dolaşımdaki adiponektin seviyeleriyle meme kanseri arasında güçlü bir birliktelik saptanmıştır (75). Benzeri bir birliktelik premenopozal kadınlarda gösterilememiştir. Yüksek serum adiponektin seviyeli hastalarla karşılaştırıldığında hem postmenopozal hem de premenopozal kadınlarda düşük serum adiponektin seviyeleriyle

artmış meme kanseri riski arasında bir birliktelik gösterilmiştir (76). Ayrıca, orta ve yüksek adiponektin seviyeleriyle karşılaştırıldığında düşük serum adiponektin seviyeli hastalarda histolojik evresi yüksek büyük tümörler daha yüksek frekansta görülmektedir.

➤ **Adiponektin ve mide kanseri**

Gastrik kanserli özellikle üst gastrik kanserli hastalarda sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında düşük serum adiponektin seviyeleri saptanmıştır (77).

2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Tekniği (PCR)

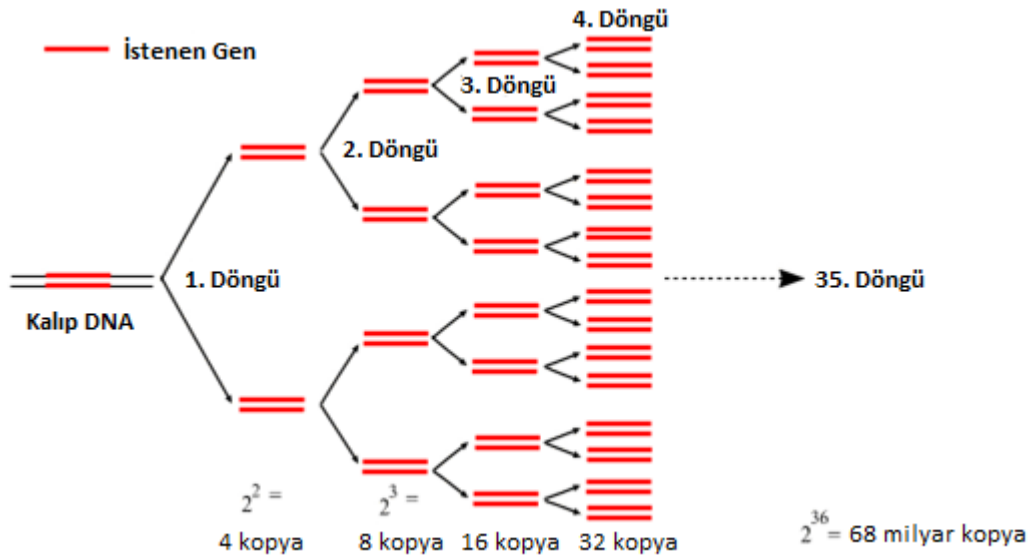
Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction: PCR), spesifik bir DNA parçasının primerler tarafından yönlendirilerek enzimatik olarak çoğaltılmasına dayalı in vitro bir yöntemdir. Çoğaltılmak istenen DNA bölgesinin iki ucuna özgü, bu bölgedeki baz dizilerinin komplementeri olan bir çift sentetik oligonükleotid (primer) kullanılarak sınırlandırılan genin enzimatik olarak sentezlenmesi temeline dayanır (78). PCR reaksiyonlarında DNA'nın iki zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılmasını (denatürasyon) daha sonra sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanmasını (annealing) ve zincirin uzamasını (extension) kapsayan 3 temel basamak vardır ve çoğaltılmış ürün miktarı, teorik olarak bu üç adımın tekrarlanma sayısına bağlıdır (78, 79).

- ❖ **Denatürasyon Evresi:** Bu evrede çoğaltılmak istenen çift sarmal DNA; sarmalları bir arada tutan hidrojen bağlarını ayırmak üzere ısıyla denatüre edilir. Bu ısı genellikle 94-98 °C arasındadır.
- ❖ **Primerlerin Bağlanması (annealing):** Bu evrede primer adı verilen ve çoğaltılmak istenen DNA için spesifik olan oligonükleotid, ilk evre de elde edilen DNA tek sarmalı üzerinde kendisine komplementer olan nükleotid dizisi ile hibridize (annealing) olur. Bunun için tepkime karışımı, hedeflenen DNA dizisine komplementer oligonükleotid zincirlerin (primerlerin) yapışmasına olanak veren bir ısıya düşürülür. Bu ısıda yaklaşık olarak 37-65°C arasında bir ısıdır. Primerler, orijinal (hedef) DNA sarmalının amplifikasyonunu başlatmak amacıyla kullanılır. Bu nedenle primer (öncü) olarak da adlandırılmışlardır.
- ❖ **Primerlerin Uzatılması (extension) ve Amplifikasyonu:** Bu aşamada Taq DNA polimeraz enzimi 5'→3' yönüne doğru dNTP'leri ekleyerek, primerlerin uzamasını sağlar ve hedef DNA'nın iki zincirli kopyası oluşturulur. Genellikle 70-75 °C

sıcaklıkta gerçekleşen sentez aşamasında 1 dakikada yaklaşık 2 kb uzunluğunda DNA bölgesi sentezlenmektedir.

Daha sonra gerçekleşen son sentez aşaması ise, yaklaşık 5-10 dakika ve 1 döngü şeklinde gerçekleşir. Son sentez aşamasında da yarım kalan zincirlerin sentezi sağlanır. Denatürasyon, yapışma (annealing) ve DNA sentezi döngüsü sonradan birçok kez tekrarlanır. Denatürasyon, annealing ve çift zincirli DNA sentezi aşamalarının tamamı bir PCR döngüsünü oluşturur. Bir döngü 3-5 dakika sürer ve 20-40 kez tekrarlanır. Amplifikasyonun bir döngüsünün ürünleri sonraki döngü için kalıp işlevi gördüğünden her bir başarılı döngü, temel olarak istenilen DNA ürününün miktarını ikiye katlar.

Ardarda tekrarlanan denatürasyon, annealing ve sentez aşamaları ile DNA fragmentleri üssel olarak artar. Bu üssel artışın nedeni, bir döngü sonucu sentezlenen ürünün, ardışık döngüde diğer primerler için kalıp görevi yapmasıdır. Böylece her PCR döngüsü DNA molekülü üzerinde istenilen bölgenin 2 katına çıkması ile sonuçlanır.

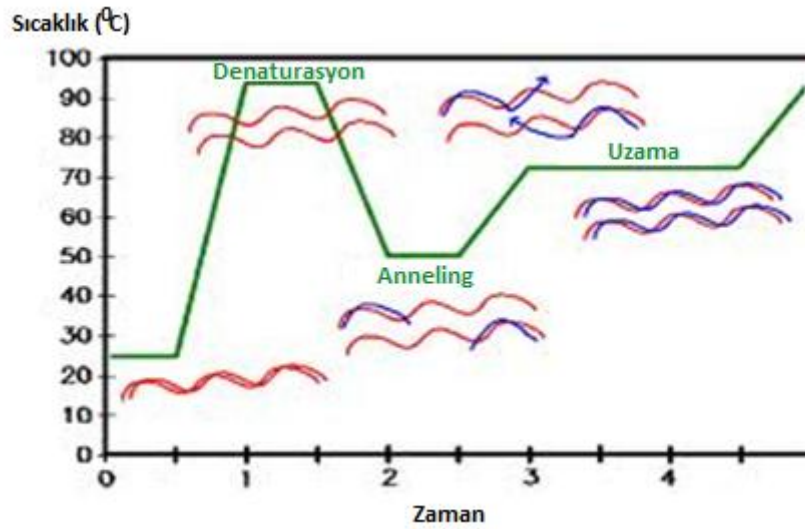


Şekil 2.16. PCR döngüsünün şematik gösterimi.

Termostabil DNA polimerazlar ve farklı sıcaklık derecelerini istenilen süreler için otomatik olarak ayarlayabilen “termal cycler” adı verilen cihazların kullanıma sunulması, PCR’in veriminde ve kullanımında önemli gelişmelere yol açmıştır. Verimli bir PCR için

döngü sayısı, kullanılan sıcaklığın derecesi ve süresinin ayarlanması çok önemlidir. Başlangıç denatürasyonu için genomik DNA gibi kompleks bir yapının açılmasını sağlamak üzere yüksek sıcaklıklar kullanılır. Ancak PCR sırasında genellikle etkin denatürasyon sıcaklığının 92-95°C olduğu saptanmıştır. Denatürasyonun ardından primerin bağlanması aşamasında erime ısısının (melting temperature-T_m) hesaplanması önemlidir.

Primerlerin uzaması aşamasında genellikle Taq/Amplitaq DNA polimerazların polimerizasyon aktivitesi için en uygun sıcaklık derecesi olarak 72 °C kullanılır. Toplam döngü sayısı genellikle 25-40 arasındadır. Döngü sayısının arttırılması halinde istenmeyen ürünler fazlalaşırken, istenen ürünlerde herhangi bir artış meydana gelmez. Bu yüzden 40'dan fazla sayıda döngüden oluşan PCR reaksiyonları genellikle başarılı sonuçlar vermez. Çünkü bu siklus sayısının üzerinde çalışıldığı takdirde DNA polimerazın miktarı azalır. Taq DNA polimerazın yarı ömrü 97.5 °C'de 10 dk; 95 °C'de 40 dk'dır (79). Bu nedenle PCR'ın sonlarına doğru olan sikluslarda aktivitesi sınırlanmaktadır. Ayrıca PCR ortamındaki primerlerin bitmesi, dNTP konsantrasyonu gibi diğer sınırlayıcı etmenler de döngü sayısının ortalama 25-40 olarak tutulmasında belirleyicidir.



Şekil 2.17. PCR aşamalarının gerçekleştiği ortalama sıcaklık değerleri.

2.6.1. PCR'ın Temel Bileşenleri

➤ Kalıp DNA

DNA polimerazın, polimerizasyon reaksiyonunu gerçekleştirebilmesi için ihtiyaç duyduğu yapılardan biride kalıp DNA'dır. PCR'da genomik DNA'lar, plazmid ve faj DNA'ları, çeşitli genler hatta herhangi bir DNA parçası kalıp olarak kullanılabilir. DNA, PCR ortamına tek veya çift zincirli olarak eklenebilir. DNA'nın uzunluğu önemli bir faktör değilse de genomik DNA gibi çok yüksek moleküler ağırlıklı DNA'lar bir restriksiyon enzimi ile kesilirler. PCR içeriği için gerekli olan DNA miktarını ayarlamak her zaman mümkün olmayabilir, o nedenle bunu belirlemek için seri halde DNA konsantrasyonları hazırlanarak en uygun miktar saptanabilir. Bir restriksiyon enzimi ile kesilirler. PCR içeriği için gerekli olan DNA miktarını ayarlamak her zaman mümkün olmayabilir, o nedenle bunu belirlemek için seri halde DNA konsantrasyonları hazırlanarak en uygun miktar saptanabilir.

➤ DNA polimeraz enzimleri

DNA polimeraz enzimleri, kalıp ipliğe komplementer bir DNA ipliği oluşturmak üzere, orijinal kalıp iplikteki baz bilgisini kullanarak, dNTP'lerden uzun polinükleotid zincirin sentezini katalizlerler. Bu enzimler, sentezi başlatmak için kalıp moleküldeki tamamlayıcı diziye bağlanan kısa DNA parçalarına (primer) ihtiyaç duyarlar. Sentezin yönü 5' uçtan 3' uca doğru olup, primerin serbest 3' hidroksil ucuna ortamdaki dNTP'lerin nükleofilik etki yapmaları ile, fosfodiester bağlarının katalizi ve yeni DNA ipliğinin polimerizasyonunu sağlar.

Termostabil enzimlerden en yaygın olarak kullanılanı, *Thermus aquaticus*'dan elde edilen **Taq DNA Polimeraz**'dır. Bunun dışında *Thermus aquaticus*'dan **Amplitaq**, *Thermus flavis*'den Hot Tub ve Protase, *Thermus thermophilus*'dan **Tth**, *Pyrococcus furiosus*'dan **Pfu** gibi diğer termostabil enzimlerde kullanılmaktadır. Taq DNA polimerazın bazı enzimatik özellikleri arasında optimum sıcaklıkta (70-80°C) saniyede 35-100 nükleotidin polimerizasyonunu yapması ve 5'→3' eksonükleaz aktivitesine sahip olması sayılabilir (51).

➤ Primerler

Oligonükleotid primerler, primer sentezi yapan laboratuarlardan ya da ticari olarak elde edilebilirler. Gen çoğaltılması dahil PCR'nın bir çok uygulaması için kalıp DNA'ya tamamen komplementer olan primerlere gereksinim vardır. Genel olarak kalıp ile yüksek oranda

bağlanma sağlamak üzere primerler 20-30 nükleotid uzunluğundadır (78, 79). PCR ortamındaki primer konsantrasyonu PCR'in verimliliği açısından çok önemlidir. Yüksek konsantrasyonda olmaları halinde istenen hedef DNA dizisi dışındaki bölgelerde de çoğalmaya başlarlar. Bu da ortamda istenmeyen ürünlerin birikmesine neden olur. Primer derişiminin gerekenden az olması halinde ise istenilenden çok daha az miktarda ürün elde edilir yani PCR'in verimi düşer. Primer tasarımı yapılırken çoğaltılması istenen DNA dizisinin iki ucundaki dizisi bilinen kısımlar dikkate alınır. Bu bölgelere komplementer olan primerler tasarlanır.

➤ **Deoksiribonükleotid Trifosfatlar (dNTP)**

Deoksiribonükleotid trifosfatlar dATP, dGTP, dTTP ve dCTP olmak üzere 4 çeşittir. Bunlar yüksek saflıkta ya tek tek ya da dörütlü karışım halinde (dNTP mix) ticari olarak elde edilebilirler. Taq DNA polimeraz düşük dNTP konsantrasyonlarında kalıp zincire uygun bazları seçmede daha başarılıdır. Ayrıca, her bir dNTP'nin birbirine eşit konsantrasyonda olması, yanlış birleşmeleri engellemek açısından oldukça önemlidir. Düşük dNTP derişimleri, hedef olmayan bölgelerde hatalı kullanımı en aza düşürür ve hatalı birleşmiş nükleotidlerin uzama olasılığını azaltır. Bu nedenle PCR'in özgülüğü ve verimi düşük dNTP derişimi kullanılarak arttırılır.

➤ **PCR Tamponu (PCR bufer)**

Genellikle kullanılan PCR tamponları, 10mM Tris-HCl ve 50mM KCl içeren tampondur. KCl'nin 50mM kadar olan derişimi primer yapışmasını kolaylaştırdığı için tepkime karışımına eklenebilmektedir. Fakat fazla miktarda kullanılırsa, Taq DNA polimerazın etkisini engellemektedir. Dimetilsülfoksit (DMSO), PCR'in verimliliğini arttırır ancak %10'luk DMSO'nun Taq DNA polimerazın etkisini %50 oranında azaltması nedeniyle, kullanımı aynı tepkimede birdaen fazla dizi amplifiye eden protokoller dışında önerilmemektedir.

