

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**Azoksimetan ile Oluşturulan Deneysel Kolon
Kanserinde Antiinflamatuvarların Etkinliği**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

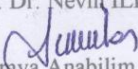
İbrahim BEKTAŞ

2015

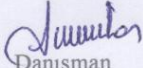
ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

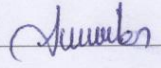

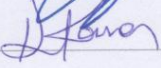
Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Nevin İLHAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nevin İLHAN

Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Nevin İLHAN 
Prof. Dr. B. İnci Erişir 
Doç. Dr. Dilara Kömen 

Değerli hocam Prof. Dr. Nevin İlhan'a,
Sevgili eşim Mehtap Bektaş'a,
Çocuklarım Aslı ve Enes'e

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
İTHAF	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
KISALTMALAR LİSTESİ	viii
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Kolorektal kanserin epidemiyolojisi	5
4.2. Kolorektal kanserin etiyolojisi	6
4.2.1. Yaş	6
4.2.2. Diyet	6
4.2.3. Sigara ve Alkol tüketimi	8
4.2.4. Çevresel ve yaşam stilindeki diğer risk faktörleri	8
4.2.5. İnflamatuvar bağırsak hastalıkları	9
4.2.6. Kişisel öykü	10
4.2.7. Familial (ailevi) kolorektal kanser varlığı	10
4.3. Kalıtsal risk faktörleri	11
4.4. Kolorektal kanserin moleküler genetiği	12
4.4.1. Kromozomal instabilite	12
4.4.2. DNA mikrosatellit instabilite	14
4.5. Kolorektal kanserde invazyon ve metastaz	15
4.5.1. Kolorektal kanser metastazının genetiği	15
4.6. Kolorektal kanserin patolojisi	17
4.6.1. Adenomlar	17
4.6.2. Karsinomlar	18
4.7. Kolorektal kanserde evrelendirme	22
4.8. Antineoplastik mekanizmalarda rol oynayan bazı mediyatörler	27

4.8.1. Adiponektin	27
4.8.2. MCP-1	29
4.8.3. Sulindak	31
4.8.4. Rosmarinik asit	33
5. GEREÇ VE YÖNTEM	36
5.1. Gereç	36
5.1.1. Kullanılan Kimyasalların Hazırlanışı	38
5.1.2. Deney grupları	39
5.1.3. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması	40
5.2. Yöntem	41
5.2.1. Enzim-Bağlı İmmün Assay Yönteminin Prensibi	41
5.2.2. MCP-1 Düzeylerinin Ölçümü	41
5.2.3. Adiponektin Düzeylerinin Ölçümü	42
5.2.4. TAS Düzeylerinin Ölçümü	42
5.2.5. TOS Düzeylerinin Ölçümü	43
5.2.6. Histopatolojik İnceleme	43
5.3. İstatistiksel Analizler	43
6. BULGULAR	44
6.1. Histopatolojik değerlendirme	44
6.2. Biyokimyasal Değerlendirmeler	46
6.2.1. Plazma TAS düzeyleri	46
6.2.2. Plazma TOS düzeyleri	47
6.2.3. Plazma ADİPONEKTİN düzeyleri	48
6.2.4. Plazma MCP-1 düzeyleri	48
6.2.5. Doku TAS düzeyleri	49
6.2.6. Doku TOS düzeyleri	50
6.2.7. Doku ADİPONEKTİN düzeyleri	51
6.2.8. Doku MCP-1 düzeyleri	51
7. TARTIŞMA	53
8. KAYNAKLAR	60
9. ÖZGEÇMİŞ	68

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü'nün kolon ve rektum tümörlerini histolojik sınıflandırması	19
Tablo 2. Dukas evrelendirme sistemi	23
Tablo 3. Astler-Coller evrelendirme sistemi ve Turnbull modifikasyonu	23
Tablo 4. TNM sınıflandırması	24
Tablo 5. TNM evre gruplaması	24
Tablo 6. Standart rat yemi	36
Tablo 7. Gruplara ait plazma TAS, TOS, Adiponektin, MCP-1 düzeyleri	49
Tablo 8. Gruplara ait doku TAS, TOS, Adiponektin, MCP-1 düzeyleri	52

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Kolorektal kanser gelişimindeki genetik mutasyonların birikimi	14
Şekil 2.	Kolorektal kanser evrelerinin anatomik yayılımı	
Şekil 2.1.	Evre 0	25
Şekil 2.2.	Evre I	25
Şekil 2.3.	Evre IIa ve IIb	25
Şekil 2.4.	Evre IIIb	26
Şekil 2.5.	Evre IV	26
Şekil 3.	Kanser teşvik yollarının adiponektin aracılı baskılanması modeli	28
Şekil 4.	Tümör gelişim ve metastazında inflamatuvar sitokinler, tümör-kaynaklı kemokinler (MCP-1 ve RANTES gibi) ve TAM'lar	30
Şekil 5.	Araşidonik asit kaskadı ve kanser gelişimi	32
Şekil 6.	Sulindak metabolizması	33
Şekil 7.	Rosmarinik asitin yapısı	34
Şekil 8.	Gruplara ait histopatolojik lezyon oranları	44
Şekil 9.	Kontrol Grubunda kolonda normal histopatolojik görünüm	45
Şekil 10.	AOM Grubunda kolonda müsinöz adenokarsinoma ait taşıyıcı hücreleri ve zeminde müsinin histopatolojik görünümü.	45
Şekil 11.	AOM Grubunda kolonda adenokarsinoma ait histopatolojik görünüm	46
Şekil 12.	Gruplara ait plazma TAS düzeyleri	47
Şekil 13.	Gruplara ait plazma TOS düzeyleri	47
Şekil 14.	Gruplara ait plazma Adiponektin düzeyleri	48
Şekil 15.	Gruplara ait plazma MCP-1 düzeyleri	49
Şekil 16.	Gruplara ait doku TAS düzeyleri	50
Şekil 17.	Gruplara ait doku TOS düzeyleri	50
Şekil 18.	Gruplara ait doku Adiponektin düzeyleri	51
Şekil 19.	Gruplara ait doku MCP-1 düzeyleri	52

KISALTMALAR LİSTESİ

AAPC	: Ailesel Adenomatöz Polipozis Koli
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
Adipo R1/R2	: Adiponektin Reseptörleri
ADP	: Adenozin Difosfat
AJCC	: Amerikan Ortak Kanser Komitesi
Akt	: Protein Kinaz B (PKB)
AMP	: Adenozin Monofosfat
AMPK	: AMP-Aktiviteli Protein Kinaz
AOM	: Azoksimetan
AP-1	: Aktivatör Protein 1
APC	: Adenomatöz Polipozis Koli
BAX	: Bcl-2 İlişkili X Protein
Bcl-2	: B Hücreli Lenfoma-2
CC-kemokinler:	Beta Kemokinler
CCR2	: CC Kemokin Reseptörü 2
CDK	: Siklin Bağımlı Kinaz
CEA	: Karsinoembriyonik Antijen
COX	: Siklooksijenaz
CTLA4 mAb	: Sitotoksik T Lenfosit Antijen 4 Monoklonal Antikor
DCC	: Deleted in Colorectal Carcinoma
DMH	: 1,2-Dimetilhidrazin
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ECM	: Ekstrasellüler Matriks
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit

EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FAP	: Familyal Adenomatöz Polipozis
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi
FÜHADEK	: Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu
GİS	: Gastrointestinal Sistem
GSK-3β	: Glikojen Sentaz Kinaz-3β
GTP	: Guanozin Trifosfat
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HE	: Hematoksilen-Eozin
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
HNPCC	: Herediter Nonpolipozis Kolon Sendromları
HRP	: Horseradish Peroksidaz
ICAM-1	: İntrasellüler Adezyon Molekül-1
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL-6	: İnterlökin-6
KRK	: Kolorektal Kanser
MAPK	: Mitojen Aktiviteli Protein Kinaz
MCAF	: Monosit Kemotaktik ve Aktive Edici Faktör
MCP-1	: Monosit Kemoatraktan Protein-1
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
MMP-7	: Matriks Metalloproteinaz 7 (Matrilizin)
MSI-H	: Mikrosatellite İnstabilite
MTG	: Mismatch Tamir Genleri
NF-κB	: Nükleer Faktör kappa B