İçeriğinde uygun derişimlerde Mg^{+2} iyonu bulunan tamponlar bulunmakla birlikte genellikle PCR ortamına ayrıca eklenmektedir. Mg^{+2} iyonları dNTP'ler ile çözülebilir kompleksler oluştururlar, polimeraz aktivitesini stimüle ederler ve primer-kalıp etkileşimini sağlarlar. Bu nedenle Mg^{+2} 'un PCR'in özgülüğü ve ürün verimi üzerinde çok önemli bir etkisi vardır. Genellikle optimum konsantrasyonu olarak 1-1.5 mM'lık değerler tercih edilir. Düşük konsantrasyonu ürün oluşumunda azalmaya, yüksek konsantrasyonu ise spesifik

olmayan ürün birikimine yol açar. PCR'da Mg^{+2} içeren tamponlar kullanılıyor ise ayrıca Mg^{+2} eklenmesine gerek yoktur (79). Bir PCR reaksiyonu için optimum koşulların sağlanması özgül ve verimli bir reaksiyon için gereklidir. Ancak her zaman maksimum özgüllük için hazırlanan bu optimum koşullar yüksek verimle sonuçlanmayabilir. Bu durum PCR verimini olumsuz yönde etkileyecek koşulların bulunmasından kaynaklanır. Bu koşullar:

- ❖ Ortamda RNA düzeyinin yüksek olması.
- ❖ EDTA'nın ortamda yüksek konsantrasyonda bulunması (EDTA'nın Mg^{+2} 'ye bağlanma özelliği vardır).
- ❖ Ortamda heparin olması
- ❖ Ortamda fenol kalıntısının olması.
- ❖ DMSO'nun ortamda %10 konsantrasyonda olması.

2.6.2. PCR'ın Kullanım Alanları

PCR, 1980'li yıllarda geliştirilmesine rağmen genetik ve moleküler biyolojide en çok kullanılan teknik olmuştur. PCR, klonlama, dizi analizi ve DNA haritalaması gibi temel moleküler biyoloji araştırmalarında ve orak hücre anemisi, kistik fibrozis, fragil X sendromu, lösemi gibi birçok hastalığın DNA temeline dayalı tanısı için de klinik tıpta kullanılmaya başlanmıştır. PCR ile insan genomik DNA'sı gibi kompleks DNA'lardan spesifik DNA dizilerinin sentezinin kısa sürede gerçekleştirilmesi, bu teknolojinin yaygınlaşmasında başlıca neden olmuştur. PCR'ın başlıca kullanım alanları şöyle sıralanabilir:

- ❖ Adli tıp örneklerinin tiplendirilmesi (ana-baba tayini)
- ❖ Kalıtsal hastalıklarda taşıyıcı ve hastanın tanısı.
- ❖ Prob hazırlama, klonlama ve gen ekspresyon araştırmalarında.
- ❖ Prenatal tanı.
- ❖ Allelik dizi varyasyonlarının gösterilmesi ile doku transplantasyonu için doku tipinin belirlenmesi.
- ❖ Mutasyon analizlerinde
- ❖ Dizi analizi için büyük miktarlarda DNA'ların elde edilmesinde.
- ❖ Küçük miktarda mRNA'dan cDNA kütüphanelerinin oluşturulmasında.
- ❖ Evolüsyon araştırmalarında doğadaki çeşitli canlı türlerinin tanısı ve türler arasındaki polimorfizmlerin belirlenmesinde.

2.7. Elektroforez Tekniği

Elektroforez, sulu bir çözeltili içinde süspansiyeye yada çözünmüş küçük elektrik yüklü parçacıkların uygulana bir elektrik alanının etkisi ile göç etme sürecidir. Temelde, elektriksel alanda çözünmüş durumdaki moleküllerin elektrik yüklerinin, kütlelerine oranıyla belirlenen hızda göç etmeleri prensibine dayanmaktadır.

Nükleik asit, polisakkarit ve protein gibi biyolojik makromoleküller değişik çözeltiler içerisinde partikül büyüklüğüne bağlı olarak dağılma özelliğine sahiptirler. Bu, tamamen moleküllerin sahip oldukları elektriksel yükleri ile ilgili bir harekettir. Bu nedenle asidik, bazik ve nötral ortamlarda davranış farklılığı ortaya çıkar. Herhangi bir partikülün sahip olduğu net elektriksel yük öncelikle ortamın sahip olduğu H⁺ iyon konsantrasyonu ile belirlenir. Bu da iyonlar ya da diğer makromoleküllerin birbirleriyle etkileşime girmesi ile veya farklılaşmasıyla ortaya çıkartılabilir. Moleküller, sahip oldukları elektriksel yük nedeniyle bir elektriksel alan içerisine bırakılırlarsa ya anoda (+ kutup) ya da katoda (- kutup) doğru hareket ederler. Bu hareket sahip oldukları elektriksel yükün tersi yönünde gerçekleşir. Yani molekülün dış yüzeyinde (+) yük varsa molekül katoda doğru, (-) yük varsa molekül anoda doğru hareket eder. Bu olay belirli bir yük dağılımı olan tampon içerisinde gerçekleştiğinden ve olaylarda elektrik kullanıldığından bu işleme kısaca elektroforez (elektrikle göç) adı verilmektedir.

Ayırma ortamı olarak genellikle, kağıt, selüloz asetat, nişasta, agaroz ve poliakrilamid kullanılır. Uygulama alanları ise çeşitli serum proteinleri, zar proteinleri, sitoplazmik proteinler, enzimler ve nükleik asit gibi makromoleküllerdir. Kağıt elektroforezi ile serum proteinleri ve bir çok enzimin ayrımı yapılmaktadır. Kağıt elektroforezi lipoproteinler, glikoproteinler ve aminoasitlerin ayrımı için de kullanılmakla birlikte günümüzde artık bu işlevi yerine getiren daha gelişmiş elektroforez teknikleri tercih edilmektedir.

Selüloz asetat elektroforezi tamamiyle homojen olması, proteinleri minimum miktarda absorbe ederek daha kesin sınırlı bantlar elde etmeye olanak tanınması ve seperasyonun hızlı olması nedeniyle kağıt elektroforezinden daha avantajlıdır. Nişasta jel elektroforezi hemen hemen sadece enzim analizi için tercih edilir. Agar ve agaroz elektroforezi, ağırlıklı olarak nükleik asit ve protein analizi için kullanılır. Diğer elektroforezlere göre nispeten daha kolay uygulanması nedeni ile en fazla tercih edilen ayırma ortamıdır. Agar ve agarozun protein

analizi açısından en fazla tercih edildiği kullanım alanı iki boyutlu immuno elektroforez uygulamalarıdır. Bu uygulamalarda antijen-antikor arasındaki etkileşime bakılarak miktar tayini yapılabilmektedir. Nükleik asitlerin analizi için kullanılan bir diğer elektroforez türü de poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE)'dir. Jelin hazırlanışı ve elektroforezi agaroz jele oranla daha zor olmakla birlikte sonuçta kaliteli ve kesin fragmentler elde edilmesi bakımında tercih edilen bir elektroforez türüdür.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Kolorektal kanser hastaları ile Kontrol gruplarının polimorfik genotip oranları arasında 20 birimlik bir farklılığın (etki büyüklüğü 20) tespit edilebilmesi amacıyla %5 I. Tip hata ve %80 güç (II. Tip hata 0,20) koşulları altında gerekli minimum örneklem genişliği her grupta 100 birey olarak hesaplandı. Güç analizi MedCalc v.10.1.6 paket programı ile yapıldı. Çalışmamızın Deney grubu; Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı – Kolorektal Cerrahi kliniğinde Kolorektal Kanser tanısı konmuş 129 bireyden oluşturuldu. Kontrol grubu ise deney grubu ile benzer yaş ve cinsiyet özellikleri göz önünde tutularak 137 sağlıklı bireylerden oluşturuldu. Deney ve Kontrol grubuna ait bireylerden alınan kan örneklerinin moleküler analizi ise birimize bağlı moleküler genetik laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmamızda hasta grubu oluşturulmadan önce Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan (07.09.2009 tarih ve 2009/01 sayılı karar) onay alındı.

Çalışmada, hasta ve kontrol gruplarını oluşturan bireylere bilgi verilerek çalışma öncesi yazılı ve sözlü onamları alındı ve yaş, cinsiyet ve diğer risk faktörleri ile ilgili bilgileri içeren bilgi formları dolduruldu. Hasta ve kontrol gruplarını oluşturan bireylerden DNA izolasyonu için 7-8 ml venöz kan 1 ml % 2'lik etilendimetiltetraasetik asit (EDTA) içeren, 15 ml'lik santrifüj tüplerine konuldu. DNA izolasyonuna kadar -20 °C de saklandı. DNA izolasyonu High Pure PCR Template Preparation Kit ile yapıldı. Elde edilen DNA'lardan T/G 2241766ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) ve A/G 2275738ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmlerine ait gen bölgeleri PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemi ile amplifiye edildikten sonra Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yöntemi uygulandı. Elde edilen PCR/RFLP ürünleri elektroforez ile görüntüledikten sonra saptanan polimorfizm verileri istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

- ❖ Termal Cycler (Techne Progene, Cambridge, UK)
- ❖ Elektroforez Tankı (Midicell EC-350)
- ❖ Elektroforez Güç Kaynağı (EC-135-90)
- ❖ Jel Görüntüleme Sistemi (Vilber Lourmat Marne La Vallee, France)

- ❖ Mikrosantrifüj (Hermle, Z160M)
- ❖ Santrifüj (Nüve NF-800)
- ❖ Etüv (Nüve EN-500)
- ❖ Otoklav (Nüve OT 4060 V)
- ❖ Vorteks (VELP)
 - ❖ Hassas Terazî (AND)
 - ❖ Mikropipet Seti (Eppendorf)
 - ❖ Elektromanyetik Karıştırıcı (Nüve MK-418)
 - ❖ Mikrodalga Fırın (Alaska)
 - ❖ Derin Dondurucu (Arçelik-2031D)
 - ❖ Buzdolabı (Arçelik-8188 NF)

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- ❖ EDTA (Sigma E-5134)
- ❖ Tris-Hidroklorid (Sigma T-7149)
- ❖ Tris Base (Sigma T-6066)
- ❖ Borik Asit (Carlo Erba 302177)
- ❖ Ethidyum Bromide (Sigma E-1510)
- ❖ Orange G (Sigma O-3756)
- ❖ Gliserol (Merck 4091)
- ❖ Etanol (Riedel-de Haen 32221)
- ❖ Agaroî (LE Prone Basica 051342 PR)
- ❖ Taq DNA Polimeraz (MBI Fermentas EP 0402)
- ❖ Proteinaz K (MBI Fermentas E00491)
- ❖ Gene Ruler 50bp DNA Ladder (MBI Fermentas SM0371)
- ❖ 2 mM dNTPmix (MBI Fermentas R0242)
- ❖ 10X PCR Buffer with (NH₄)₂SO₄ (MBI Fermentas #B33)
- ❖ Bidistile Su (Sigma W-3500)
- ❖ SmaI 1200U(MBI Fermentas ER0661)
- ❖ RseI (MsII) 200U(MBI Fermentas ER2001)
- ❖ Primerler: T/G rs2241766ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) polimorfizmi için;

F: AGACTCTGCTGGATGGACGGAGTCC

R:CCCCAAATCACTTCAGGTTGCTTATGG

A/G rs2275738ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmi için;

F: TTTGTGGGAAGACTCTGGCTGGT

R:TTAGTGAGGTTCTGGGTAAAGGTTGACATT

3.1.3. Kullanılan Tampon Çözeltiler

3.1.3.1. Elektroforez İçin Kullanılan Çözeltiler

10XTBE (Tris-Borat-EDTA) Tamponu

➤ Tris Base.....108 gr

➤ Borik asit54.8 gr

➤ EDTA.....5.44 gr

Distile su ile 1lt'ye tamamlanarak çözüldü.

Elektroforez Yürütme Tamponu

10X TBE tamponundan distile su ile seyreltilerek hazırlanmış olan 1X TBE içerisine 0.5 µg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde etidyum bromid (EtBr) konularak hazırlandı.

Orange G çözeltisi

➤ Na₂ EDTA.....2.232 gr

➤ Orange G.....200 mg

60 ml Gliserol ve 40 ml distile sudan oluşan solüsyon içerisinde çözüldü.

% 2'lik Agaroz Jel Çözeltisi

300 ml 1X TBE tamponu içerisinde 6 gr agaroz (Agarose plus) mikrodalga fırında eritildikten sonra 0.5 µg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde EtBr eklenerek hazırlandı.

3.2. Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışmaya, hasta grubu olarak KRK teşhisi konmuş 129 hasta birey ve kontrol grubu olarak 137 sağlıklı birey olmak üzere toplam 266 bireyden alınan kan örnekleri dahil edildi.

Hem hasta hem de kontrol grubunu oluşturan bireylere ait bilgiler etik kurallara uygun olarak hazırlanan anket formları kullanılarak alındı. Çalışmaya dahil olmayı kabul eden her

biyeyin bilgilendirilmiş onamı alındıktan sonra 4-5 ml periferik kan alınarak 1 ml, % 2'lik EDTA içeren 15 ml'lik santrifüj tüplerine konuldu.

3.3. ADIPOQ Geninde Ekzon2 Bölgesindeki (+45, Kodon 15 T/G) Gen Polimorfizmi İle ADIPOR1 Geninde İntron 1 Bölgesindeki (-106 A/G) Gen Polimorfizminin Belirlenmesi

3.3.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, DNA ile ilgili yapılan moleküler analizlerin ilk basamağını oluşturur. İnsan genomik DNA'sının ekstraksiyon, izolasyon ve pürifikasyonuna ilişkin çok çeşitli protokoller geliştirilmiştir. Bu çalışmada kit ile izolasyon yöntemi kullanılmıştır. DNA izolasyonu temelde 2 aşamadan meydana gelir.

1. Hücre Membranının Parçalanması: Nükleustaki DNA'ya ulaşmak için hücre duvarının parçalanması gerekmektedir. Parçalama fiziksel ve kimyasal yollarla yapılabilir. Fiziksel olarak ısıtılan hücreler aynı zamanda kimyasal karışımlara tabi tutularak hücre membranının parçalanması sağlanır. Bu kimyasal karışım içinde bulunan tuz, membrandan geçerek proteinleri DNA'dan ayırır. Deterjan ise membranın geçirgenliğini arttırarak hücre içeriğinin serbest kalmasını sağlar. EDTA magnezyumu bağlayarak DNaz aktivitesini inhibe eder ve DNA stabil halde kalabilir. Proteolitik enzimler ise hücrenin protein içeriğini parçalayarak, sonraki aşamalar açısından homojen bir karışım oluşmasını sağlamaktadırlar. Hücre içinde bulunan RNA'lar tek iplikçik halde stabil olabildiklerinden onların da ortamdan uzaklaştırılması gerekir ve bunun için de RNaz enzimi kullanılır.