NK	: Natural Killer
NSAİİ	: Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaç
O₂	: Oksijen
p53	: Tümör Protein 53
PARP	: Poli ADP Riboz Polimeraz
PD-ECGF	: Platelet (Trombosit) Türevli Endotelyal Hücre Büyüme Faktörü
PDK	: 3-Fosfoinositide-Bağlı Kinaz
PI3K	: Fosfatidilinozitol 3-Kinaz
PPAR	: Peroksizom Proliferatör-Aktive Reseptör
RA	: Rosmarinik Asit
RIA	: Radioimmunoassay
RNA	: Ribonükleik Asit
RNT	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
S1P	: Sifingozin 1-Fosfat
SAM	: S-Adenosil Metiyonin
STAT3	: Sinyal Dönüştürücü ve Aktivatör Transkripsiyon 3
TAM	: Tümör İlişkili Makrofajlar
TAS	: Total Antioksidan Seviye
TGF-β	: Transform Edici Büyüme Faktörü-β
TNFα	: Tümör Nekrozis Faktör-α
TNM	: Tümör, Nod, Metastaz
TOS	: Total Oksidan Seviye
UICC	: Uluslararası Kansere Mücadele Birliği
USA	: Amerika Birleşik Devletleri
VCAM-1	: Vasküler Hücresel Adezyon Molekülü-1

VEGF : Vasküler Endotel Büyüme Faktörü
Wnt : Wingless ve Int-1 Genleri

1. ÖZET

Kolorektal kanser kadınlarda ve erkeklerde en sık görülen kanserlerden biridir. Kolorektal kansere karşı antiinflamatuvar veya antioksidan mediyatörlerin etkili olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada sıçanlarda azoksimetanla (AOM) indüklenen kolorektal kansere karşı rosmarinik asitin antikanserojen etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamız da sıçanlar 3 gruba ayrılarak değerlendirildi. Kontrol grubunun standart diyetine ek olarak %15,8 fıstık yağı ve 4 hafta haftada bir kez olmak üzere i.p. %0,9 salin enjeksiyonu yapıldı. Azoksimetan grubuna standart diyetine ek olarak %15,8 fıstık yağı ve 4 hafta haftada bir kez olmak üzere i.p. 15 mg/kg azoksimetan (AOM) enjekte edilerek deneysel kolon kanseri oluşturuldu. Azoksimetan+rosmarinik asit grubuna standart diyetine ek olarak %15,8 fıstık yağı ve 4 hafta haftada bir kez olmak üzere i.p. 15 mg/kg azoksimetan (AOM) enjekte edilerek deneysel kolon kanseri oluşturuldu. Bu grubun diyetine oral olarak deney süresince günlük 5 mg/kg rosmarinik asid eklenerek tedavi grubu oluşturuldu. Tüm gruplar 30 hafta sonunda sakrifiye edilerek alınan örneklerinden biyokimyasal ve histopatolojik incelemeler yapıldı.

Histopatolojik değerlendirilmede AOM grubunda %87,5 adenokarsinom ve %12,5 displazi görüldü. AOM+rosmarinik asit grubunda ise %66,7 adenokarsinom ve %33,3 displazi görüldü. Kontrollerle karşılaştırıldığında AOM grubunda TAS ve adiponektin seviyelerinde anlamlı düşüş, TOS ve MCP-1 seviyelerinde anlamlı artış gözlemlendi. AOM grubu ile karşılaştırılan tedavi grubunda, plazmada sadece TAS, dokuda ise TOS ve MCP-1 seviyelerinde anlamlı değişiklik gözlemlendi.

Sonuç olarak rosmarinik asitin antikanserojen etkinliği tümör insidansındaki azalma ile kendini gösterdiği ancak bazı biyokimyasal parametrelerde bu yansımanın olmadığı tespit edilmiştir. Rosmarinik asitin bu etkinliği için daha fazla çalışma ve doz belirleme çalışması yapılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Kolorektal kanser, rosmarinik asit, adiponektin, MCP-1

2. ABSTRACT

Effectiveness of Anti-inflammatory agents in Azoxymethane Induced Experimental Colon Cancer

Colorectal cancer is one of the most common cancers in men and women. The anti-inflammatory or antioxidant mediators are known to be effective against colorectal cancer. In this study, the rosmarinic acid was aimed to investigate the anticancer effect against colorectal cancer induced by azoxymethane in rats.

In this study, the rats were divided into 3 groups. In addition to the standard diet of the control group, 15,8% peanut oil was added and 0,9% saline was injected once a week for 4 weeks. In addition to the standard diet of the azoxymethane group, 15,8% peanut oil was added and this group were induced colon cancer by injecting 15 mg/kg azoxymethane (AOM) i.p. once a week for the first four weeks. In addition to the standard diet of the azoxymethane+rosmarinic acid group, 15,8% peanut oil was added and this group were induced colon cancer by injecting 15 mg/kg azoxymethane (AOM) i.p. once a week for the first four weeks. In addition to diet of this group, during the experiment, treatment group was formed by giving oral daily 5 mg/kg rosmarinic acid. Samples taken by all groups sacrificed at the end of 30 weeks were performed biochemical and histopathological examinations.

The results of the histopathological adenocarcinoma 87,5% and dysplasia 12,5% were observed in the AOM group. Adenocarcinoma 66,7% and dysplasia 33,3% were observed in the AOM+rosmarinic acid. Compared with controls were observed significant decrease in TAS and adiponectin levels, a significant increase in the TOS and MCP-1 levels in AOM group. Treatment group, compared with AOM group significant changes were observed only TAS in plasma, TOS and MCP-1 levels in tissue.

Consequently anticancer activity of rosmarinic acid observed by a decrease in the incidence of tumor but in some biochemical parameter is determined whether this image. More work for the effectiveness of rosmarinic acid and dose-finding studies should be performed.

Keywords: Colorectal cancer, rosmarinic acid, adiponectin, MCP-1

3. GİRİŞ

Kolorektal karsinom, gelişmiş ülkelerde ciddi morbidite ve mortalite nedeni olan bir kanser türüdür. Kolorektal kanser (KRK) dünyada en sık görülen üçüncü kanserdir (1).

KRK gelişiminde rol oynayan çok sayıda risk faktörü bildirilmiştir. KRK'nın nedenleri arasında yaş, beslenme, kalıtım, önceki kanser öyküsü, polip, alkol ve çevresel faktörler sayılabilmektedir (2-4). Bu faktörler arasında en önemlileri diyet ve genetik faktörlerdir. Diyetel yağ tüketiminin artması ve obezitenin varlığı KRK riski ile ilişkilendirilmiştir (5). Kolorektal kanser patogeneğinde hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptozis, angiogenezis ve invazyon gibi olayları düzenleyen genlerin mutasyonları önemli yer tutar (6).

Reaktif oksijen türlerinin (ROT) konsantrasyonunun antioksidan kapasiteyi aşması oksidatif stres oluşturmaktadır. Oksidatif stres birçok kanser türü ile ilişkilidir. ROT, inflamasyon ve karsinogenez sürecinde rol oynayan genler üzerinde mutajenik etki göstermektedir (7). ROT ayrıca sitozolik kalsiyum konsantrasyonunun düzenlenmesi, protein fosforilasyonunun düzenlenmesi ve nükleer faktör kappa B (NF- κ B) ve aktivatör protein 1 (AP-1) faktör ailesi gibi bazı transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunda rol alır. Hücrede antioksidan/oksidan seviyesini dengede tutmak birçok hastalıktan korunmak için önemlidir (8).

Monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) kanserde dahil birçok inflamasyon ile ilişkili hastalıklarda rol oynamaktadır (9,10). MCP-1'in anjiyogeneze katkı yaptığı ve bu yolla tümör invazyonu ve metastazını

geliştirebildiği bilinmektedir (11). MCP-1'in önemli bir transkripsiyonel regülatörü olan NF-κB ve AP-1 faktörlerinin de bu süreçte etkili olduğu tanımlanmıştır (12,13). Transkripsiyonel bir faktör olan NF-κB de invazyonla ilişkili faktörlerin düzenlenmesi yoluyla tümör gelişimde önemli bir role sahiptir. Ayrıca NF-κB sinyal yolağı ile apoptozis baskılanarak kanser gelişimine katkı sağlar (14).

Adiponektin; proliferasyon ve anjiyogenezi inhibe ederek, metastazı baskılayarak, apoptozu indükleyerek, Sinyal Dönüştürücü ve Aktivatör Transkripsiyon 3 (STAT3) ve Protein Kinaz B (PKB veya Akt) gibi sinyal moleküllerinin fosforilasyonunu engelleyerek, Tümör Nekrozis Faktör-α (TNF-α) ve İnterlökin 6 (IL-6) gibi farklı sitokinlerin salgılanmasını düzenleyerek karsinogenez sürecinde etkili olmaktadır. Adiponektinin karsinogenezdeki etkilerinin birçoğunu AMP-Aktiviteli Protein Kinaz (AMPK) aracılığıyla gerçekleştirdiği bildirilmiştir (15).

Bu çalışmada azoksimetanla (AOM) indüklenen sıçan kolorektal kanser modelinde antioksidan, antiinflamatuvar, antimutajen etkili rosmarinik asitin, plazma ve kolorektal doku total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS), MCP-1, Adiponektin seviyelerini nasıl etkilediğinin araştırılması amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Kolorektal kanserin epidemiyolojisi

Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Avrupa ve diğer Batılı ülkeler başta olmak üzere dünya çapında kolorektal kanser, kanserle ilişkili morbidite ve mortalitenin en önemli sebeplerindendir (16). Dünya çapında her yıl yaklaşık 1 milyon KRK tanısı ile en yaygın üçüncü kanserdir. Her yıl 500.000 hasta KRK nedeniyle kaybedilmektedir (1,17). Dünya sağlık örgütünün 2008 kanser raporuna göre KRK insidansı, erkekler arasında dördüncü (akciğer, prostat ve mide kanserlerinin ardından) ve kadınlar arasında üçüncü (meme ve rahim boynu kanserlerinin ardından) sırada gelmektedir (18).

KRK insidansı, coğrafi farklılıklar göstermektedir. Geniş coğrafi farklılıklar diyet, çevresel maruziyet ve genetik yatkınlıkla doğrudan ilişkilidir. Yeni Zelanda, Avustralya, Kuzey Amerika ve Avrupa'da ve son zamanlarda Japonya'da daha yüksek oranlar bildirilirken, Asya ve Afrika'da daha düşük oranlar rapor edilmektedir (18). ABD'de KRK, Amerikan kanser derneğinin 2004 yılındaki araştırmasına göre her yıl 150.000'den fazla yeni vaka teşhisi ile kanser ölümlerinin ikinci önde gelen nedenidir (19).

T.C Sağlık Bakanlığı'nın (2007-2008 yıllarında on iki ildeki) kanser kayıt merkezi verilerine göre, KRK görülme sıklığı açısından tüm kanserler içinde %7,8 ile kadınlarda üçüncü ve %7,5 ile erkeklerde dördüncü sırada yer almaktadır (17).

Kolon kanseri insidansı ile rektum kanseri insidansının oranı yaklaşık 2:1 veya daha yüksektir; Kuzey Amerika, Avustralya ve Yeni Zelanda'da bu oran

daha yüksek iken, daha düşük riskli ülkelerde iki anatomik bölge arasında insidans oranları benzerlik göstermektedir (18).

4.2. Kolorektal kanserin etiyolojisi

KRK gelişiminde rol oynayan çok sayıda risk faktörü bildirilmiştir. Risk faktörlerinin doğru olarak tanımlanması hastalığın takip edilmesi açısından oldukça önemlidir. KRK'ların kesin nedeni bilinmemekle beraber çok sayıda faktörün etiyoloji ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir (2-4).

4.2.1. Yaş

Sporadik kolorektal kanser için en büyük risk faktörü yaşıdır. KRK vakalarının %90'ı 50 yaşın üzerindedir (1,17,20). Bu nedenle tarama programları genellikle bu yaştan sonra başlatılmaktadır. 80 yaş üzerinde KRK tüm kanserler içinde erkeklerde %10'a, kadınlarda %15'e kadar artmaktadır (17). ABD'de KRK, 75 yaş üzerindeki kişilerde en sık rastlanan kanser tipidir (16). Otopsi serilerine göre adenom görülme sıklığı 70 yaşın üzerinde yaklaşık %50'dir (21).

4.2.2. Diyet

Hayvansal yağ ve kırmızı et içeriği yüksek olan bir diyetin KRK gelişimine katkısı olduğu düşünülmektedir (2,21-23). Yapılan araştırmalara göre diyetsel yağın KRK üzerindeki etkisi, diyetsel yağ tüketiminin artmasıyla artan safra asitlerini kanserojene dönüştüren kolonik bakterilerin varlığı ile ilgilidir.

KRK için bu bakterilerin risk oluşturduğu düşünülmektedir. Başka bir diyetsel risk ise hayvansal protein içeren kırmızı etin yüksek sıcaklıklarda pişirilmesiyle oluşan mutajenik heterosiklik aminlerin formasyonu ile ilgilidir. Yapılan deneysel çalışmalarda alınan doza göre heterosiklik aminler kolon ve meme bezi tümörü oluşturduğu gösterilmiştir (2,22).

Sebze ve meyvenin bol miktarda tüketildiği bir diyetin, KRK'ya karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu etki hem lif içeriği hem de çeşitli mikro besinlerin varlığı ile ilişkili olabilir (24). Çözünmez lifler suyu emerek gaitanın daha hacimli ve yumuşak olmasını sağlamaktadır. Bunun neticesinde bağırsakta potansiyel olarak kansere sebebiyet verebilen maddelerin miktarları seyreltilmiş olur. Ayrıca su emerek hacimli hâle gelen gaita, kalın bağırsakta daha hızlı hareket ederek bağırsak duvarının kanserojen bileşiklere daha az süre maruz kalmasını sağlar (25). Aynı zamanda sebze ve meyvelerdeki diğer bazı faktörler de (antioksidan vitaminler, flavonoidler, proteaz inhibitörleri, kalsiyum, folat vb.) KRK'ya karşı koruyucu etkiden sorumlu olabilir (2). Bu mikro besinlerin KRK'daki koruyucu etkinliği sebze ve meyve tüketiminin miktarı ile yakından ilişkilidir (24).

Diyetle düşük düzeylerde alınan kalsiyum ve D vitamininin kolon epitel proliferasyonunu inhibe ederek KRK riskini artırdığı bildirilmiştir (2). Antioksidan vitaminlerin (A,C,E) yüksek miktarda düzenli tüketimi bağırsak mukozasında hücre çoğalmasını azalttığı ve adenom polip tekrarını önlediği gösterilmiştir (26).

Folat tüketiminde KRK riski ile ilişkilendirilmiştir. Folat ve metiyoninden eksik diyetler, S-adenosilmetiyonin (SAM) konsantrasyonunu düşürmektedir.

SAM, DNA metilasyonu için bir metil donörü olarak görev alır. SAM konsantrasyonunun azalması ile DNA metilasyonu azalır, gen ekspresyonu değişir ve potansiyel mutasyon oranları artar. Metil eksikliği oluşturan diyetler kolon kanseri gelişimi ile ilişkilidir. Direkt diyetsel folat tüketimine ilişkin yapılan epidemiyolojik çalışmalara göre, düşük miktarda folat tüketen kişilerde KRK riskinin arttığı gösterilmiştir (27,28).

4.2.3. Sigara ve alkol tüketimi

Genel olarak sigara kullanımı ile KRK riski arasındaki ilişki gösterilememiş ancak sürekli sigara tüketiminin adenomatöz poliplerin riskindeki artış ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Fakat erken yaşlarda sigara kullanımının KRK oluşturabileceği de düşünülmektedir (2). Sürekli sigara kullanan bir bireyin ilk sigara kullanımından sonra KRK oluşumu için yaklaşık 40 yıllık bir indüksiyon süresinin geçtiği ileri sürülmüştür (18).

Çalışmalar alkol tüketimi ile KRK gelişim riski arasında pozitif bir ilişki göstermiştir (2,24). Dünya Kanser Araştırma Fonunun yaptığı araştırmaya göre artan alkol tüketiminin KRK riskini artırdığı rapor edilmiştir (22).

4.2.4. Çevresel ve yaşam stilindeki diğer risk faktörleri

Yüksek fiziksel aktivite gerektiren işlerde çalışanlar için KRK riski gittikçe azalırken, sedanter (hareketsiz) işlerde bu risk artmıştır (29,30).

Çeşitli araştırmalarda obezitenin de KRK için bir risk olduğu bildirilmiştir (31). KRK riskinin artışı ve obezite arasındaki ilişkinin altında yatan biyolojik

mekanizmalar tam olarak anlaşılammamıştır. Fakat obezite-kanser ilişkisi insülin, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), cinsel steroidler ve muhtemelen leptin ve adiponektin gibi adipozit kaynaklı faktörleri de içeren endojen hormonların metabolizmasındaki değişikliklerin kompleks bir etkisi olduğu düşünülmektedir (32).

Endojen ve eksojen cinsiyet hormonları KKK etiyojisinin birer elemanı olduğuna dair bilgiler mevcuttur. Kolonda malign transformasyonun artmasını sağlayan safra asitleri, eksojen östrojenler tarafından salgılanması azaltılarak KKK'a karşı koruyucu etki oluşturabilir (2). Yüksek doğum sayısı, erken yaşta ilk doğum ve düzenli oral kontraseptif (doğum kontrol hapı) kullanımını azalan bir KKK riski ile ilişkili iken, nullipar (hiç doğum yapmamış) kadınlar KKK gelişimine karşı daha duyarlı görünmektedir (24).