2. DNA-Protein Kompleksinin Çözülmesi ve Diğer Moleküllerden Ayrılması: Bu yöntem genellikle denatürasyona dayanır. Ancak günümüzde DNA'yı tutma özellikli spin kolonları kullanılmaya başlanmıştır. Denatürasyona dayalı kimyasal çözülmeye çoğunlukla fenol ekstraksiyonu işlemi kullanılır. Fenol ile proteinler ve DNA fragmanları birbirinden ayrılır ve uzaklaşmaları sağlanır. Spin kolonlarının kullandığı fiziksel çözülmeye ise, özel solüsyonlar ile DNA'nın tüpler içine özel olarak yerleştirilen matriks tabakasına tutunması sağlanır. Aynı aşamada DNA haricindeki moleküller matrikse tutunamadığı için ortamdan uzaklaşır. Spin kolonlar belirli solüsyonlar ile yine DNA harici maddelerin tamamen uzaklaşması için "yıkama" denilen işleme tabi tutulurlar. Son aşamada ise DNA ile matriksi

birbirinden elimine eden solüsyonların kullanıldığı “Elüsyon” aşaması vardır ve bu aşama ile birlikte DNA son halini almaktadır.

DNA İzolasyonunda İzlenen Yol

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubuna ait bireylerden alınan 4-5 ml periferik kan, üzerinde her birey için özel protokol numarası kaydedilen ve içerisinde 1 ml EDTA bulunan 15 ml’lik plastik tüplerde -20 °C’de saklandı. 1,5ml’lik steril santrifüj tüplerine her bireye ait özel protokol numaraları kaydedilerek içlerine 200µl periferik kan örneği pipetlendi. DNA izolasyonu için aşağıda sıralanan yöntem uygulandı:

- 1- Steril santrifüj tüpü içerisine pipetlenen 200 µl periferik kan üzerine 400 µl Lysis Solüsyonu ve 20µl Proteinaz K Solüsyonu eklendi, dikkatlice vortekslenerek karışması sağlandı,
- 2- Örnekler su banyosunda 56 °C’de 10 dakika inkübasyona bırakıldı,
- 3- İnkübasyonu tamamlanan örneklerin üzerine 200 µl % 96’lık etanol eklendi ve vortekslenerek karıştırıldı,
- 4- Hazırlanan karışım 2 ml’lik toplama tüpüne yerleştirilmiş kolona aktarıldı ve 8000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi, toplama tüpü atılarak kolon yeni toplama tüpüne yerleştirildi,
- 5- Kolon üzerine 500 µl Wash Buffer I pipetlendi ve 8000 rpm’de 1dk santrifüj edildi, toplama tüpündeki sıvı boşaltılarak kolon tekrar yerleştirildi,
- 6- Kolon üzerine 500 µl Wash Buffer II pipetlendi ve maksimum hızda (>12000rpm) 3 dk santrifüj edildi, toplama tüpü atılarak kolon 1,5 ml’lik steril saklama tüpüne yerleştirildi,
- 7- Kolon üzerine 200 µl Elution Buffer pipetlendi 2 dk oda ısısında bekletildikten sonra 8000 rpm’de 1dk santrifüj edildi,
- 8- Kolon atıldı ve elde edilen DNA +4 °C’de saklandı.

3.3.2. ADIPOQ geninin exon 2 (+45,kodon 15) bölgesi İle ADIPOR1 geninin intron 1 (-106) bölgesinin özgül primerlerle amplifikasyonu

PCR, tek bir molekül DNA'yı dahi çoğaltabileceğinden, reaksiyon karışımlarının DNA molekülleri ile kontamine olmasının engellenmesi gerekmektedir. Bu kontaminasyon, daha önceki PCR reaksiyonu, eksojen DNA veya diğer hücrel materyallerden kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle, kullanılan sarf malzemeleri ve solüsyonların steril olmasına dikkat edildi. Ayrıca PCR reaksiyonunda, ısı iletiminden kaynaklanabilecek sorunların en az düzeye indirilmesi için, ince duvarlı DNAase ve RNAase enzimlerinden arındırılmış steril 0,5 ml'lik PCR tüpleri (Axygen Thin-Walled PCR Tubes), reaksiyonun gerçekleştirilmesi için Thermal Cycler cihazı ve 0,5-10 µl'lik, 2-20 µl'lik ve 10-100 µl'lik 100-1000 µl'lik otomatik pipetler kullanıldı.

ADIPOQ geninde ekzon2 bölgesindeki (+45, kodon 15 T/G) gen polimorfizmi ile ADIPOR1 geninde intron 1 bölgesindeki (-106 G/A) gen polimorfizmi ayrı ayrı değerlendirildi. PCR ortamı 1500 µl'lik steril ependorf tüpünde hazırlandı. Herbir örnek için PCR karışımı aşağıdaki gibi hazırlandı:

Bidistile su	14.3µl
10X PCR Buffer	
[(NH ₄) ₂ SO ₄ MgCl ₂]	2.1 µl
2 mM dNTPmix	2.1µl
Primer (F)	0,3µl
Primer (R)	0,3µl
MgCl ₂	1,25µl
DMSO	1,25µl
Taq DNA Polimeraz	0,4µl
Kalıp DNA	3µl
Toplam Reaksiyon Karışımı	25µl

ADIPOQ geninde ekzon2 bölgesi ile ADIPOR1 geninde intron 1 bölgesinin PCR'ı için kullanılan primer dizileri aşağıda verilmektedir:

T/G rs2241766 ADIPOQ exon2 (+45,codon 15):

F:AGACTCTGCTGGATGGACGGAGTC

R:CCCCAAATCACTTCAGGTTGCTTATGG

A/G rs2275738 ADIPOR1 intron 1 (-106):

F: TTTGTGGGAAGACTCTGGCTGGT

R:TTAGTGAGGTTCTGGGTAAAGGTTGACATT

ADIPOQ geninin amplifiye edilen ekzon2 bölgesinin (466bp) baz dizisi ve primerlerin yerleşimi şekil 3.1’de, ADIPOR1 geninin amplifiye edilen intron 1 bölgesinin (300bp) baz dizisi ve primerlerin yerleşimi şekil 3.2’de verilmektedir.

```
GGATGGATTCTTGGCAAGTCGACTCTTGGAGCTTCCCTGTGCTTGGTCCTGTGCT
CAGACATGGGAAAATTAGAGGAGTGTGCATCTGTGCAATCACTGAATTCATAATCT
TGGTGAGGAAAGGAGACTACACACAGGGAATAATGCTAAGTATTACAGATTTCA
GGGCAGAAAGAGATCAAGGTGGGCTGCAATATTCAGAAAAGTCTTCCTGGAAAA
GTTGAATACTTAGAAAGCAGCTCCTAGAAGTAGACTCTGCTGAGATGGACGGAGT
CCTTTGTAGGTCCCAACTGGGTGTGTGTGTGGGGTCTGTCTCTCCATGGCTGACAG
TGCACATGTGGATTCCAGGGCTCAGGATGCTGTTGCTGGGAGCTGTTCTACTGCT
ATTAGCTCTGCCC GGKCATGACCAGGAAACCACGACTCAAGGGCCC GGAGTCCT
GCTTCCCCTGCCCAAGGGGGCCTGCACAGGTTGGATGGCGGGCATCCCAGGGCAT
CCGGGCCATAATGGGGCCCCAGGCCGTGATGGCAGAGATGGCACCCCTGGTGAG
AAGGGTGAGAAAGGAGATCCAGGTAAGAATGTTTCTGGCCTCTTTCATCACAGAC
CTCCTACACTGATATAAACTATATGAAGGCATTCATTATTA ACTAAGGCCTAGAC
ACAGGGAGAAAGCAAAGCTTTTTTATGTTAACCATAAGCAACCTGAAGTGATTTG
GGGTTGGTCTTCCAAGGATGAGTGTAGATGGTGCCTCTATAACCAAGACTTTGGC
TTTGCTGCATCTGCAGCTCCTTTTCCATCCCCT
```

Şekil 3.1 T/G rs2241766 ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) polimorfizmi için çoğaltılan bölgenin dizisi. Smal kesim enziminin diziyi tanıdığı bölge **K** harfi ile gösterilmektedir.

```
TTACTTTGGGTGGGTTGGCGATTACCCGTTTGCCCTTCTCTTCTAGCAGGGGTCCC
AGTTCAGCCAGTTCCACCGTGTCAGCTTCCCTGTTACTGGCAGGAGCCCCATTCCC
CTGTGCCACCACAGATCCTTTGTGGGAAGACATCTGGCTGGTACCTCAATACCCT
GCAGCTTCAGCTTGGGGAAAGGTTGGGGTCTCTCAGCCCCAGGGGGCAGAGATCT
CCCTCTGATGGTAGACACTAAAAGAAAAKACAAACATGAAGGATTGACAATTTA
TTCCTCTTACAGTTTCATTTCTATACTCTAATACTGAATAAGAAGCTAATCAACTC
ATATCCTGTCCCCAATTCTAAAGGCCAGTTAATTGCTTAAATGAAATCTATTCCTG
TCCTCCCTCTTTAATGTCAACCTTTACCCAGAACCTCACTAATCTTATAGGTAAGG
CTGAAAATGTAACACCTAGTTGCTTGCTTTCATATGATCTATGGTTACTGCACCAA
A
```

Şekil 3.2. A/G rs2275738 ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmi için çoğaltılan bölgenin dizisi. SmiMI kesim enziminin diziyi tanıdığı bölge **K** harfi ile gösterilmektedir.

ADIPOR1 intron 1 (-106) bölgesi ve ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) bölgelerinin ampifikasyonu için uygulanan PCR yönteminde aşağıdaki prosedür uygulandı.

1. Yukarıda belirtilen miktarlarda ve her bir ekzon için özgül primerler kullanılarak steril bir ependorf tüp içinde hazırlanan PCR karışımı, üzerinde her bireye ait protokol numarası bulunan 0.5 ml'lik steril ependorf tüplerine eşit miktarlarda (22'er µl) konuldu.
2. Her tüpe, ait olduğu bireyin DNA'sından 3µl eklendikten sonra tüpler thermal cycler cihazında (Techne PTC) amplifiye edildi.

Her bir ekzonun amplifikasyonu için uygulanan PCR profilleri aşağıda verilmektedir:
ADIPOR1 intron 1 (-106) bölgesi ve ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) bölgesi için aşağıdaki PCR profili uygulandı.

Bidistile su	14.3µl
10X PCR Buffer	
[(NH ₄) ₂ SO ₄ MgCl ₂]	2.1 µl
2 mM dNTPmix	2.1µl
Primer (F)	0,3µl
Primer (R)	0,3µl
MgCl ₂	1,25µl
DMSO	1,25µl
Taq DNA Polimeraz	0,4µl
Kalıp DNA	3µl
Toplam Reaksiyon Karışımı	25µl

3.3.3. Restriksiyon Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Analizi

A/G rs2275738 ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmin belirlenmesinde SmaI, T/G rs2241766 ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) polimorfizmin belirlenmesinde RseI (MsII) restriksiyon enzimleri kullanıldı. Bu enzimlerin optimum aktivasyon gösterdikleri tamponlar ise sırasıyla SmaI için 1X Buffer Tango [33mM Tris-acetate (pH 7.9), 10mM magnesium acetate, 66mM potasium acetate, 0.1mg/ml BSA], RseI (MsII) için 1X Buffer R [10mM Tris-HCl (pH 8.5), 10mM MgCl₂, 100mM KCL, 0.1mg/ml BSA]

A/G rs2275738 ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmi ve T/G rs2241766 ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) polimorfizmi için hazırlanan kesim reaksiyonu karışımları aşağıda verilmektedir:

A/G rs2275738 ADIPOR1 intron 1 (-106) için RFLP karışımı:

- dH₂O.....9.5 µl
- Buffer Tango.....2.5 µl
- SmaI.....0.3 µl

T/G rs2241766 ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) için RFLP karışımı:

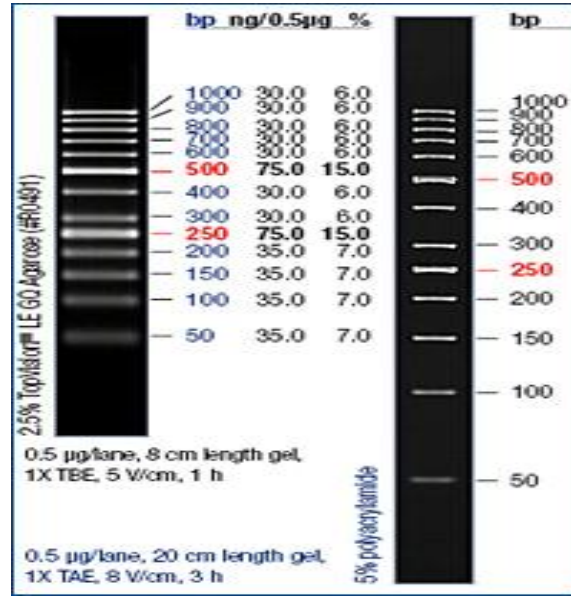
- dH₂O.....9.5 µl
- Buffer R.....2.5 µl
- RseI (MsII).....0.5 µl

Hazırlanan bu reaksiyon karışımı vortekslelendikten sonra 20 örneğe 12'şer µl olacak şekilde bölündü ve kısa süre santrifüjlelendikten sonra, SmaI enzimi ile kesilen örnekler 30°C' de 1-16 saat, RseI (MsII) enzimi ile kesilen örnekler 37°C' de 1-16 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında tüm örnekler % 2'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu ve jel görüntüleme sistemi ile genotipler belirlendi.

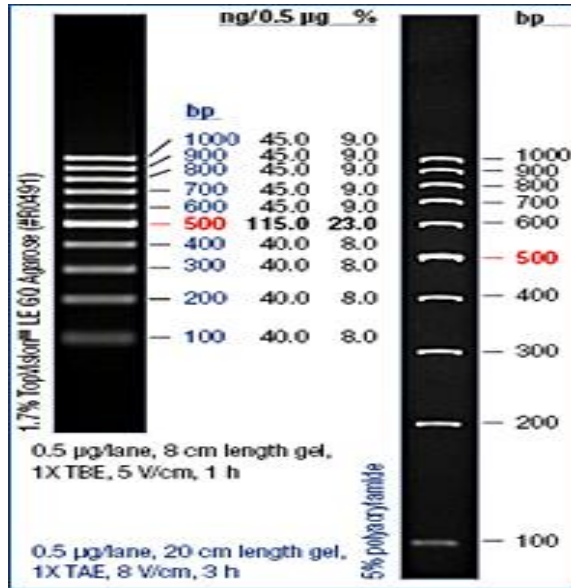
3.3.4. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi ile Görüntülenmesi

Amplifiye edilen ve RFLP uygulanan PCR ürünlerinin uzunluğunu belirlemek için aşağıdaki prosedüre göre hazırlanan agaroz jel elektroforezi uygulandı. Her iki polimorfizm için de 6 g agaroz ve 300 ml 1X TBE solüsyonu bir beher içerisine konulup, mikrodalga fırında homojen hale gelinceye kadar ısıtıldı. Daha sonra elektromanyetik karıştırıcıda yaklaşık 200 dev/dk, 10-15 dk biraz soğuyana kadar karıştırıldı. Karıştırma işlemi devam ederken 27 µl, 10 mg/ml'lik EtBr eklendi. Jel uygun ısıya düşünce, tarakların yerleştirildiği jel tepsinine dikkatlice döküldü. Bu işlem sırasında özellikle jelde hava kabarcığı kalmamasına ve EtBr son derece kanserojen bir madde olduğu için jelin buharıyla mümkün olduğu kadar temas etmemeye dikkat edildi. Jel tamamen katılaştıktan sonra, dikkatlice taraklardan ayrılıp elektroforez tankına yerleştirildi. PCR ile amplifiye edilen örneklerin her birine 10µl Orange-G çözeltisi eklenip birkaç saniye santrifüjde 3500 rpm'de çevrildi.