4.2.5. İnflamatuvar bağırsak hastalıkları

Ülseratif kolitten etkilenen hastalar KKK için artmış risk altındadır. KKK'da görülen gen anormallikleri (mutasyona uğrayan p53, ras, APC genleri gibi) ülseratif kolitte de bildirilmiştir. Uzun süreli ülseratif kolite maruz kalanlarda, hafif displaziden şiddetli displaziye ve sonunda kansere kadar giden morfolojik değişikliklerin olduğu ileri sürülmüştür (24).

Crohn hastalığı KKK için bir risk etmeni olup olmadığı hala daha net değildir. Crohn hastalığı olanların, hasta olmayanlara göre daha erken yaşta kolon kanserine yakalandığı gözlenmiştir (33).

Kanser kayıt verilerine göre KRK vakalarının %1'inden daha azının bu hastalıklarla ilişkili olduğu rapor edilmiştir (34).

4.2.6. Kişisel öykü

KRK riski adenomların sayısı ve büyüklüğü ile ilişkilidir (1,21,35). Çapı 1 cm'den büyük adenomlar ve villöz komponentin fazlalığı bu riski artırmaktadır. Tübüler adenomlarda %5, tübülo-villöz adenomlarda %22, villöz adenomlarda %40 civarında KRK riski bildirilmiştir (16).

KRK tanılı kişilerde aynı anda ikinci bir kanserin (senkron kanser) ya da daha sonra gelişen ikinci bir kanserin (metakron kanser) oluşma olasılığı artmıştır (1,21). Sonradan oluşan lezyonlar ilk lezyona göre daha uzak bölgelerdedir (21). Meme, endometriyal, over kanseri öyküsü olan kadınlarda da KRK riskini arttığı gözlenmiştir (35).

4.2.7. Familial (ailevi) kolorektal kanser varlığı

Sporadik olgulardan (~%75) sonra ikinci sıklıkla karşımıza çıkan olgular familial KRK'lardır. Familial KRK, bütün olguların ~%25'ini oluşturmaktadır (36). Ailesinde kolon kanseri bildirilmiş, en az biri birinci derece akrabası 50 yaş altı kolon kanseri olan, ancak herediter kolon kanserlerinde olduğu gibi tipik bir otozomal dominant geçiş paterni göstermeyen, diğer aile bireylerinde Lynch sendromu ilişkili diğer kanserleri de olmayan (mide, jinekolojik, ürolojik) kanserler familial olarak adlandırılır. Sporadik kanserlerden ayrılmaları zordur. Oluşumunda muhtemelen henüz belirlenememiş ve penetrasyon (diğer nesillere

geçiş) özellikleri zayıf gen mutasyonları, metilasyon bozuklukları ve beslenme alışkanlıkları gibi çoğul faktörler sorumludur (37).

Birinci dereceden akrabalarından bir kişide bulunan KRK varlığı kanser riskini iki-üç kat, birinci dereceden akrabalarından iki kişide KRK var ise riski yaklaşık üç-dört kat artırmaktadır (37). Akrabalarda 45 yaşından küçüklerde KRK var ise risk artmakta, 60 yaşından büyüklerde var ise risk azalmaktadır (16).

4.3. Kalıtsal risk faktörleri

Kalıtsal formlar KRK'nın %5-6'sını oluşturmaktadır (1,38). KRK'ların kalıtsal formlarında, bireyler mutant genleri ile doğarlar (16). Proto-onkogenlerin aktivasyonu, tümör supressör genlerin inaktivasyonu ve DNA onarımıyla ilgili genlerdeki bozukluklar KRK gelişmesinde rol oynayan genetik etkilerdir (38). Tek bir gende mutasyonun ortaya çıkması KRK gelişimi için yeterli olmayıp mutant genlerin birikimi ile KRK ortaya çıkmaktadır (39).

Kalıtsal kolorektal kanser sendromları (40);

- a) Herediter nonpolipozis kolon sendromları (HNPCC)=Lynch sendromu
- b) Familial adenomatöz polipozis sendromları (FAP)
 - 1. Ailesel adenomatöz polipozis koli (AAPC)
 - 2. Gardner sendromu
 - 3. Turcot sendromu
- c) Hamartamatöz polipozis Sendromlar
 - 1. Peutz-Jeghers sendromu
 - 2. Familial Juvenil Polipozis

3. Herediter Karışık Yapılı Polipozis Sendromu

4. PTEN Hamartom Tümör Sendromu

4.4. Kolorektal kanserin moleküler genetiği

Kolorektal karsinogenezde patogenetik olarak iki farklı yol olduğu bilinmektedir. Her iki yolda da birden fazla sayıda mutasyonun aşamalı olarak birikimi söz konusudur (41) (Şekil 1).

4.4.1. Kromozomal instabilite

APC/ β -katenin yolu olarak adlandırılan birinci yol, bir seri proto-onkogen ve tümör baskılayıcı gende mutasyonların aşamalı olarak gerçekleşip birikmesine neden olan bir kromozomal dengesizlik ile karakterizedir (42).

Adenomatöz Polipozis Koli (APC) geni, 5. kromozomun uzun kolunda yer alan bir tümör baskılayıcı gendir (41). Bu gende yer alan defekt ilk kez FAP'lı hastalarda tanımlanmıştır. Mutant APC geni, sporadik KRK'ların %80'inde saptanmıştır (16). APC'nin fonksiyon kaybı proliferasyonu hızlandırır (38). APC mutasyonlarının 1 cm'den küçük adenomlarda bile saptanması kolorektal karsinogenezisin erken evrelerinde bu genin mutasyona uğradığını düşündürmektedir (43).

β -katenin, Wnt sinyal yolağında yer alır. Bu yolağı uyaran faktörlerin yanı sıra β -kateninin kendisinde ortaya çıkan mutasyonlarda kolon kanserinin başlangıç ve daha sonraki evrelerinde rol oynar (33). APC geni β -katenin yıkımını sağlarken, mutant APC durumunda biriken β -katenin nükleusa transloke olur,

nükleusta MYC ve siklin D1 aktivasyonunu ve DNA transkripsiyonunu hızlandırır (39). Böylece β -kateninin kolorektal kanser gelişiminde etkili bir onkogen olduğu varsayılmıştır.

Hücre içi sinyal transdüksiyonunda görev alan K-ras (Rat Anjiyo Sarkom) geni, 12. kromozomun kısa kolunda yer alan proto-onkogendir (39). Kolon kanserlerinin %60-70'inde K-ras gen kaybı saptanmıştır (43). Mutant K-ras, 1 cm'den küçük adenomların %10'undan azında, 1 cm'den büyük adenom ve karsinomların %50'sinde mevcuttur. Bu nedenle K-ras mutasyonu APC kaybının ardından meydana geldiği düşünülmektedir (44). K-ras geni mutasyona uğradığında, hücre içinde guanozin trifosfat (GTP) hidrolizi yapılamadığından, G proteinini devamlı olarak aktif formunda kalmakta ve sonuç olarak kontrolsüz hücre bölünmesine yol açtığı düşünülmektedir (16).

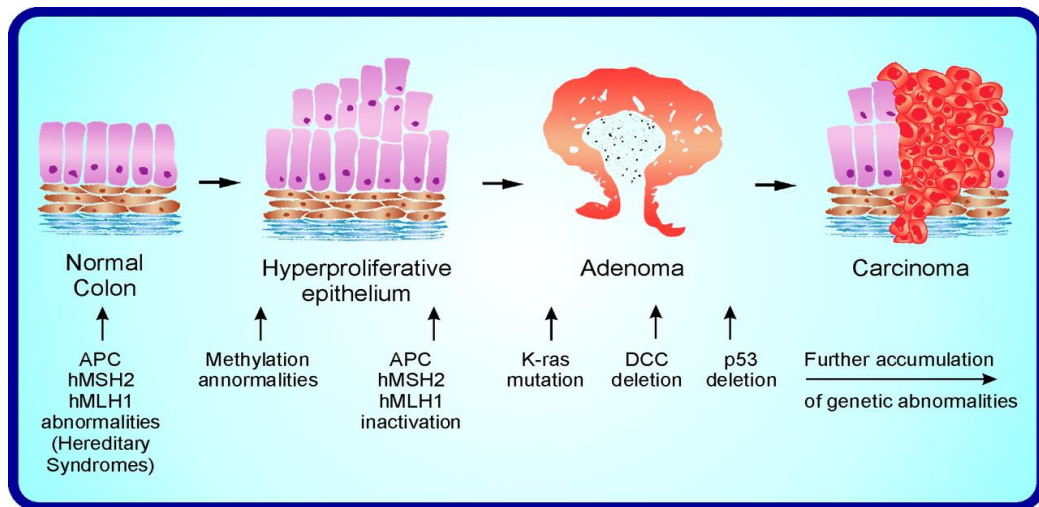
Deleted in Colorectal Carcinoma (DCC) geni, 18. kromozomun kısa kolunda yer alan bir tümör baskılayıcı gendir. DCC geni kolon kanserlerinin %70'inde mutasyona uğramıştır (39). Ayrıca %88'inde de ekspresyonu azalmıştır. DCC geninin hücre adezyonu ve hücre matrisi ilişkisini düzenlediği bilinmektedir (38). Mutant DCC geni küçük adenomlarda az olması ve büyük adenomlarda %50'ye ulaşması bu gen kaybının APC ve K-ras mutasyonundan sonra oluştuğunu düşündürmektedir (33).

p53 geni, diğer adıyla tümör protein 53 (TP53), 17. kromozomun uzun kolunda yer alan tümör baskılayıcı gendir. DNA zarar gördüğünde DNA tamir proteinlerini harekete geçirir ya da DNA tamir edilemeyecek kadar zarar gördüğünde apoptozu başlatır (45). Bu genin mutasyonuna kolon kanserlerinin %70-80'inde rastlanmaktadır (44). Ancak kolorektal adenomlarda nadiren

görüldüğünden p53 genindeki mutasyonun adenom-karsinom sekansının geç dönemlerinde ortaya çıktığı düşünülmektedir (42).

4.4.2. DNA mikrosatellit instabilite

Genetik lezyonların varlığı ile karakterize ikinci yol DNA mismatch tamir genleri (MTG) ile ilgilidir (41). MTG, DNA yapısında replikasyon sırasında ortaya çıkabilecek yanlış baz dizilenmelerini tamir etmeye yarayan genlerdir (42). Bugüne kadar tanımlanan MTG'ler arasında hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2, hMSH3 ve hMSH6 sayılabilir (43). Bu genler hücre siklusu esnasında oluşabilecek mutasyonları ortadan kaldırarak kanser oluşumunu engellemektedir (33). MTG'lerindeki değişiklikler sporadik KRK'larda %15 oranında görülür. Oysa HNPCC olgularında ise bu oran %85'dir (38). MTG kaybı sonucu, mikrosatellit denilen kısa DNA dizileri replikasyon sırasında kararsız hale gelirler. Ortaya çıkan mikrosatellit kararsızlığı, hatalı mismatch tamirinin moleküler işaretidir (44). Mikrosatellit kararsızlığı hassas genlerde (TGF- β reseptörü, BAX, ...) mutasyona yol açması ve birikmesi KRK sebep olur (1,44).



Şekil 1. Kolorektal kanser gelişimindeki genetik mutasyonların birikimi

4.5. Kolorektal kanserde invazyon ve metastaz

Malign tümörlerin komşu dokulara yayılmasına invazyon, primer alanlardan çeşitli yollarla sekonder doku ve organlara yayılmasına metastaz denir. Bening tümörler çevresini genişleterek büyürler ve komşu dokuya invazyon yeteneğine sahip değildirler. Malign tümörler ise çevre dokularla etkileşime geçerek sınırları bilinmeyen derinliklere kadar ilerleyebilmektedir. İnvazyon yeteneği olan hücreler vücut boşlukları, kan ve lenf damarları yoluyla sekonder doku ve organlara giderek kolonize olurlar (46).

KRK'lı tüm hastaların yaklaşık %20'sinde metastatik hastalık ortaya çıkabilir ve %50'sine kadarında ise metastaz gelişebilir. Sıklık sırasına göre metastatik alanlar karaciğer, periton, akciğer, kemik ve beyindir. Bir neoplazmın uzak organlara kolonize olması için mikro-çevresiyle sinerjik etkileşime ihtiyaç duyduğu bildirilmiştir (47).

4.5.1. Kolorektal kanser metastazının genetiği

KRK'nın invazyon ve metastazının geleneksel paradigması ekstrasellüler matriksin (ECM) proteolizi, adezyon, anjiyogenez, yayılım ve hücre büyümesi de dahil olmak üzere bir dizi kompleks adımdan oluşur. Bir çok gen değişiklikleri bu karmaşık sürece dahil olurlar.

4.5.1.1. Proteoliz genleri

Proteoliz aşamasında kanser hücreleri veya fibroblastlar tarafından üretilen proteinazlar, ECM komponentlerini etkileyebilirler ve primer alandan ayrılmak

için kanser hücrelerine imkan sağlar. Proteinaz türleri arasında olan ve 25'den fazla enzim ihtiva ettiği bilinen matriks metalloproteinazların (MMP) baskın bir etkilerinin olduğu düşünülmektedir (48). Tüm MMP'ler ECM komponentlerini (yani kolajenler, laminin, fibronektin, vitronektin, entaktin ve proteoglikanlar) olumsuz etkileyebilir. Özellikle MMP-7 (matrilizin)'nin ECM'nin parçalanmasında önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. MMP-7 KRK'nın çoğunda aşırı eksprese edilir ve ekspresyonu metastatik potansiyel ile pozitif ilişkilidir (48, 49).

4.5.1.2. Adezyon genleri

İntegrinler, kaderinler, selektinler, CD44, İntrasellüler Adezyon Molekül-1 (ICAM-1), Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1 (VCAM-1) ve Karsinoembriyonik Antijeninde (CEA) dahil edildiği birçok adezyon molekülleri kanser metastazında rol oynamaktadır. Örneğin integrinler; laminin, kolajen, fibronektin, vitronektin gibi birçok ECM komponentlerini bağlayabilir. Kanser hücreleri adezyon moleküllerini eksprese ederek invazyon ve metastaza yol açabilmektedir. E-kaderin hücre-hücre adezyon molekülüdür. E-kaderin ekspresyonunun azalması kanserin geniş bir alanda invaziv olması ve metastatik potansiyelinin artmasını sağlamaktadır (50).

4.5.1.3. Anjiyogenez genleri

Anjiyogenez primer tümörün büyümesinde önemli bir adım olup ve kan yoluyla yayılması, ilerlemesi ve metastazı için bir kaynak oluşturur. Bir çok

anjyogenik faktör (VEGF ve platelet (trombosit) türevli endotelial hücre büyüme faktörü (PD-ECGF) de dahil olmak üzere) bu süreçte rapor edilmiştir (51).

Bu faktörler arasında en önemli olanı VEGF'dir. VEGF, kanser hücrelerinin metastaz ve invazyonundaki rolü incelenmiş ve şu ana kadar 6 tane VEGF molekülleri (VEGF A-F) tanımlanmıştır (52). Bu moleküller endotelial hücrelerin spesifik mutajenleri olarak hareket ederek anjyogenezi teşvik ederler. VEGF tirozin kinaz yapısındaki mevcut üç reseptörü yoluyla biyolojik aktivitesini gerçekleştirir (VEGF reseptör: VEGFR). Sinyal iletim mekanizmasında rol alan proteinler, reseptörlerin aktivasyonu ile fosforile olur ve epitelyal hücre proliferasyonu, migrasyon ve yeni damar oluşumu sağlar (53).

4.6. Kolorektal kanserin patolojisi

4.6.1. Adenomlar

Bu prekürsör lezyonlar hiperkromatik çekirdekli, genişlemiş hiperselülarite, çekirdek stratifikasyonun değişik dereceleri ve polarite kaybıyla tanımlanır. Çekirdekleri iğsi şeklinde veya oval olabilir. Genel olarak bu lezyonlar APC/ β -katenin yolağının inaktivasyonu ile başlar. APC geninin mutasyona uğramasıyla poliplerde büyüme görünür. Adenomlar, glandüler veya villöz oranına, çekirdek stratifikasyonun oranına ve anormal çekirdek morfolojisinin şiddetine göre düşük ya da şiddetli derecede olabilir (54).

Makroskopi

Kolorektal adenomlar üç gruba ayrılabilir; yükselmiş, yassı ve basık olabilir. Yükselmiş adenomlar saplı veya sapsız görünümündedirler. Yassı

(çıkıntısız) adenomlar ve basık adenomlar makroskopik olarak mukozal kızarıklık gösterir veya farklı tekniklerle bu lezyonlar kolonda tanımlanırlar (55).