Bu işlemi takiben her bir örnek bir mikropipet ile elektroforez tankına yerleştirilen jelin kuyucuklarına sırayla bırakıldı. Ayrıca tek bir kuyucuğa da 3µl marker bırakıldı. Elektroforez tankının kapağı kapatılarak elektroforez cihazı, güç kaynağından 120 volt akım geçecek şekilde ayarlandıktan sonra çalıştırıldı ve örnekler yaklaşık 30-40 dk yürütüldü. PCR ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi sırasında, A/G rs2275738 ADIPOR1 intron 1 (-106) bölgesinin belirlenmesi için moleküler ağırlık markerı olarak 3µl, Gene Ruler 50bp DNA Ladder (Fermantas) kullanılırken (Şekil 3.3), T/G rs2241766 ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) bölgesinin belirlenmesi için moleküler ağırlık markerı olarak 3µl, Gene Ruler 100bp DNA Ladder (Fermantas) (Şekil 3.4) kullanıldı.



Şekil 3.3. Gene ruler 50bp DNA ladder



Şekil 3.4. Gene ruler 100bp DNA ladder

3.3.5. Genotiplendirme

PCR ürünlerinin yürütüldüğü elektroforez jeli, jel görüntüleme sisteminde 260 nm dalga boyundaki UV ışıkta görüntülendi. UV ışıkta görünür hale gelen DNA bantlarının büyüklükleri marker ile karşılaştırılarak saptandı

A/G rs2275738 ADIPOR1 intron 1 (-106) bölgesinin polimorfizmi için yapılan elektroforez sonucunda gözlenen bantların uzunlukları 300bp, 175bp, 125bp olarak belirlendi. Aşağıdaki tabloda bant bölgelerinin genotipleri gösterilmektedir (çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. A/G rs2275738 ADIPOR1 intron 1 (-106) bölgesi için görülen genotipler.

ADIPOR1 intron 1(-106)	Homozigot (yabancıl tip)	Heterozigot	Homozigot (Polimorfik tip)
300	GG	-	-
175+125	-	-	AA
300+175+125	-	GA	-

T/G rs2241766 ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) bölgesinin polimorfizmi için yapılan elektroforez sonucunda gözlenen bantların uzunlukları 466bp, 318bp, 148bp olarak belirlendi. Aşağıdaki tabloda bant bölgelerinin genotipleri gösterilmektedir (çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. T/G rs2241766 ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) bölgesi için görülen genotipler.

ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15)	Homozigot (yabancıl tip)	Heterozigot	Homozigot (polimorfik tip)
466	TT	-	-
318+148	-	-	GG
466+318+148	-	TG	-

3.4. İstatistiksel Analizler:

Kolorektal kanser ile adiponektin (ADIPOQ) ve adiponektin reseptör 1 (ADIPOR1) genlerinin polimorfizmleri arasındaki istatistiksel ilişkinin belirlenmesi amacıyla uygulanan istatistiksel testler Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Bilişim Anabilim Dalı'ndan danışmanlık alınarak yapıldı.

Yaş, boy, kilo ve BMI bakımından hasta ve kontrol grupları arasında farklılık olup olmadığı Independent Samples t test ile incelenmiştir. Cinsiyet, aspirin, sigara, alkol kullanımı

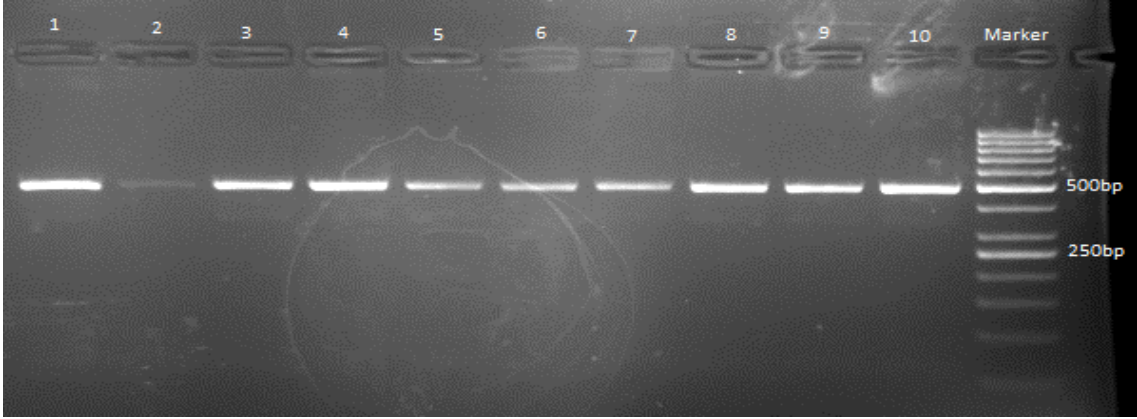
gibi kategorik değişkenlerin hastalık ile ilişkileri çapraz tablo istatistiklerinden ki-kare testi ile analiz edilmiştir. Hastalık ile genotiplerin ve allellerin ilişkileri ki-kare veya Likelihood ratio testi ile incelenmiş ve polimorfik alleleri taşıyan genotipler ve polimorfik alleler için Odds oranları hesaplanmıştır. Sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalama ve standart sapma cinsinden, kategorik değişkenler için ise frekans ve yüzde olarak verilmiştir. İstatistik analizler SPSS v.11.5 paket programı ile yapılmıştır. İstatistik analizlerde $p < 0,05$ ise sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

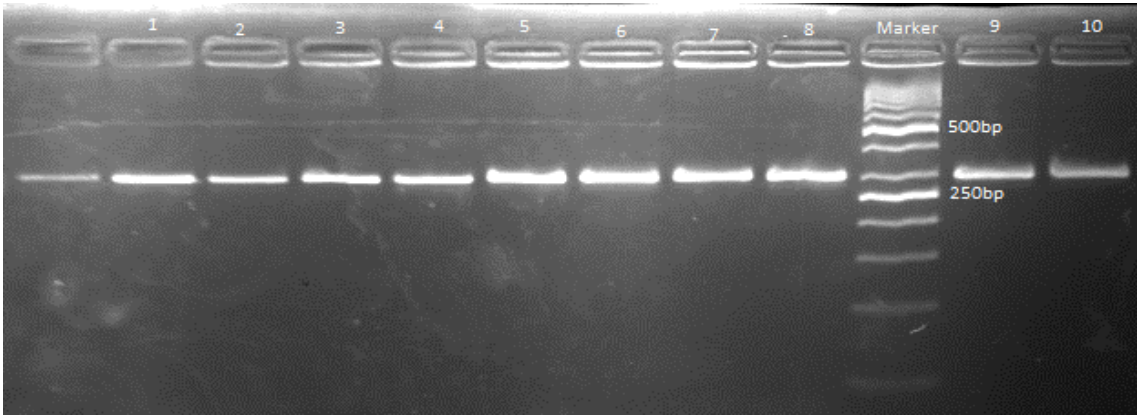
Kolorektal Kanserde Adiponektin (ADIPOQ) ve Adiponektin Reseptör 1 (ADIPOR1) Genlerinin Polimorfizmlerinin araştırıldığı bu çalışmada, deney grubu Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Kolorektal Kliniğinde kolorektal kanser tanısı konmuş yaş ortalaması 55,96 olan 129 bireyden oluşturulurken, araştırma popülasyonunun kontrol grubu, geçmişinde KRK öyküsü olmayan ve yaş ortalaması 54,82 olan 137 bireyden oluşturuldu. Kontrol ve deney gruplarındaki tüm bireyler için ayrı ayrı PCR ve RFLP yöntemleri uygulanarak Adiponektin (ADIPOQ) ve Adiponektin Reseptör 1 (ADIPOR1) genlerine ait bu polimorfizmler allel ve genotip oranları belirlenerek incelemeye alındı.

Adiponektin (ADIPOQ) ve Adiponektin Reseptör 1 (ADIPOR1) Genlerinin Polimorfizmleri araştırılırken 137 kontrol grubu ve 129 KRK'lı olmak üzere toplam 266 kişiden oluşan örnek hacmi kullanıldı ve her bireyin elektroforez sonuçları görüntüleme sisteminde değerlendirildi. 260 nm dalga boyundaki UV ışığı altında görünür hale gelen bantların uzunlukları marker ile karşılaştırıldığında ADIPOQ geninin amplifikasyonu sonucu elde edilen PCR ürünü uzunluğu 466 bp (Şekil 4.1.), ADIPOR1 geninin amplifikasyonu sonucu elde edilen PCR ürününün uzunluğu ise 300 bp olarak belirlendi (Şekil4.2). Elde edilen PCR ürünleri için RFLP yöntemi uygulandı ve ADIPOQ geni için 466 bp hizasında olan örnekler TT alleli; 466, 318, 148 bp hizasında bant veren örnekler TG alleli; 318, 148 bp hizasında bant veren örnekler ise GG alleli olarak değerlendirildi. ADIPOR1 geni için ise 300 bp hizasında olan örnekler GG alleli; 300, 175, 125 bp hizasında olan örnekler GA alleli; 175 bp, 125 bp hizasında olan örnekler ise AA alleli olarak belirlendi. Kolorektal kanserlilerdeki ADIPOQ exon 2 (+45,kodon 15) polimorfizminin genotipik dağılımının agaroz jel elektroforezdeki görüntüsü Şekil 4.3'de verilmiştir. 466 bp hizasında bulunan 1, 2, 4, 5, 6, 7 nolu örnekler ait bant bireylerin TT genotipine; 466, 318 ve 148bp hizasında bulunan 3 nolu örneğe ait bantlar bireylerin TG genotipine; 318 ve 148 bp hizasında bulunan 8 nolu örneğe ait bant ise bireyin GG genotipine sahip olduğunu göstermektedir. ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizminin genotipik dağılımının agaroz jel elektroforezdeki görüntüsü ise şekil 4.4'de verilmiştir. 300 bp hizasında bulunan 1 ve 2 nolu örnekler ait bantlar bireylerin GG genotipine; 300, 175 ve 125 bp hizasında bulunan 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12 nolu örnekler ait

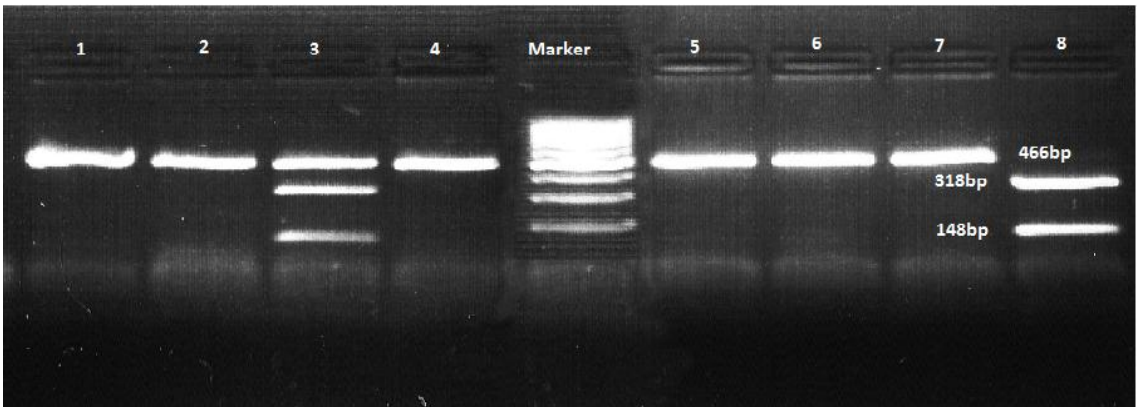
bantlar bireylerin GA genotipine; 175 ve 125 bp hizasında bulunan 7 ve 11 nolu örneklere ait bantlar ise bireyin AA genotipine sahip olduğunu göstermektedir.



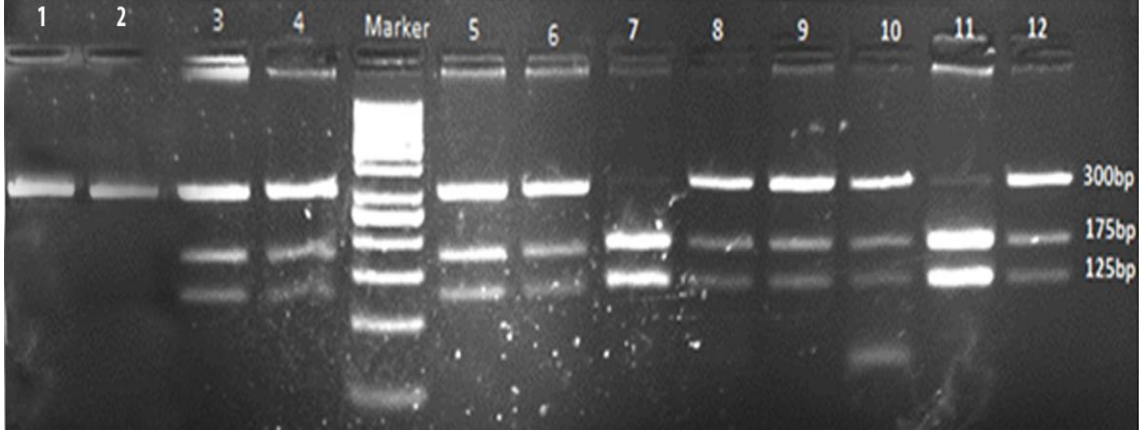
Şekil 4.1. ADIPOQ geninin exon 2 (+45,kodon 15) bölgesinin PCR sonrası elektroforez fotoğrafı (Marker: 50bp).



Şekil 4.2. ADIPOR1geninin intron 1 (-106) bölgesinin PCR sonrası elektroforez fotoğrafı (Marker: 50bp).



Şekil 4.3. ADIPOQ geninin exon 2 (+45,kodon 15) bölgesinin RFLP sonrası elektroforez fotoğrafı (Marker 100bp). 1, 2, 4, 5, 6 ve 7 nolu örnekler TT genotipini, 3 nolu örnek TG genotipini, 8 nolu örnek ise GG genotipini göstermektedir.