Histopatolojisi

Konvansiyonel adenomlar yapısal özelliklerine dayanarak tübüler, villöz ve tübülovillöz olarak alt gruplara ayrılırlar (Tablo 1). Tübüler adenomlar çoğunlukla çıkıntılı, saplı küre şeklinde veya çıkıntısız (yassı) olabilir. Mikroskopik olarak, displastik glandüler yapılar luminal yüzeyin %80'inden daha azını kaplarlar (54). Villöz adenomlar tüylü görünen bir yüzey ile tipiktirler. Mikroskopik olarak, displastik glandüler yapılar lüminal yüzeyin %80'inden daha fazlasında yaprak benzeri çıkıntılar oluşturur. Uzun yapılı tübüler adenomu villöz adenomdan ayırmak bazen zordur. Ancak villöz yapısı normal kolorektal mukoza kalınlığının iki katını aşan bezlerin uzunluğu ile tanımlanabilirler. Tübülovillöz adenomlar %20-80 arasında villöz yapısı ihtiva eden tübüler ve villöz yapılarının bir karışımıdır (55-57).

4.6.2. Karsinomlar

Makroskopi

Karsinomlar (33);

- 1- Ekzofitik/fungatif/polipoid intraluminal gelişim
- 2- Endofitik/ülseratif intramural gelişim
- 3- Diffüz infiltratif/linitis plastica ince endofitik gelişim
- 4- Anüler-peçete halkası şeklinde lümeni daraltan gelişim olabilir.

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü'nün kolon ve rektum tümörlerini histolojik sınıflandırması

EPİTELYAL TÜMÖRLER

Adenoma

- Tübüler
- Villöz
- Tübülovillöz
- Serrated

Kronik inflamatuvar hastalıklarla ilişkili intraepitelyal neoplazi (displazi)

- Düşük dereceli grandüler intraepitelyal neoplazi
- Yüksek dereceli grandüler intraepitelyal neoplazi

Karsinoma

- Adenokarsinoma
- Müsinöz adenokarsinoma
- Taşlı yüzük hücreli karsinoma
- Küçük hücreli karsinoma
- Skumöz hücreli karsinoma
- Adenoskumöz karsinoma
- Medüller karsinoma
- İndiferansiye karsinoma

Karsinoid (iyi diferansiye endokrin neoplazm)

- EC-hücre, serotonin üreten neoplazm
- L-hücre, glukagon benzeri peptid ve PP/PYY üreten tümör
- Diğerleri

Karsinoid-Adenokarsinoma karışımı**Diğerleri**

NONEPİTELYAL TÜMÖRLER

Lipoma

- Leiomyoma
- Gastrointestinal stromal tümör
- Leiomyosarkom
- Anjiyosarkoma
- Kaposi sarkomu
- Malign melanom
- Diğerleri

Malign lenfomalar

- MALT Tipi marjinal zon B-hücreli lenfoma
- Mantle hücreli lenfoma
- Dağınık geniş B-hücreli lenfoma
- Burkitt lenfoma
- Burkitt-benzeri / atipik Burkitt lenfoma

Diğerleri

SEKONDER TÜMÖRLER

POLİPLER

- Hiperplastik (metaplastik)
- Peutz-Jeghers
- Juvenile

Bu tipler arasında birlikte görünme sıklıkla olmaktadır. Distal kolonda endofitik ve anüler tipte tümörler oluşurken, proksimal kolonda eksofitik tipte tümörler oluşur. Bazı KRK kesitlerinde nekroz alanları görünmesine rağmen çoğunlukla homojen bir görünüme sahiptirler. Müsinöz (kolloid) adenokarsinom tiplerinde genellikle açıkça görülebilir mukus alanlarına sahiptir. Yüksek seviyeli mikrosatellit instabiliteli karsinomlar genellikle sınırlı ve yaklaşık %20 müsinöze sahiptir (55).

Histopatoloji

Kolorektal adenokarsinomun belirleyici özelliği submukoza içine invazyondur (56). Epitelyum sınırlı veya yalnız lamina propia invazyonlu ve submukoza içine invazyonu olmayan morfolojik özellikli adenokarsinomların hiçbir metastatik riski yoktur. Bu nedenle “in-situ adenokarsinom” yerine “yüksek dereceli intraepitelyal neoplazi”, “intramukozal adenokarsinom” yerine “intramukozal neoplazi” terimleri kullanımı daha uygun olacaktır (55).

Kolon ve rektum kanserlerinin Dünya Sağlık Örgütü’ne göre histolojik sınıflandırması (Tablo 1);

Adenokarsinom: KRK’ların %85-90 bu tiptedir. Tübüler, asiner veya papiller yapılar içeren bez epitelinin kötü huylu tümörüdür. Adenokarsinomlar atipik tümör hücrelerinin değişik boyutlarda ve şekillerde gland yapılar oluşturması ile karakterizedir. Gland oluşturma özelliğine ve yaygınlığına dayanılarak iyi diferansiye, orta derecede diferansiye ve az diferansiye olarak derecelendirilirler (58).

Müsinöz adenokarsinom: Müsinöz adeokarsinom terimi %50'den fazla müsin içeren lezyonlarda kullanılır (59). Bu varyant asinar yapılar ve hücre dizileri veya tek hücreler gibi malign epitelyum içeren ekstrasellüler müsin havuzları ile karakterizedir. Yüksek sıklıkta mikrosatellite instabilite (MSI-H) karsinomları bu histopatolojik tiptedir (60).

Taşlı-yüzük hücreli karsinom: Adenokarsinomun bu varyantı belirgin intrastoplazmik müsinli (%50'den fazla) tümör hücrelerinin bulunması ile tanımlanır (61). Taşlı-yüzük hücre, sitoplazmayı dolduran ve çekirdek yerini değiştiren büyük müsin vakuole sahiptir (57). Taşlı-yüzük hücreleri müsinöz adenokarsinomun müsin hücrelerinde veya çok az ekstrasellüler müsinli diffüz infiltrasyon gösteren bir süreçte oluşabilir. Bazı MSI-H karsinomları bu tiptedir (55).

Adenoskuamöz karsinom: Bu alışılmadık tümörler ya tümör içinde aynı alanlarda ya da karışık olarak hem skuamöz hemde adenokarsinomun özelliklerini göstermektedir. Bir lezyonu adenoskuamöz olarak sınıflandırabilmek için küçük odaklı skuamöz diferansiyasyonu daha fazla olmalıdır. Skuamöz hücreli karsinomlar kalın bağırsakta çok nadirdir (55).

Medüller karsinom: Bu nadir görülen varyant veziküler nükleuslu, bol pembe sitoplazmalı hücre tabakaları ve belirgin intraepitelyal lenfosit infiltrasyonu ile karakterizedir (56). Bu her zaman MSI-H ile ilişkilidir (60). Diğer kötü diferansiye ve indiferansiye kolorektal karsinomlara kıyasla olumlu bir prognozu vardır (61).

İndiferansiye karsinom: Bu nadir tümörler epitel bir tümör ötesinde diferansiyasyon göstermez ve değişken histolojik özelliklere sahiptir (57). İndiferansiye görünüşe rağmen bu tümörler genetik olarak farklı ve tipik olarak MSI-H ile ilişkilidir (55).

Diğer varyantlar: İğsi hücreli komponent içeren karsinomlar iğ hücreli (spindle) karsinomlar veya sarkomatoid karsinoma olarak adlandırılır. Karsinosarkoma terimi hem karsinomatöz hemde heterolog mezenkimal elemanları içeren malign tümörler için kullanılır. Kolorektal karsinomun diğer nadir histopatolojik varyantları pleomorfik (dev hücreli), koriyokarsinoma, pigmentli, berrak hücre, kök hücre ve Paneth hücre zengini (kript hücre karsinomu) olmak üzere çeşitli varyantlar içerir. Histopatolojik türlerin karışımlarında görülebilmektedir (55).

4.7. Kolorektal kanserde evrelendirme

Kolorektal karsinomlarda prognozun en iyi belirteci patolojik evrelendirmedir. Günümüze kadar Dukes, Astler-Coller ve TNM gibi 3 farklı evrelendirme sistemi kullanılmıştır (62).

Dukes 1932 yılında rektal karsinomlar için ilk patolojik evrelendirme sistemini oluşturmuştur ve Dukes sistemi kolon karsinomları içinde uygulanmıştır (35). Bu sınıflandırma kanserin direkt yayılımı ve lenfatik tutulumu üzerine kurgulanmıştır (40). Dukes sistemi tümörün derinliği ve lenfatik tutulumuna göre A, B, C olarak evrelere ayrılmıştır. C evresi Dukes tarafından 1936 yılında modifiye edilerek C1 ve C2 olarak değiştirilmiştir (Tablo 2) (33, 44).

Tablo 2. Dukes evrelendirme sistemi

Evre A: Tümör kalın bağırsak duvarında sınırlı
Evre B: Tümör muskularis propriayı aşmış, seroza/perirektal dokuya invaze Lenf nodu tutulumu yok.
Evre C1: Bölgesel lenf nodlarına metastaz yok
Evre C2: Mezenterik kan damarları etrafındaki lenf nodları tutulumu

1954 yılında Astler-Coller tarafından tümörün derinliğine ve lenf nodu tutulumu üzerine bir sistem oluşturmuştur. Bu sistem Dukes sistemine benzerlikler göstermektedir (33,44,55). 1967 yılında Turnbull, Dukes sistemine uzak metastaz ile ilgili olan D evresini ekleyerek günümüzdeki halini almıştır (Tablo 3) (40).

Tablo 3. Astler-Coller evrelendirme sistemi ve Turnbull modifikasyonu

Evre A: Tümör mukozada sınırlıdır.
Evre B1: Tümör muskularis propriaya ulaşmış, lenf nodu tutulumu yoktur
Evre B2: Tümör muskularis propriayı aşmış, serozaya ulaşmış, lenf nodu tutulumu yoktur.
Evre C1: Tümör barsak duvarında sınırlı, fakat tümöre yakın lenf nodu tutulumu mevcuttur.
Evre C2: Tümör barsak duvarını aşmış, fakat tümörden uzak lenf nodu tutulumu mevcuttur.
Evre D1: Komşu organlara invazyon.
Evre D2: Uzak metastaz

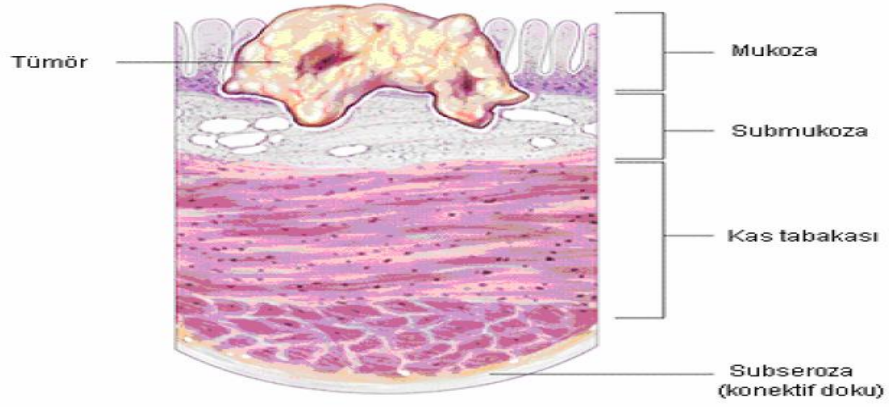
Amerikan Ortak Kanser Komitesi (AJCC) ve Uluslararası Kanserle Mücadele Birliği (UICC)'nin oluşturduğu Tümör, Nod, Metastaz (TNM) evreleme sistemi birçok akademik kuruluş ve komisyonlar tarafından şuanda KKK'nın evrelemesinde standart olarak kabul edilmiştir (35). Günümüzde TNM evrelemesi tümör, lenf bezi ve metastaz komponentlerinin gruplandırılmasıyla ortaya konulmuş ve en çok tercih edilen evreleme sistemidir (Tablo 4) (63). TNM evre gruplaması (Tablo 5), hastalığın anatomik yayılımı hakkında tedavi öncesi diğer evrelendirme sistemlerine göre daha belirgin bilgiler sunmaktadır (Şekil 2) (62).

Tablo 4. TNM sınıflandırması

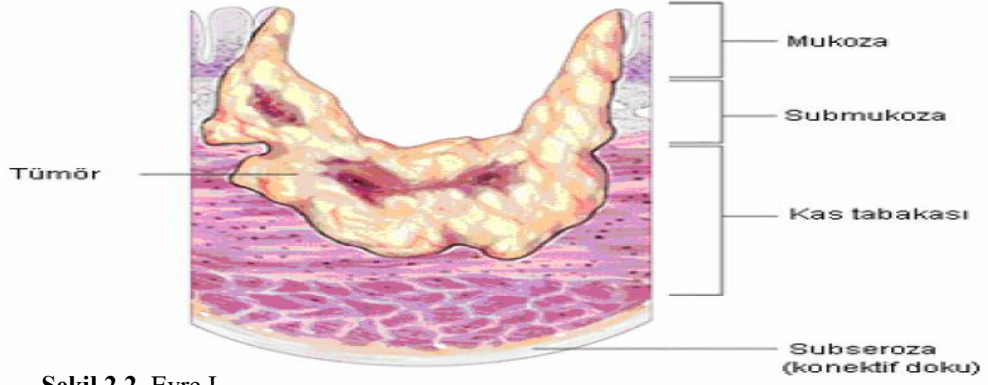
Primer tümör (T)	Bölgesel lenf nodları (N)
TX: Primer tümör bilinmiyor	NX: Bölgesel lenf nodu değerlendirilemedi
T0: Primer tümör yok	N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok.
Tis: Karsinoma in-situ (intraepitelyal veya intramukozal karsinoma).	N1: 1-3 adet lenf nodu metastazı var
T1: Tümör submukozaya invaze	N2: 3 den fazla lenf nodu metastazı var.
T2: Tümör muskularis propriyaya invaze	
T3: Tümör muskularis propriyayı geçerek serozal veya perikolik/ perirektal bölgeye invaze	Uzak metastaz (M)
T4: Tümör komsu organ veya yapılara invaze ise (T4a) veya periton perforasyonu yapıyor ise (T4b).	MX: Uzak metastaz değerlendirilemedi
	M0: Uzak metastaz yok
	M1: Uzak metastaz var

Tablo 5. TNM evre gruplaması

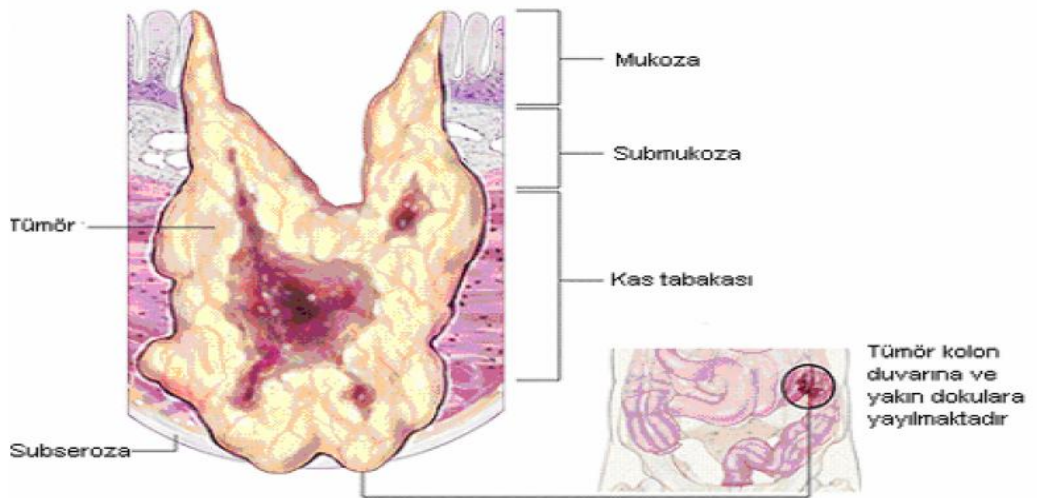
Evre	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
II			
	A T3	N0	M0
	B T4	N0	M0
III			
	A T1-2	N1	M0
	B T3-4	N1	M0
	C Herhangi T	N2	M0
IV	Herhangi T	Herhangi N	M1