Şekil 4.4. ADIPOR1 geninin intron 1 (-106) bölgesinin RFLP sonrası elektroforez fotoğrafı (Marker: 50bp). 1 ve 2 nolu örnekler GG genotipini, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12 nolu örnekler GA genotipini, 7 ve 11 nolu örnekler ise AA genotipini göstermektedir.

4.1. ADIPOQ Exon 2 (+45, Kodon 15) Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Oranlarının Kontrol ve KRK'lı Hasta Gruplarındaki Dağılımı ve KRK İle İlişkisi

ADIPOQ exon 2 (+45, kodon 15) polimorfizmine ait genotip oranları ile kolorektal kanser arasında ilişki olmadığı bulundu ($p=0,246$). Kontrol grubundaki bireyler ile KRK'lı hastalara ait genotip sıklıkları incelendiğinde ise; TT genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 59,1 iken (81 kişi), KRK'lı hastalarda % 52,7 (68 kişi), TG genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda 37,2% iken (51 kişi), KRK'lı hastalarda % 45,7 (59 kişi), GG genotipinin görülme sıklığı ise kontrol grubunda % 3,6 iken (5kişi), KRK'lı hastalarda 1,6% (2 kişi) olarak belirlendi.

Sonuçlar allel sıklığı açısından incelendiğinde yine T ve G alleli görülme sıklığı ile KRK arasında ilişki bulunmadı ($p=0,557$). Yabancıl olan T allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 77,7 iken (213 kişi), KRK'lı hastalarda % 75,6 (195 kişi), polimorfik olan G allelinin görülme sıklığı ise kontrol grubunda % 22,3 iken (61 kişi), KRK'lı hastalarda % 24,4 (63 kişi) olarak belirlendi. Polimorfik olan G alleli ile KRK arasında ilişki bulunmadı ($p= 0,0557$).

Çizelge 4.1. ADIPOQ exon 2 (+45, kodon 15) polimorfizmi allel ve genotip oranlarının kontrol grubu ve KRK'lı hastalar arasındaki dağılımı.

ADIPOQ exon 2 (+45, kodon 15) allelleri	GRUP				p
	KONTROL		KRK'lı HASTA		
	n	n (%)	n	n (%)	
T Allel Frekansı	213	77,7	195	75,6	0,557
G Allel Frekansı	61	22,3	63	24,4	
TT Genotip Frekansı	81	59,1	68	52,7	0,246
TG Genotip Frekansı	51	37,2	59	45,7	
GG Genotip Frekansı	5	3,6	2	1,6	

n: Allel Sayısı

4.2. ADIPOR1 İtron 1 (-106) Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Oranlarının Kontrol Grubu İle KRK'lı Hastalar Arasındaki Dağılımı ve KRK İle İlişkisi

ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmine ait genotip oranları ile KRK arasında ilişki bulunmadı ($p=0,197$). Genotiplerin kontrol ve KRK'lı hasta gruplarındaki dağılımları incelendiğinde ise; GG genotipi kontrol grubunda 42 kişide görülürken (% 30,7), KRK'lı 28 kişide (% 21,7), GA genotipi kontrol grubunda 85 kişide görülürken (% 62,0), KRK'lı 87 kişide (% 67,4), AA genotipi ise kontrol grubunda 10 kişide (% 7,3) görülürken KRK'lı 14 kişide (% 10,9) görüldü.

Aynı polimorfizme ait allel frekansı değerlendirildiğinde; G alleli kontrol grubunda 169 iken (% 61,7), KRK'lı 143 (% 55,4), A alleli ise kontrol grubunda 105 iken (% 38,3), KRK'lı 115 (% 44,6) olarak belirlendi. Polimorfik olan A alleli ile KRK arasında ilişki bulunmadı ($p = 0,144$).

Çizelge 4.2. ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizminin allel ve genotip oranlarının kontrol grubu ve KRK'lı hastalar arasındaki dağılımı.

ADIPOR1 intron 1 (-106) allelleri	GRUP				p
	KONTROL		KRK'lı HASTA		
	n	n (%)	n	n (%)	
G Allel Frekansı	169	61,7	143	55,4	0,144
A Allel Frekansı	105	38,3	115	44,6	
GG Genotip Frekansı	42	30,7	28	21,7	0,197
GA Genotip Frekansı	85	62,0	87	67,4	
AA Genotip Frekansı	10	7,3	14	10,9	

n: Allel Sayısı

4.3. KRK İçin Risk Faktörleri ile Hastalık Arasındaki İlişki

Yaş artışı, cinsiyet, boy, kilo, BMI, sigara ve alkol kullanımı ile ailede kolorektal kanseri öyküsünün KRK'ya yakalanma açısından risk oluşturduğu bilinmektedir. Çalışmamıza dahil edilen KRK'lı hasta ve kontrol grubuna ait bireyler bu risk faktörleri açısından değerlendirildi.

➤ KRK Görülme Oranlarının Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

Kontrol grubundaki toplam 137 birey yaş gruplarına göre miktar ve oransal dağılımı incelendiğinde %17,5'i 40 yaş altında, 21,9%'u 40-49 yaş aralığında, 27,7%'si 50-59 yaş aralığında, 16,8%'i 60-69 yaş aralığında, 16,1%'i 70 yaş ve üzerinde olduğu belirlendi. KRK'lı hasta popülasyonundaki toplam 127 birey için aynı dağılım incelendiğinde ise, %7'sinin 40 yaş altında, %26,4'ünün 40-49 yaş aralığında, %32,6'sının 50-59 yaş aralığında, %18,6'sının 60-69 yaş aralığında ve %15,5'inin ise 70 yaş ve üzerinde oldukları belirlendi.

KRK'lı hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerin yaş gruplarına dağılım oranları birbirine benzer bulundu ($p=0,128$). KRK'lı hastalar kendi içinde yaş gruplarına göre ayrı ayrı birbirileriyle karşılaştırıldığında 40 yaş altında hastalık oranının en düşük, 50-59 yaş aralığında en yüksek olduğu, 60 yaşından sonra ise bu oran giderek azaldığı gözlemlendi ($p<0,05$). Bu bilgiler doğrultusunda KRK'nin görülme sıklığının 40 yaşından sonra hızla arttığı, 50-59 yaş aralığında ise maksimum seviyeye ulaştığı belirlendi. 60 yaşından sonra hastalığın görülme oranının azalarak devam ettiği görüldü (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Yaş gruplarına göre KRK görülme oranları.

			GRUP		p		
			Kontrol	KRK'lı Hasta			
YAŞ	<40	Kişi sayısı	24	9	0,128		
		Yüzde oranları	17,5%	7,0%			
	40-49	Kişi sayısı	30	34			
		Yüzde oranları	21,9%	26,4%			
	50-59	Kişi sayısı	38	42			
		Yüzde oranları	27,7%	32,6%			
	60-69	Kişi sayısı	23	24			
		Yüzde oranları	16,8%	18,6%			
	>=70	Kişi sayısı	22	20			
		Yüzde oranları	16,1%	15,5%			
	Toplam			137		129	

➤ KRK'ya Yakalanma Oranı ile Cinsiyet Arasındaki İlişki

Çalışmaya dahil edilen kontrol grubundaki bireyler ile KRK'lı hastalar cinsiyet açısından değerlendirildiğinde, kontrol grubundaki 137 bireyden 78'inin yani %56,9'unun erkek, 59'unun yani %43,1'inin kadın olduğu, KRK'lı toplam 129 hastanın 84'ünün yani %

65,1'inin erkek, 45'inin yani % 34,9'unun kadın olduğu belirlendi. (Çizelge 4.4). Yapılan değerlendirmede ise KRK'lı hastalarda erkek oranının kadın oranına göre istatistik anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlemlendi ($p=0,001$).

Çizelge 4.4. KRK'nin cinsiyete göre dağılımı.

CİNSİYET	KONTROL (%)	HASTA (%)	p
Erkek	56,9	65,1	0,001
Kadın	43,1	34,9	

KRK'lı hastalarda erkeklerin yaş ortalaması 55,6 iken kadınların yaş ortalaması 56,6 olarak hesaplandı (Çizelge 4.5). Hastaların cinsiyete göre yaş ortalamaları birbirine benzer olduğu belirlendi ($p=0,641$).

Çizelge 4.5. KRK'lı hastalarda cinsiyete göre yaş ortalaması.

CİNSİYET	n	Ortalama	Minimum	Maksimum	p
Erkek	84	55,6	31	85	0,641
Kadın	45	56,6	25	90	

➤ **Boy, kilo ve BMI oranları ile KRK arasındaki ilişki**

Kontrol grubundaki bireylerin boy ortalaması 168,60cm olarak belirlenirken, hastaların ortalama boy uzunluğu 167,2 cm olarak belirlendi. KRK ile boy uzunluğu arasında ilişki bulunmadı ($p=0,474$). Kilo açısından değerlendirme yapıldığında ise, kontrol grubundaki

bireylerin ortalama kiloları 77,2kg olarak belirlenirken, KRK'lı bireylerin ortalama kiloları 73,3kg olarak belirlendi (Çizelge 4.6). Fazla kilolu olmanın bilinenin tersine hastalığa yakalanma riskini azalttığı belirlendi (p=0,024). BMI açısından değerlendirildiğinde kontrol grubunda BMI ortalamasının 26,04, KRK'lı hastalarda ise 27,27 olduğu belirlendi. İki grup arasındaki farklılık istatistik önemli bulundu (p= 0,027).

Çizelge 4.6. Boy, Kilo ve BMI değerlerinin kontrol grubu ve KRK'lı hastalardaki ortalamaları.

		n	Ortalama	Minimum	Maksimum	p
BOY	Kontrol	131	168,6	149	185	0,474
	Hasta	106	167,2	148	183	
KİLO	Kontrol	132	77,2	53	145	0,024
	Hasta	107	73,3	43	105	
BMI	Kontrol	131	27,27	17,96	45,76	0,027
	Hasta	105	26,04	17,30	33,90	

n: Boy, Kilo veya BMI bilgisi veren kişi sayısı.

Kontrol ve KRK'lı hastaların BMI gruplarına dağılımları birbirinden farklılık göstermektedir (p=0,017). Bu farklılığın sadece obez ($\geq 30,01$) grupta ortaya çıktığı (p=0,002), diğer grupların ise birbirine benzer olduğu gözlemlendi (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. BMI değerlerinin KRK'lı hastalar ve kontrol grubundaki dağılımları

BMI	KONTROL (%)	HASTA (%)	P
=< 18,50	0,8	2,9	0,017
18,51-25,00	29,8	32,4	
25,01-30,00	45,0	55,2	
>= 30,01	24,4	9,5	

➤ **Her İki Genin Polimorfizmlerinin, Kontrol ve Hasta Grubundaki Bireylerin Genotip Dağılımları İle BMI Oranları Arasındaki İlişki**

BMI grupları ile ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmine ait genotipler arasında ilişki olmadığı belirlendi (p=0,597). =<18,50 grubunda sadece 4 hasta olduğundan istatistik analize dahil edilemedi (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.8. ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmine ait genotiplerin ile BMI gruplarına dağılımının gösterimi.

BMI	ADIPOR1 GENOTİP ORANLARI (%)				p
	GG	GA	AA	GA+AA	
=<18,50	0	2	4,5	2,3	0,597
18,51-25,00	25	34	27,3	33,1	
25,01-30,00	57,8	46,7	45,5	46,5	
>=30,01	17,2	17,3	22,7	18,0	

BMI grupları ile ADIPOQ exon 2 (+45) polimorfizmine ait genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p=0,990$). $\leq 18,50$ grubunda sadece 4 hasta olduğundan istatistik analize dahil edilemedi.

Çizelge 4.9. ADIPOQ exon 2 (+45) polimorfizmine ait genotiplerin ile BMI gruplarına dağılımının gösterimi.

BMI	ADIPOQ GENOTİP ORANLARI (%)				p
	TT	TG	GG	TG+GG	
$\leq 18,50$	1,5	2,0	0	1,9	0,990
18,51-25,00	31,1	30,3	40,0	30,8	
25,01-30,00	49,2	50,5	40,0	50,0	
$\geq 30,01$	18,2	17,2	20,0	17,3	

➤ Sigara ve Alkol Kullanımı ile KRK Arasındaki İlişki

Kontrol grubundaki bireylerin %42,7'sinin sigara kullandığı, %57,3'ünün ise sigara kullanmadığı, KRK'lı hastaların ise %21,7'sinin sigara kullandığı, %78,3'ünün sigara kullanmadığı belirlendi. Sigara kullanmanın anlamlı derecede KRK'ya yakalanma riskini azalttığı belirlendi ($p=0,007$). Alkol kullanımı ile KRK arasındaki ilişki değerlendirildiğinde ise; kontrol grubuna ait bireylerin %12'si alkol kullanırken, %88'nin kullanmadığı, KRK'lı bireylerin ise %5,1'i alkol kullanırken, %94,9'unun kullanmadığı belirlendi (Çizelge 4.10). Alkol kullanımı ile KRK arasında ilişki olmadığı belirlendi ($p=0,150$).

Çizelge 4.10. Sigara ve alkol kullanımının kontrol grubu ve KRK'lı hastalar arasındaki dağılımı.

	KONTROL (%)	HASTA (%)	P
Sigara	42,7	21,7	0,007
Alkol	12	5,1	0,150

➤ **Ailede KRK Öyküsünün Olması İle KRK'ya Yakalanma Riski Arasındaki İlişki**

Hasta ve kontrol gruplarında aile öyküsü oranları birbirine benzerdir (p=0,775). Hasta grubunda aile öyküsü bildiren 18 kişiden 1 i (% 5,56) KRK öyküsü bildirirken, kontrol grubunda aile öyküsü bildiren 28 kişiden 2 si (% 7,14) KRK öyküsü bildirmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Kontrol grubunda ve KRK'lı hastalarda ailede KRK öyküsünün karşılaştırılması.

	KONTROL(%)	HASTA (%)	P
Ailede KRK Öyküsü	7,14	5,56	0,775

5.TARTIŞMA

ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) ve ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmleri ile kolorektal kanseri riski arasındaki ilişkinin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen bulgular aynı zamanda Mersin kenti özelinde Türk popülasyonuna ait verileri oluşturmaktadır. Bu amaçla, Kontrol grubu ve Kolorektal Kanserlilerden oluşan hasta gruplarına ait bireylerden izole edilen DNA örnekleri PCR-RFLP yöntemleri ile analiz edilerek genotiplendirme yapıldı. Sonuçlar dört ana başlık altında değerlendirildi:

- Kolorektal kanserle ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) ve ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmlerinin örneklemimizdeki frekanslarının belirlenmesi.
- Kolorektal kanserle ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) ve ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmleri arasında ilişkinin bulunup bulunmadığının araştırılması.
- Kolorektal kansere yakalanmada diğer risk faktörlerinden yaş, cinsiyet, boy, kilo, BMI, sigara kullanımı, alkol kullanımı ve ailede kolorektal kanser öyküsünün araştırılması.
- Söz konusu polimorfik alleler ile bireylerin BMI değerleri arasındaki ilişkinin araştırılması.

ADIPOQ exon 2 (+45, kodon 15) polimorfizmine ait allel oranları incelendiğinde, Yabanıl T allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 77,7 (n=213), kolorektal kanserli hastalarda % 75,6 (n=195), polimorfik olan G allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 22,3 (n=61), kolorektal kanserli hastalarda % 24,4 (n=63) olarak belirlendi. ADIPOQ exon 2 (+45, kodon 15) polimorfizmine ait Allel oranları ile kolorektal kanser arasında ilişki olmadığı tespit edildi (p=0,557).

ADIPOQ exon 2 (+45, kodon 15) polimorfizmine ait genotip oranları değerlendirildiğinde ise; Yabanıl TT genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 59,1 (n=81), kolorektal kanserli hastalarda % 52,7 (n=68), heterozigot TG genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 37,2 (n=51), kolorektal kanserli hastalarda % 45,7 (n=59), homozigot polimorfik GG genotipinin görülme sıklığı ise kontrol grubunda % 3,6 (n=5), kolorektal kanserli hastalarda % 1,6 (n=2) olarak belirlendi (TG→p=0,204, GG→p=0,384, TG+GG→p=0,293). ADIPOQ exon 2 (+45, kodon 15) polimorfizme ait Genotip oranlarının kolorektal kansere yakalanma riskini etkilemediği saptandı (p=0,246).

Yapılan yayın taramalarında ADIPOQ exon 2 (+45, kodon 15) polimorfizminin kolorektal kanser ile ilişkisi daha önce Virginia G. Kaklamani ve arkadaşları tarafından Amerikan toplumunda çalışıldığı görülmüştür. Araştırmacılar çalışmaları sonucu 648 kontrol ve 440 hasta değerlendirmişler ve bulgularında TT genotipinin görülme sıklığını kontrol grubunda % 67,13 (n=435), kolorektal kanserli hastalarda % 63,4 (n=279), TG genotipinin görülme sıklığını kontrol grubunda % 26,5 (n=172), kolorektal kanserli hastalarda % 32,04 (n=141), GG genotipinin görülme sıklığını ise kontrol grubunda % 6,3 (n=41), kolorektal kanserli hastalarda % 4,55 (n=20) olarak belirlemişlerdir (82). Sonuç olarak ADIPOQ exon 2 (+45, kodon 15) polimorfizminin kolorektal kanserle ilişkisinin olmadığını belirlemişlerdir (p=0,12).

ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmine ait allel frekansı değerlendirilecek olursa; Yabancı G alleli kontrol grubunda % 61,71 (n=69) görülürken, kolorektal kanserlilerde % 55,41(n=43), Polimorfik A alleli ise kontrol grubunda % 38,3 (n=105) görülürken, kolorektal kanserli % 44,6 (n=115) oranında görüldü. ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmine ait A ve G allel frekansı ile kolorektal kanser arasında ilişki olmadığı belirlendi (0,144). Aynı polimorfizme ait genotiplerin kontrol ve kolorektal kanserli hasta gruplarındaki dağılımları incelendiğinde ise; GG genotipi kontrol grubunda % 30,7 (n=42) görülürken, kolorektal kanserli bireylerde % 21,7 (n=28) , GA genotipi kontrol grubunda % 62,0 (n=85) görülürken, kolorektal kanserlilerde % 67,4 (n=87), AA genotipi ise kontrol grubunda % 7,3 (n=10) görülürken, kolorektal kanserlilerde % 10,9 (n=14) oranında olduğu görüldü. (AA→p=0,123, GA→p=0,136, AA+GA→p=0,099). ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmine ait genotip oranlarının kolorektal kansere yakalanma riskini etkilemediği belirlendi (p=0,197).

ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmi daha önce tip II Diyabet, kardiyovasküler hastalık ve obezite ile ilişkilendirilmiş ancak kolorektal kanserle ilişkisi çalışılmamıştır. Çalışmamız bu polimorfizmin kolorektal kanserle ilişkisini belirlemek amaçlı yapılan ilk çalışmadır. Verilerimiz Mersin örneklemini temelinde Türk Populasyonunda kolorektal kanserle ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizminin ilişkisinin olmadığını ortaya çıkarmıştır. Araştırmanın farklı toplumlarda ve daha fazla sayıda birey üzerinde çalışılarak doğrulanması gerekmektedir.

Kolorektal kansere yakalanmada risk faktörlerinden ileri yaş değerlendirildiğinde; kontrol grubundaki bireylerin yaş ortalaması 54,82, kolorektal kanserli hastaların yaş ortalaması ise 55,96 olarak belirlendi. Hastalarda en genç birey 25 yaşında iken en yaşlı birey

90 yaşındadır. Kolorektal kanser görülme oranlarının yaş gruplarına göre miktar ve oransal dağılımı incelendiğinde, kontrol grubundaki toplam 137 birey yaş gruplarına göre dağılımlarına bakıldığında; 40 yaş altında % 17,5 (n=24) , 40-49 yaş aralığında % 21,9 (n=30), 50-59 yaş aralığında % 27,7 (n=38), 60-69 yaş aralığında % 16,8 (n=23), 70 yaş ve üzerinde % 16,1 (n=22) olduğu belirlendi. Kolorektal kanserli hasta popülasyonundaki toplam 127 birey için aynı dağılım incelendiğinde ise, 40 yaş altında % 7(n=9), 40-49 yaş aralığında % 26,4 (n=34), 50-59 yaş aralığında % 32,6 (n=42), 60-69 yaş aralığında % 18,6 (n=24), 70 yaş ve üzerinde ise % 15,5 (n=20) şeklinde olduğu görülmektedir. Kontrol grubundaki ve kolorektal kanserli hasta grubundaki bireylerin yaş gruplarına dağılım oranları birbirine benzer bulundu (p=0,128). Kolorektal kanser ileri yaşa bağlı olarak artış gösteren bir hastalıktır. Bu bilgiler doğrultusunda kolorektal kanserin 40 yaş civarında görülmeye başladığı, 40-49 yaş aralığında artmaya başladığı, 50-59 yaş aralığında en yüksek düzeye çıktığı ve 60 yaşından sonra bu yüksek seviyenin korunduğu saptandı. Kolorektal kansere yakalanma riski açısından yaş grupları arasındaki bulguları ayrıntılı olarak değerlendirdiğimizde; 40 yaş altına göre kolorektal kanser görülme oranı 40-49 yaş arasında (p=0,001), 50-59 yaş arasında (p=0,001), 60-69 yaş arasında (p=0,001) ve 70 yaş ve üstünde (p=0,009) daha yüksektir.

Kolorektal kanser ile yaş ilişkisi konusunda literatür bulguları incelendiğinde; KRK'in insidansı 40-45 yaşından sonra belirgin olarak ortaya çıktığı, her 10 yılda ikiye katlanarak 75 yaş civarında en yüksek düzeyine ulaştığı görüldü. Hastalığın görülme yaşı birçok kaynakta ortalama 50 civarındadır ve bu yaştan itibaren kişiler kolorektal kanser için tarama testlerine tabii tutulmalıdırlar (83). M. Gürbüz el İstanbul'da yaptığı çalışmada, KRK'lı hastaların ortalama yaşını 61,9, en büyük yaşı 85, en küçük yaşı 27 olarak belirlemiştir (83). Ö. Ç. Yüksel Kayseri'de yaptığı araştırmada KRK'lı hastaların yaş ortalamasını 62,5, en büyük yaşı 73, en küçük yaşı 37 olarak belirlemiştir (84). M. T. Yanmaz İstanbul'da yaptığı çalışmada KRK'lı hastaların ortalama yaşını 53, en büyük yaşı 76, en küçük yaşı 23 olarak belirlemiştir. Çalışmamızda ise olguların ortalama yaşı 55,96, en küçük yaş 25, en büyük yaş 90'dır. Mersin yöresinde ortalama yaşam süresi iklim koşulları nedeniyle ülkemizin diğer kesimlerine göre daha düşüktür. İstanbul ve Kayseri'de yapılan çalışmalar o yörelerin olgularını kapsadığından aynı ülkede yapılan farklı çalışmalarda, farklı yaş ortalamasına sahip kolorektal kanserli hasta grupları oluşmuştur. Virginia G. Kaklamani ve arkadaşları Amerikan toplumunda yaptıkları çalışmada 440 hastanın yaş gruplarına dağılımlarını şöyle belirlemişlerdir; 40 yaş ve altında % 3,9 (n=17), 41-50 yaş arasında % 11,3 (n=50), 51-60 yaş

arasında % 23,1 (n=102), 61-70 yaş arasında % 33,6 (n=148), 70 yaş ve üzerinde % 28,1 (n=124)'dir. Bu çalışmada bizim çalışmamızda olduğu gibi, hastalık oranının 50-60 yaş arasında yükseldiği görülmektedir. 40 yaşın altında (genç hastalarda) görülen Kolorektal kanserlerin temelinde, ailevi polipozis, ülseratif kolit veya ailevi kanser sendromları gibi genetik yatkınlıklar olabilir (84). Çalışmamıza dahil edilen 40 yaş ve altındaki hastalarda bu faktörlerden biri veya birkaçı etkili olmuş olabilir.

Kolorektal kanserin özellikle de rektum kanserinin erkek hastalarda görülme oranının daha yüksek olduğu literatürde belirtilmiştir (82, 83, 86). Kolorektal kansere yakalanma riski açısından erkek ve Kadın cinsiyet farkı incelendiğinde: Hastaların % 65,1'inin (n=84) erkek, % 34,9'unun (n=45) ise kadın olduğu görülmektedir. Bulguları istatistiksel olarak değerlendirdiğimizde KKK ya yakalanma riskinin erkeklerde kadınlara göre daha yüksek olduğu saptandı (p=0,001). M. Gürbüz el çalışmasında, 54 olgunun % 55,6 (n=30) erkek, % 44,4 (n=24) kadın olduğunu tespit etmiştir (83). Ö. Ç. Yüksel ise çalışmasında, hastaların % 59,3 (n=35) erkek, % 40,7 (n=24) kadın olduğunu belirtmiştir (86). Virginia G. Kaklamani ve arkadaşları ise çalışmalarına dahil olan 440 vakanın % 57,8 (n=255) erkek, % 42,2 (n=186) ise kadın olduğunu ve Kolorektal kanserin cinsiyet ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir (p=0,001) (82). Kolorektal kansere yakalanma oranlarının erkek cinsiyette kadınlara göre daha yüksek olduğu olduğu şeklindeki bulgumuz söz konusu üç çalışmanın bulgularıyla örtüşmekte ve birbirini desteklemektedir.

Boy, kilo ve BMI oranları ile kolorektal kanseri arasındaki ilişki incelendiğinde, kontrol grubundaki bireylerin boy ortalaması 168,6 cm olarak belirlenirken, hastaların ortalama boy uzunluğu 167,2 cm olarak belirlendi. Bazı kaynaklarda uzun boylu olmak kolorektal kanseri için düşük risk faktörleri arasında kabul edilmektedir (87). Çalışmamızda ise kolorektal kanser ile boy uzunluğu arasında ilişki bulunmamıştır (p=0,474).

Kilo açısından değerlendirme yapıldığında ise, kontrol grubundaki bireylerin ortalama kiloları 77,2 kg olarak belirlenirken, kolorektal kanserli bireylerin ortalama kiloları 73,3 kg olarak belirlendi. Fazla kilolu olmak literatürün tersine hastalık riskini azaltıyor gibi görünmektedir (p=0,024). BMI açısından değerlendirildiğinde kontrol grubunda BMI ortalamasının 27,27, kolorektal kanserli hastalarda 26,04 olduğu belirlendi. Yani kontrol grubunda BMI daha yüksektir (p=0,027). Bu sonuç literatür bilgileriyle çelişkili görünmektedir. Kontrol ve kolorektal kanserli hastaların BMI gruplarına dağılımları incelendiğinde kontrollerin % 0,8'inin, hastaların % 2,9'unun, BMI 18,50 (zayıf) ve altında,

kontrollerin % 29,8'inin, hastaların % 32,4'ünün BMI 18,51-25,00 (normal) aralığında, kontrollerin % 45'inin, hastaların % 55,2'sinin BMI 25,01-30,00 (kilolu) aralığında, kontrollerin % 24,4'ünün, hastaların % 9,5'inin BMI 30,01 (obez) ve üzerinde oldukları belirlendi. Bu dağılımlar değerlendirildiğinde ise kontrol ve hasta grubundaki bireylerin BMI oranlarının birbirinden farklılık gösterdiği belirlendi (p=0,017). Bu farklılığın sadece obez (30,01) grupta ortaya çıktığı (p=0,002), diğer grupların ise birbirine benzer olduğu gözlenmiştir. Obezitenin kolorektal kanser riskini artırdığı genel bilgisi vardır. Bizim bulgularımız bunun aksine kilolu kişilerde yani BMI yüksek olanlarda kolorektal kanser oranının düştüğü şeklinde görülmektedir. Kolorektal kanserli hastalara ait boy, kilo, BMI değerleri hastalardan kan aldığımız an hastanın sahip olduğu değerlerdir. Oysa biliyoruz ki; bireylerin kolorektal kansere yakalanmasıyla birlikte beslenme düzeni hızla bozulmakta ve barsaklardan besinlerin emilimi olumsuz yönde etkilenmektedir. Buna bağlı olarak hastalık süresinin uzamasına paralel şekilde hastalar zayıflamakta böylece kilo ve BMI değerlerinde düşme olmaktadır. Bu nedenle bizim bulgumuz çelişki sayılmamaktadır.

Sigara ve alkol kullanımı ile kolorektal kanseri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde kontrol grubundaki bireylerin % 42,7'sinin, kolorektal kanserli hastaların ise % 21,7'sinin sigara kullandığı belirlendi. Kolorektal kansere yakalanma riski açısından sigara kullanımı bir risk faktörü değil tam tersine koruyucu bir faktör gibi görünmektedir (p=0,007). Alkol kullanımı ile kolorektal kanser arasındaki ilişki değerlendirildiğinde ise; kontrol grubuna ait bireylerin % 12'sinin, kolorektal kanserli hastaların ise % 5,1'inin alkol kullandığı belirlendi. Alkol kullanımının kolorektal kansere yakalanma riskini etkilemediği belirlendi (p=0,150). Çalışmamızda sigara kullanımının KRK'lılarda daha yaygın olduğu belirlendi. Bu sonucumuz literatür ile uyumlu değildir. Birçok kaynakta sigara ve alkol kullanımının kolorektal kanser riskini artırdığı şeklinde görüş mevcuttur. Esther K. Wei ve arkadaşları ise sigara ve alkol kullanımı ile kolorektal kanser arasında ilişki olmadığını bulmuşlardır (91). Bu konudaki literatür bulgularında da sonuçlar farklılık gösterdiğinden bizim bulgularımızda çelişki bulunmamaktadır.

Ailede kolorektal kanser öyküsünün olması ile kolorektal kanserine yakalanma riski arasındaki ilişki incelendiğinde, hasta grubunda aile öyküsü bildiren 18 kişiden 1'i ailede kolorektal kanser öyküsü bildirirken (% 5,56), kontrol grubunda aile öyküsü bildiren 28 kişiden 2'si (% 7,14) ailede kolorektal kanser öyküsü bildirmiştir. Ailede kolorektal kanserli bireylerin olması ailede kolorektal kansere sebep olan genetik etkenlerin varlığını düşündürür. Bu nedenle kolorektal kanserli hastalarla çalışırken ilk akla gelen sorulardan biri aile

öyküsüdür. Çalışmamızı kapsayan hasta grubu değerlendirildiğinde ise ailede kolorektal kanseri öyküsünün olması ile kolorektal kanserine yakalanma riski arasında ilişki olmadığı görüldü ($p=0,775$). Ailede KKK öyküsünün KKK yakalanma riski konusunda net bir karara varmak için çok daha büyük örnek hacimleri üzerinde çalışılması gerektiği kanısındayız.

Adiponektinin söz konusu polimorfizmlerini taşıyan bireylerde aşırı karbonhidratlı besinlere olan ilginin arttığı ve bu nedenle de obeziteye neden olabileceği daha önce çalışılmıştır (88). Obezite ise kolorektal kanser de dahil olmak üzere birçok kanser türüne yatkınlığı artırmaktadır. Bu bilgidan yola çıkarak ilgili polimorfizmleri taşımak ile yüksek BMI'ya sahip olmak arasında ilişki olup olmadığı değerlendirilmiştir. Kontrol grubu ve kolorektal kanserli hasta grubundaki bireylerde her iki genin polimorfizmlerinin, genotip dağılımları ile BMI oranları arasındaki ilişki incelendiğinde, BMI grupları ile ADIPOQ exon 2 (+45) polimorfizmine ait TT, TG ve GG genotipleri arasında ilişki olmadığı belirlendi ($p=0,990$). Sonuçlar allel açısından değerlendirildiğinde ise yabancı olan T allelini taşıyanlar ile polimorfik olan G allelini taşıyanlar arasında BMI değerlerinin farklılık göstermediği belirlendi ($p=0,984$). Benzer şekilde ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmine ait GG, GA ve AA genotipleri arasında da ilişki bulunmamıştır ($p=0,597$). Sonuçlar allel açısından değerlendirildiğinde ise yabancı olan G alleli taşıyanlar ile polimorfik olan A alleli taşıyanlar arasında BMI değerleri açısından fark olmadığı belirlendi ($p=0,338$). Her iki analiz için, $\leq 18,50$ grubunda sadece 4 hasta olduğundan istatistik analize dahil edilememiştir. Julie Bienertova Vasku ve arkadaşlarının Çeklerde yaptıkları çalışmada, ADIPOQ exon 2 (+45) polimorfizminin karbonhidrat alımıyla ilişkili olduğunu, GG homozigot polimorfik allelin bireylerde karbonhidratlı yiyeceklere olan ilgiyi artırdığını bulmuşlar ve bu yolla bu polimorfizmin obeziteye neden olabileceğini öne sürmüşlerdir (88). Olavi Ukkola ve arkadaşları ise İsviçre'de aynı polimorfizm ile obezite arasında ilişki olmadığını bulmuşlardır (90). Viktor A. Potapov ve arkadaşları ise Rusya'da yaptıkları çalışmada, ADIPOQ exon 2 (+45) polimorfizmi ve ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizminin obeziteyle ilişkili olmadığını belirlemişlerdir (8). Söz konusu polimorfizmler ile BMI'nın ilişkisinin olmadığı şeklindeki bulgumuz örnek verilen iki çalışmanın bulgularıyla örtüşmekte ve birbirini desteklemektedir.

Gerçekleştirilen bu çalışma ile Mersin Örnekleme temelinde Türk Populasyonu için ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) polimorfik genotip frekansının; Heterozigot TG genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 37,2, kolorektal kanserli hastalarda % 45,7, homozigot polimorfik GG genotipinin görülme sıklığı ise kontrol grubunda % 3,6, kolorektal kanserli

hastalarda % 1,6 dır. ADIPOQ exon 2 (+45, kodon 15) polimorfizme ait Genotip oranlarının kolorektal kansere yakalanma riskini etkilemediği saptandı. ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmine ait genotiplerin kontrol ve kolorektal kanserli hasta gruplarındaki dağılımları incelendiğinde ise; GA heterozigot genotip frekansı kontrol grubunda % 62,0 görülürken, kolorektal kanserlilerde % 67,4, AA homozigot polimorfik genotipi kontrol grubunda % 7,3 iken kolorektal kanserlilerde % 10,9 olarak bulundu. ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmine ait genotip oranlarının kolorektal kansere yakalanma riskini etkilemediği belirlendi. Kolorektal kansere yakalanma riskini etkilediği düşünülen diğer risk faktörlerinden: İleri yaş, erkek cinsiyet KRK'ya yakalanma riskini artırırken sigara kullanımının KRK'ya yakalanma riskini azalttığı görüldü.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

T/G rs2241766 ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) ve G/A rs2275738 ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmlerinin kolorektal kansere yakalanma riski açısından ırksal farklılıklar gösterdiği bilgisinden hareketle; araştırmamızda Mersin ili örneklemindeki Türk toplumunda bu polimorfizmlerin kolorektal kansere yakalanma riskine olası etkisinin belirlenmesi temel hipotezimizi oluşturulmuştur. Ayrıca KRK'ya yakalanmada etkili olduğu düşünülen risk faktörlerinin hastalıkla ilişkisi araştırılmıştır.

ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) polimorfizmi için T ve G allel frekansları ile ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizmine ait G ve A allellerinin genel olarak kontrol grubu ve KRK'lı hasta grubunda fark göstermediği tespit edildi. ADIPOQ exon 2 (+45,codon 15) bölgesine ait genotip oranları incelendiğinde; TT, TG ve GG genotip oranlarının kontrol ve KRK'lı hasta grubundaki dağılımlarının benzer olduğu belirlendi. ADIPOR1 intron 1 (-106) polimorfizme ait genotip oranları incelendiğinde ise; GG, GA ve AA genotip oranlarının kontrol ve KRK'lı hasta gruplarında benzer şekilde dağılım gösterdikleri belirlendi.

KRK'ya yakalanma açısından risk oluşturan diğer faktörler değerlendirildiğinde, kolorektal kanserinin, 40 yaş civarında ortaya çıktığı ve 50 yaş civarında maksimum hızla artış gösterdiği 60 yaş üzerinde ise oransal olarak yüksek görülme sıklığını koruduğu belirlendi.

KRK'ya yakalanma riski açısından cinsiyet faktörü değerlendirildiğinde; Kolorektal kanserin görülme oranının erkek bireylerde bayanlara göre daha yüksek olduğu belirlendi. Boy uzunluğu ve alkol kullanmanın bilinenin tersine risk oluşturmadığı saptandı. Hasta ve kontrol gruplarında aile öyküsü oranları birbirine benzer bulundu. Sigara kullanımının bilinenin aksine hastalığa yakalanma riskini azalttığı belirlendi. Kontrol grubunun BMI ortalamasının KRK'lı hastalardan yüksek olduğu tespit edildi ($p=0,017$). Bu farklılığın sadece obez ($\geq 30,01$) grupta ortaya çıktığı ($p=0,002$), diğer grupların ise birbirine benzer olduğu gözlemlendi. Bu sonuç literatür ile uyum göstermemektedir. Kolorektal kanser kilo kaybını beraberinde getirmektedir. Hastaların kilo değerleri çalışmamız için kan alındığında sahip oldukları değerlerdir. Bu nedenle hasta grubundaki bireylerin kilo ve BMI ortalamaları kontrol grubundaki bireylerin kilo ve BMI değerlerinden daha düşük bulunmuştur.

Adiponektinin söz konusu polimorfizmlerini taşıyan bireylerde aşırı karbonhidratlı besinlere olan ilginin arttığı ve bu nedenle de obeziteye neden olabileceği, obezitenin ise kolorektal kanser de dahil olmak üzere birçok kanser türüne yakalanma riskini artırdığı bilgisinden hareketle kontrol grubu ve kolorektal kanserli hasta grubundaki bireylere ait her iki genin polimorfizmlerinin genotip ve allel dağılımları ile BMI oranları arasındaki ilişki incelendi ancak söz konusu polimorfizmlerin BMI'yı etkilemediği belirlendi.

Çalışmamız, ADIPOQ ve ADIPOR1 genine ait bu polimorfizmlerin allel ve genotip oranlarının Türk populasyonundaki ilk örneğini oluşturmaktadır. Başka bölgelerde yapılacak çalışmalarla populasyondaki dağılımları belirlenebilir. Yine bu genlerin diğer SNP'leri çalışılarak KRK ile ilişkisi belirlenebilir ve ek olarak ADIPOR2 genine ait polimorfizmler değerlendirilebilir. Adiponektinin serum düzeyi ölçülerek her bir SNP için ortalama serum seviyeleri belirlenebilir. Ayrıca ADIPOR1 ve ADIPOR2 genlerinin SNP'leri ve bu genlerin kolonik ekspresyon düzeyleri belirlenerek karşılaştırma yapılabilir. Çalışılan bölgelerin KRK ile ilişkisi olması durumunda KRK için tarama testlerine dahil edilebilir ve hastalık önceden tespit edilerek erken müdahale edilebilir.

KAYNAKLAR

1. **Rosai J.** Ackerman's Surgical Pathology. In Rosai J. Gastrointestinal Tract, Large Bowel. 9th edition, China: Mosby Company, **2004**; 776- 823.
2. **Dizdaroğlu F.** Sindirim sistemi tümörleri. 1.Baskı, İstanbul:İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları; **1998**;373- 458.
3. **Cooper H S.,** Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology. 5. Edition, Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins; **2004**;1543- 1595.
4. **Laakso M, Mutru O, İsomaki H, Koota A.** Cancer mortality in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*; **1986**; 13: 522-526.
5. **Saygılı G.** Kolorektal Karsinomlarda Siklooksijenaz-2 (Cox-2) Enziminin Boyanma Paterni Ve Yaygınlığının Prognostik Parametrelerle Karşılaştırılması. Uzmanlık tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, **2007**.
6. **Virginia G, Kaklamani K B, Wisinski M S.** Variants of the Adiponectin (ADIPOQ) and Adiponectin Receptor 1 (ADIPOR1) Genes and Colorectal Cancer Risk., *JAMA*, **2008**;300 (13) : 1523 – 1531.
7. **Boardman L, Karnes W E.** Surgery of the Colon and Rectum. 1. Edition, New York: Churchill Livingstone, **1997**; 335-363.
8. **Potapov A, Chistiakov D A, Dubinina A, Minara S.** Adiponectin and Adiponectin Receptor Gene Variantsin Relation to Type 2 Diabetes and Insulin Resistance-Related Phenotypes., *SBDR - Society for Biomedical Diabetes Research*, **2008**;5(1):28-37.
9. **Carvajal-Carmona L G, Spain S, Kerr D, Houlston R, Cazier J B, Tomlinson I.** Common variation at the adiponectin locus is not associated with colorectal cancer risk in the UK., *Human Molecular Genetics*, **2009**;18(10):1889-1892.
10. **İlgi S, Gokflen Y, Sayek İ.** Temel Cerrahi, Gastrointestinal Sistem Anatomisi, Kolorektal Polipler ve Polipozis Sendromları, Kolorektal Karsinomlar. Cilt 1, 1. Baskı, Ankara:Günefl Kitabevi, **1991**;555-67,816-839.
11. **Bozfakıoğlu Y, Muslumanoğlu M.** Cerrahi Gastroenteroloji, Kolon Hastalıkları. 4. Baskı, İstanbul:Nobel tıp Kitabevi, **1997**:142-168.
12. **Harpaz N, Saxena R.** Modern Surgical Pathology. In: Weidner N, Cote RJ, Suster S, Weiss LM. Gastrointestinal Tract, Large Intestine. Vol 1, 1. Edition: Saunders, **2003**:749-852.
13. **Noffsinger A E, Stemmermann G N, Lantz P E, Listrom M B.** Gastrointestinal Pathology an Atlas and Text. In: Fenoglio-Presier CM. The Normal Anatomy of the Colon, Nonneoplastic Lesions of the Colon, Carcinomas and other Epithelial and Neuroendocrine Tumours of the Large Intestine. 2. Edition, Philadelphia:Lippincott-Raven Publishers. **1999**; 747-761.

14. **Crawford J M, Kumar V R.** Temel Patoloji. 7. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, **2003**; 563-590.
15. **Levine D S, Haggitt R C.** Histology for Pathologists., 1. Edition, New York:Raven Press Ltd,**1992**;573-591.
16. **Fenoglio-Preiser C M, Noffsinger A E, Stemmermann G N, Lantz P E, Listrom M B, Rilke F O.** Carcinomas and other epithelial and neuroendocrine tumors of the large intestine. In: Gastrointestinal pathology an atlas and text. 2. Edition, Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, **1999**; 909-1068.
17. **Lee M, Han W S, Kim O K, Sung S H, Cho M S, Lee S N.** Prognostic value of p16INK4a and p14ARF gen hypermethylation in human colon cancer., *Pathol Res Pract*, **2006**; 202: 415-424.
18. **Wieneke J K, Zheng S, Lafuente A, Lafuente J M, Grudzen C, Wrensch R M.** Aberrant methylation of p16INK4a in anatomic and gender-specific subtypes of sporadic colorectal cancer., *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **1999**; 8: 501-506.
19. **Christine A, Lacobuzio D, Elizabeth M.** Epithelial neoplasms of the colorectum. In: Gastrointestinal and Liver Pathology., *Churchill Livingstone Elsevier*, **2005**: 367-394.
20. **Rosai J.** Gastrointestinal tract. In: Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, Volume 1., 9. Edition, Mosby, **2004**: 776-855.
21. **Figen D.** Kolorektal karsinomda sınıflama ve prognostik faktörler. Türk Patoloji Derneği Mezuniyet sonrası Eğitim Toplantısı Gastrointestinal Sistem Patolojisi Günleri, İstanbul. **2005**: 47- 56.
22. **Anne B B, Clive A.** Colorectal cancer. *Clinical review. BMJ*, **2007**; 335: 715-8.
23. **Thomas E R, Ira J K.** Colorectal cancer: Risk factors and recommendations for early detection. *American Family Physician*, **1999** : 1-12.
24. **Thomas K.** Molecular pathology and morphogenesis of colorectal cancer. Türk Patoloji Derneği Mezuniyet Sonrası Eğitim Toplantısı Gastrointestinal Sistem Patolojisi Günleri, İstanbul. **2005**; 38- 46.
25. **Silverberg S G, De Lellis R A, Frable W J, Li Volsi V A, Wick M R.** Neoplastic diseases of the small and large intestines. In: Silverberg's Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology, Volume 2, 4. Edition, Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, **2006**: 1419- 1464.
26. **Kumar V, Abbas A K, Fausto N.** The gastrointestinal tract. In: Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7. Edition, Philadelphia: Elsevier Saunders Company, **2005**; 857- 869.
27. **O'Brien M J, Winawer S J, Zauber A G, Gottlieb L S, Sternberg S S, Diaz B.** The national polyp study. Patient and polyp characteristics associated with high-grade dysplasia in colorectal adenomas. *Gastroenterology*, **1990**; 98:371-379.
28. **Lisa Y.** Pre-cancerous lesions of the colon: Problems in the diagnosis of dysplasia June, 2007. 21st European Congress of Pathology, İstanbul. **2007**: 346-348.

29. **Ströhle A, Maïke W, Hahn A.** Nutrition and colorectal cancer. *Med Monatsschr Pharm*, **2007**; 30 : 25- 32.
30. **Thomas E R, Ira J K.** Colorectal cancer: Risk factors and recommendations for early detection. *American Family Physician*, **1999**; 1-12.
31. **Mills S E, Carter D, Reuter V, Greenson J K, Stoler M H, Oberman H A.** Intestinal neoplasms. In: Stenberg's Diagnostic Surgical Pathology, Volume 2, 4. Edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, **2004**: 1543- 1601.
32. **Bon S O, Yik H H, Kong W E, Francis S C.** Primary colorectal signet- ring cell carcinoma in Singapore. *ANZ J Surg*, **2001**; 71: 703-706.
33. **Shin S, Tadahiko M, Naoyuki U, Noriaki F, Hidehiko A, Tetsuichiro M.** Characteristics in primary signet-ring cell carcinoma of the colorectum, from clinicopathological observations., *Jpn J Clin Oncol*, **1998**; 28: 202-206.
34. **Wistuba I I, Behrens C, Albores- Saavedra J, Delgado R, Lopez F, Gazdar A F.** Distinc K-ras mutation pattern characterizes signet ring cell colorectal carcinoma., *Clin Cancer Res*, **2003**; 9: 3615-3619.
35. **Bittorf B, Merkel S, Matzel K E, Wein A, Dimler A, Hohenberger W.** Primary signet-ring cell carcinoma of the colorectum., *Langerbecks Arch Surg*, **2004** ; 389: 178-183.
36. **Gülen D.** Duodenal ve intestinal endokrin tümörlerde tanı ve prognostik özellikler Türk Patoloji Derneği Meslek İçi Eğitim Toplantıları I. Endokrin patolojisi günleri, İstanbul. **2006**: 60- 65.
37. **Etseller M, Sparks A, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, Peinad M A.** Analysis of adenomatous polyposis coli promoter hypermethylation in human cancer., *Cancer Res*, **2000**; 60: 4366-4371.
38. **Gotzos V, Wintergerst E S, Musy Y P, Spichtin H P, Genton C Y.** Selective distribution of calretinin in adenocarcinomas of the human colon and adjacent tissues. *Am J Surg Pathol*, **1999** ; 23: 701- 711.
39. **Watanabe H, Tokuyama H, Ohta H, Satomura Y, Okai T, Ooi A, Mai M.** Expression of placental alkaline phosphatase in gastric and colorectal cancers. An immunohistochemical study using the prepared monoclonal antibody. *Cancer*, **1990**; 66: 2575- 2582.
40. **Kumar V, Abbas A K, Fausto N.** Neoplasia. In: Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7. Edition, Philadelphia: Elsevier Saunders Company, **2005**: 289-342.
41. **Laurent-Puiq P, Bons H, Cuqnenc P H.** Sequence of molecular genetic events in colorectal tumorigenesis., *Eur J Cancer Prev*, **1999**; 1: 539-547.
42. **Fukushima T, Takenoshita S.** Colorectal carcinogenesis., *Fukushima J Med Sci*, **2001**;47(1):1-11.

43. **Piard F, Martin L, Chapusot C, Ponnelle T, Faivre J.** Genetic pathways in colorectal cancer: interest for the pathologist. *Ann Pathol*, **2002**; 22: 277-88.
44. **Carneiro F.** Premalignant lesions of hereditary GI cancer. 21 st European Congress of Pathology, İstanbul, **2007**; 345- 346.
45. **Hiltunen M O, Alhonen L, Koistinaho J, Myöhanen S, Paakkönen M, Marin S.** Hypermethylation of the APC (adenomatous polyposis coli) gene promoter region in human colorectal carcinoma., *Int J Cancer*, **1997**; 70: 644-648.
46. **Etseller M, Sparks A, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, Peinad M A.** Analysis of adenomatous polyposis coli promoter hypermethylation in human cancer., *Cancer Res*, **2000**; 60: 4366-4371.
47. **Dorudi S, Hanby A M, Poulson R, Northover J, Hart I R.** Level of expression of E-cadherin mRNA in colorectal cancer correlates with clinical outcome., *Br J Cancer*, **1995** ; 71: 614-616.
48. **El- Bahrawy M A, Poulson R, Jeffery R, Tolbot I, Alison M R.** The expression of E-cadherin and catenins in sporadic colorectal carcinoma., *Hum Pathol*, **2001**; 32: 1216-1224.
49. **Watson N F, Madjd Z, Scrimgeour D, Spendlove I, Ellis I, Scholefield J, Durrant L G.** Evidence that the p53 negative / Bcl-2 positive phenotype is an independent indicator of good prognosis in colorectal cancer: A tissue microarray study of 460 patients., *World J Surg Oncol*, **2005**; 3: 47.
50. **Lebedeva I V, Su Z Z, Emdad L, Kolomeyer A, Sarkar D, Kitada S, Waxman S.** Targeting inhibition of K- ras enhances Ad. mda-7- induced growth suppression and apoptosis in mutant K-ras colorectal cancer cells., *Oncogene*, **2007**; 26: 733- 744.
51. **Fearon E R, Cho K R, Nigro J M, Kern S E, Simons J W, Ruppart J M.** Identification of chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers. *Science*, **1990**; 247: 49-56.
52. **Hague A, Moorghen M, Hicks D, Chapman M, Paraskeva C.** bcl-2 expression in human colorectal adenomas and carcinomas. *Oncogene*, **1994**; 9:3367.
53. **Sullivan J.** Cells alive, **2010**, Erişim: http://www.cellsalive.com/cell_cycle.html
54. **Sangfelt O, Erickson S, Castro J, Heiden T, Gustafsson A, Einhorn S, Grandner D.** Molecular mechanism underlying interferon α - induced G0 / G1 arrest: CKI- mediated regulation of G1 Cdk-complexes and activation of pocket proteins., *Oncogene*, **1999**; 18: 2798- 2810.
55. **Kumar V, Abbas A K, Fausto N.** Neoplasia. In: Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7. Edition, Philadelphia: Elsevier Saunders Company, **2005**; 289-342.
56. **Zhao P, Hu Y C , Talbot I C.** Expressing patterns of p16 and CDK4 correlated to prognosis in colorectal carcinoma., *World J Gastroenterol*, **2003**; 9: 2202-2206.

57. **Ishiguro A, Takahata T, Saito M, Yoshiya G, Tamura Y, Sasaki M.** Influence of methylated p15INK4b and p16INK4a genes on clinicopathological features in colorectal cancer., *J Gastroenterol and Hepatol*, **2006**; 21:1334-1339.
58. **Vogel C, Kirtil T, Oellig F, Stolte M.** Lymph node preparation in resected colorectal carcinoma specimens employing the acetone clearing method., *Pathol Res Pract*, **2008**; 204: 11-15.
59. **Wolmark N, Wieand H S, Rockette H E, Fisher B, Glass A, Lawrence W, Lerner H.** The prognostic significance of tumor location and bowel obstruction in Dukes B and C colorectal cancer. Findings from the NSABP clinical trials., *Ann Surg*, **1983**; 198: 743-752.
60. **Cianchi F, Messerini L, Palomba A, Boddi V, Periqli G, Puacciani F.** Character of the invasive margin in colorectal cancer: does it improve prognostic information of Dukes staging?, *Dis Colon Rectum*, **1997**; 40: 1170-1175.
61. **Eche N, Pichon M F, Quillien V, Gory- Delabaere G, Riedinger J M, Basuyau J P, Daver A.** Standards, options and recommendations for tumor markers in colorectal cancer., *Bull Cancer*, **2001**; 88: 1177-1206.
62. **Louhimo J, Carpelan- Holmström M, Alfthan H, Stenman U H, Järvinen H J, Haglund C.** Serum HCG beta, CA 72-4 and CEA are independent prognostic factors in colorectal cancer., *Int J Cancer*, **2002**; 101: 545-548.
63. **Dudouet B, Jacob L , Beuzeboc P, Magdelenat H, Robine S, Chapuis Y.** Presence of villin, a tissue-specific cytoskeletal protein, in sera of patients and a initial clinical evaluation of its value fort he diagnosis and follow-up of colorectal cancers., *Cancer Res*, **1990**; 50: 438- 443.
64. **Lloyd R V, Schroeder G, Bauman M D, Krook J E, Jin L, Goldberg R M, Farr G H.** Prevalence and prognostic significance of neuroendocrine differantiation in colorectal carcinomas., *Endocr Pathol*, **1998**; 9: 35-42.
65. **Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, Matsuki Y, Murakami M, Ichisaka T, Murakami H, Watanabe E, Takagi T.** Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin., *Science*, **2005**; 307: 426-430.
66. **Bray G.** The underlying basis for obesity relationship to cancer., *J Nutr*, **2002**; 132 (11): 3451-3455.
67. **Garofalo C, Surmacz E.** Leptin and cancer, *J Cell Physiol*, **2005**; 207: 12-22.
68. **Olavi U, Eric R, Peter J, Lars S, Claude B.** Mutations in the Adiponectin Gene in Lean and Obese Subjects From the Swedish Obese Subjects Cohort, *Metabolism*, **2003**; 52 (7): 881-884.
69. **Scherer P, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish H.** A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes., *J Biol Chem*, **1995**; 270: 26746-26749.
70. **Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura N.** Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma., *J Biochem*, **1996**; 120 (66): 803-812.

71. **Viengchareun S, Zennaro M, Pascual L, Lombes M.** Brown adipocytes are novel sites of expression and regulation of adiponectin and resistin., *FEBS Lett*, **2002**; 532: 345-350.
72. **Yamauchi T, Kamon J, Ito Y.** Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects., *Nature*, **2003**; 423: 762-769.
73. **Beltowski J.** Adiponectin and resistin – new hormones of white adipose tissue., *Med Sci Monit*, **2003**; 9: 55-61.
74. **Palomer X, Perez A, Blanco-Vaca F.** Adiponectin: a new link between obesity, insulin resistance and cardiovascular disease., *Med Clin (Barc)*, **2005**; 124: 388-395.
75. **Mantzoros C, Petridou E, Dessypris N.** Adiponectin and breast cancer risk., *J Clin Endocrinol Metab*, **2004**; 89: 1102- 1107.
76. **Miyoshi Y, Funahashi T, Kihara S, Taguchi T, Tamaki Y, Matsuzawa Y, Noguchi S.** Association of serum adiponectin levels with breast cancer risk., *Clin Cancer Res*, **2003**; 9: 5699-5704.
77. **Ishikawa M, Kitayama J, Kazama S, Hiramatsu T, Hatano K, Nagawa H.** Plasma adiponectin and gastric cancer., *Clin Cancer Res*, **2005**; 11: 466-472.
78. **Benusiglio P R, Lesueur F, Luccarini C, Conroy D M, Shah M, Easton D F, Day N E, Dunning A M, Pharoah P D, Ponder B A J.** Common ERBB2 polymorphisms and risk of breast cancer in a white British population: a case–control study., *Breast Cancer Res*, **2005**; 7:204-209.
79. **Xie D, Shu X O, Deng Z, Wen W Q, Creek K, Dai Q, Gao Y T, Jin F, Zheng W.** Population based case control study of HER2 genetic polymorphisms and breast cancer risk., *J Natl Cancer Inst*, **2000**; 92: 412–417.
80. **Pajvani U B, Xueliang D, Combs T P.** Structure function studies of the adipocytosecreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity., *J Biol Chem*, **2003**; 278:9073-9085.
81. **Waki H, Yamauchi T, Kamon J.** Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes: molecular structure and multimer formation of adiponectin., *J Biol Chem*, **2003**; 278:40352-40363.
82. **Virginia G, Kaklamani K B, Wisinski M S.** Variants of the Adiponectin (ADIPOQ) and Adiponectin Receptor 1 (ADIPOR1) Genes and Colorectal Cancer Risk., *JAMA*, **2008**;300 (13) : 1523 – 1531.
83. **Kabukçuoğlu F, Gürbüz M.** Kolorektal karsinomlarda P16 ekspresyonu ve prognostik parametrelerle karşılaştırılması., *Uzmanlık Tezi, İstanbul*, **2008**.
84. **Yüksel Ö Ç.** Metastatik kolorektal kanserlerde uzun infüzyon 5fu/fa ile IV bolus 5fu/fa irinotekanın etkinlik ve yan etkilerinin gözlemlenmesi., *Tıpta Uzmanlık Tezi, Kayseri*, **2005**.

85. **Kaya S.** Kolorektal kanserli hastalarda survivin ekspresyonunun sağkalım ve histopatolojik değişkenlerle ilişkisi., Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2.İç Hastalıkları Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, **2008**.
86. **Yanmaz M T.** Kolorektal kanserde epidermal büyüme faktörü reseptörü ve nükleer faktör kappa b ekspresyonunun prognoza etkisi., İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul, **2006**.
87. **Dolar M E.** Kolorektal tümörler., Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ve Gastroenteroloji Bilim Dalı, Bursa, **2010**.
88. **Bienertova-Vasku J, Bienert P, Tomandi J, Forejt M, Vasku A.** Relation between adiponectin 45 T/G polymorphism and dietary composition in the Czech population., *Diabetes research and clinical practise*, **2009**; 84: 329-331.
89. **Hu E, Liang P, Spiegelmani B M.** AdipoQ Is a Novel Adipose-specific Gene Dysregulated in Obesity., *The Journal of Biological Chemistry*, **1996**; 271 (18): 10697–10703.
90. **Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Sjöström L, Bouchard C.** Mutations in the Adiponectin Gene in Lean and Obese Subjects From the Swedish Obese Subjects Cohort., *Metabolism*, **2003**; 52 (7): 881-884.
91. **Wei E K, Giovannucci E, Fuchs C S, Willett W C, Mantzoros C S.** Low Plasma Adiponectin Levels and Risk of Colorectal Cancer in Men: A Prospective Study., *Journal of the National Cancer Institute*, **2005**; 97 (22):16.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Adana'da doğdum. İlkokulu Ceyhan'da, ortaokulu Konya'nın Çumra ilçesinde tamamladım. Lise eğitimime Salihli Sekine Evren Anadolu Lisesinde başladım ve Ceyhan Halil Çiftçi Anadolu Lisesinde tamamladım.

2008 yılında Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldum. 2008 yılı Eylül ayında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım. 2009 yılı ocak ayında aynı Anabilim Dalına araştırma görevlisi olarak atandım. Halen Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime ve görevime devam etmekteyim.