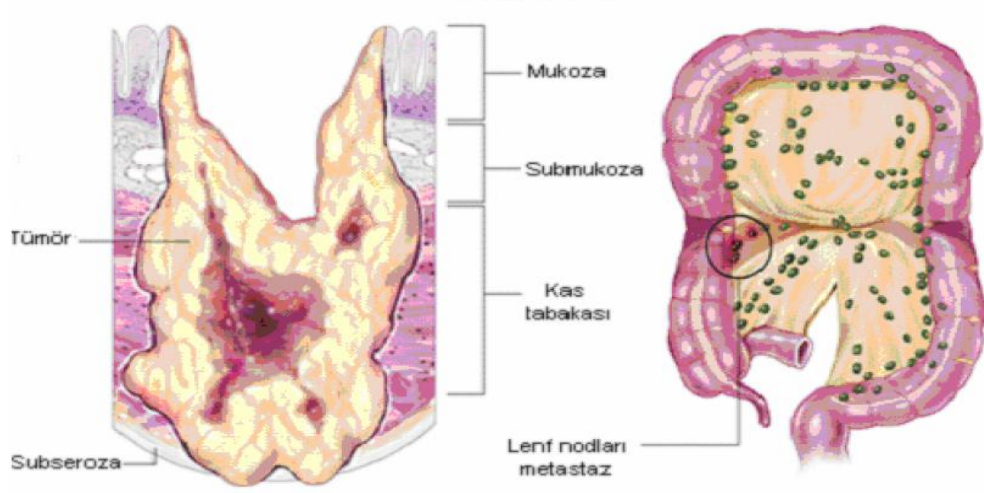
Şekil 2.1. Evre 0



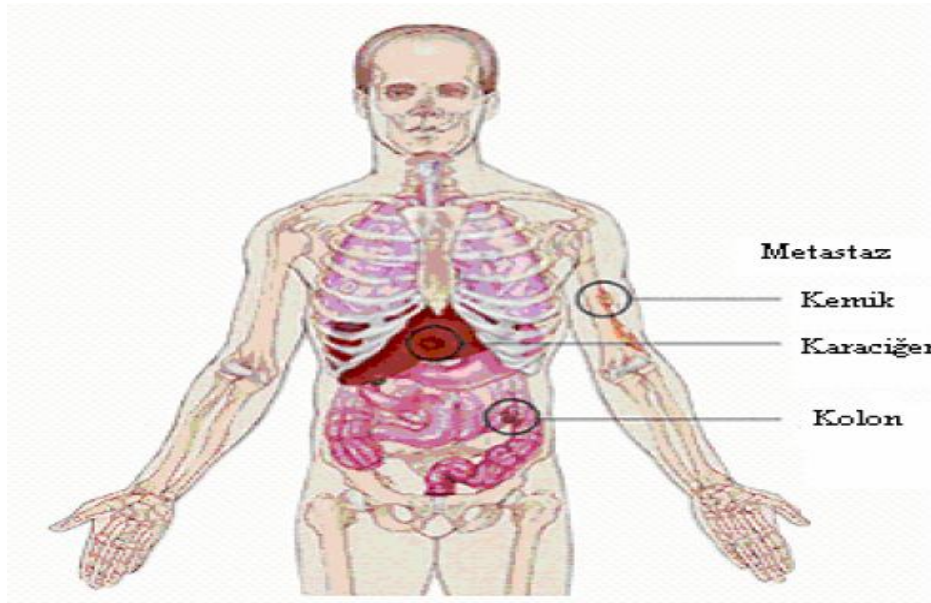
Şekil 2.2. Evre I



Şekil 2.3. Evre IIa ve IIb



Şekil 2.4. Evre IIIb



Şekil 2.5. Evre IV

4.8. Antineoplastik mekanizmalarda rol oynayan bazı mediyatörler

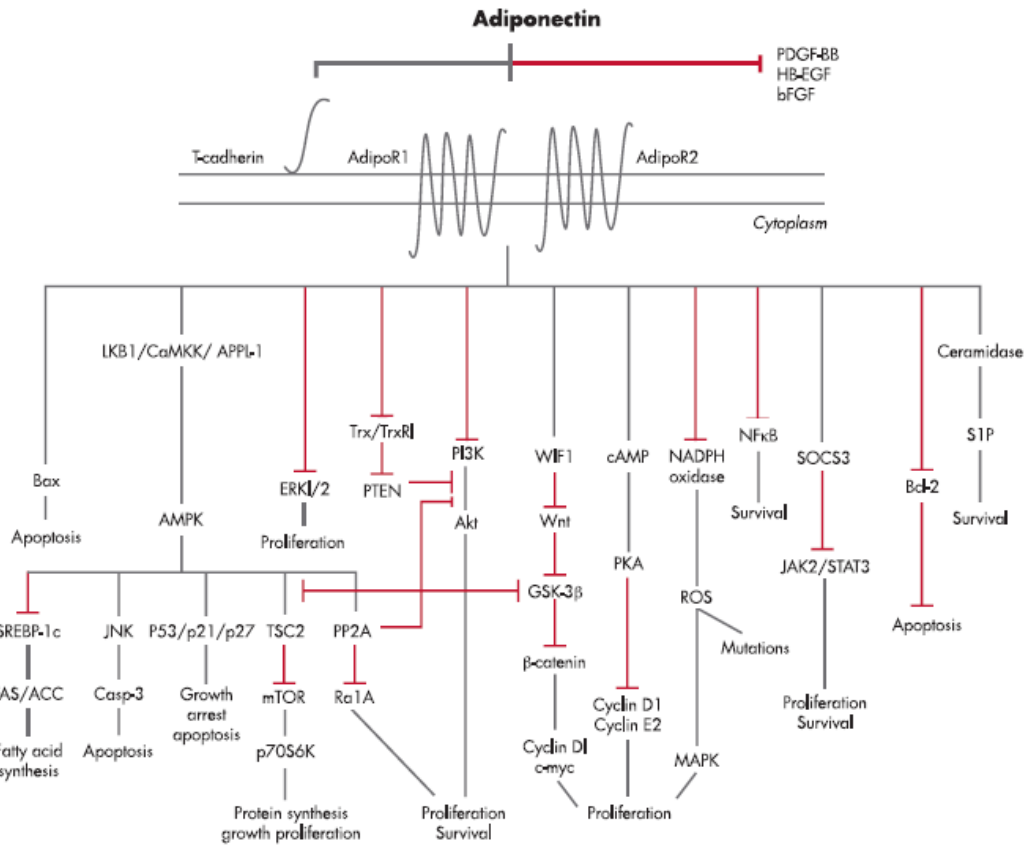
4.8.1. Adiponektin

Adiponektin kanser riski ile ilişkili bir adipokindir. Kanserin çeşitli tiplerinin gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir mediyatördür. Adipokinin dolaşımdaki seviyeleri diyabetli ve obezite ilişkili kanserli hastalarda azalmıştır (64). Adiponektin reseptörleri (Adipo R1/R2), azalma eğiliminde olan AMPK'yı aktive eden transmembran proteinleridir (65). Adiponektin duyarlılığının zayıfladığı obezitede (21), Adipo R1/R2 adiponektin reseptörlerinin ekspresyonu azalmıştır (66).

Epidemiyolojik çalışmalar, dolaşımdaki adiponektin seviyeleri ile KKK, endometrial kanser, özofagus kanseri, prostat kanseri ve meme kanseri riski arasında ters bir ilişki ileri sürmüşlerdir (65). Adiponektin, prostat ve kolon kanseri gibi obezite ilişkili kanser tiplerinin çoğunda büyümeyi negatif olarak etkilemiş ve meme kanseri ile ilişkili bir çalışmada, migrasyonda adiponektinin negatif bir etkisi olduğu bildirilmiştir (67).

Adiponektinin karsinogenezi inhibe ettiği mekanizmalar araştırılmış (Şekil 3) ve adiponektinin reseptörleri ile bağlanması sonucu, enerji durumuna yanıt olarak proliferasyonun önemli bir regülatörü olan AMPK'nın aktivasyonunu teşvik ederek birçok etkiyi bunun üzerinden gösterir. AMPK ise p21 ile p53 uyararak büyümenin durması ve apoptozisin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve aynı zamanda bir rapamisin memeli hedefi (mTOR) inhibitörü olup hücre çoğalmasını bastırır (67,31). Adiponektin KKK'daki etkinliğinden birisi de seramid ve sifingozin 1-fosfat (S1P) arasındaki dönüşüm yoluyla olduğu gösterilmiştir (68). Adipo R1/R2, seramidaz etkinliğini artırmaktadır (68,69).

Seramidaz aktivitesi seramidi, proliferasyonun güçlü bir indükleyicisi ve apoptozun inhibitörü olan S1P'ye dönüştürür. S1P'nin proliferatif etkilerinin aksine, aynı zamanda onun AMPK'yi aktive ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle seramidaz AMPK aktive eden S1P üreterek adiponektin işlevlerinin önemli bir başlatıcısıdır (69).



Şekil 3. Kanser teşvik yollarının adiponektin aracılı baskılanması modeli

Adiponektin seviyeleri ile çeşitli kanser tiplerinin riskleri arasındaki ters ilişkisi gösterilmiş olmasına rağmen (65), tümörigenezin bazı aşamalarında bu koruyucu etkisini gösterdiği düşünülmektedir. Landskroner-Eiger ve ark. tarafından tümörigenezde adiponektinin koruyucu etkilerinin gösterildiği çalışmada, adiponektinin kompleks bir rolünün olduğu tespit edilmiştir. Bu

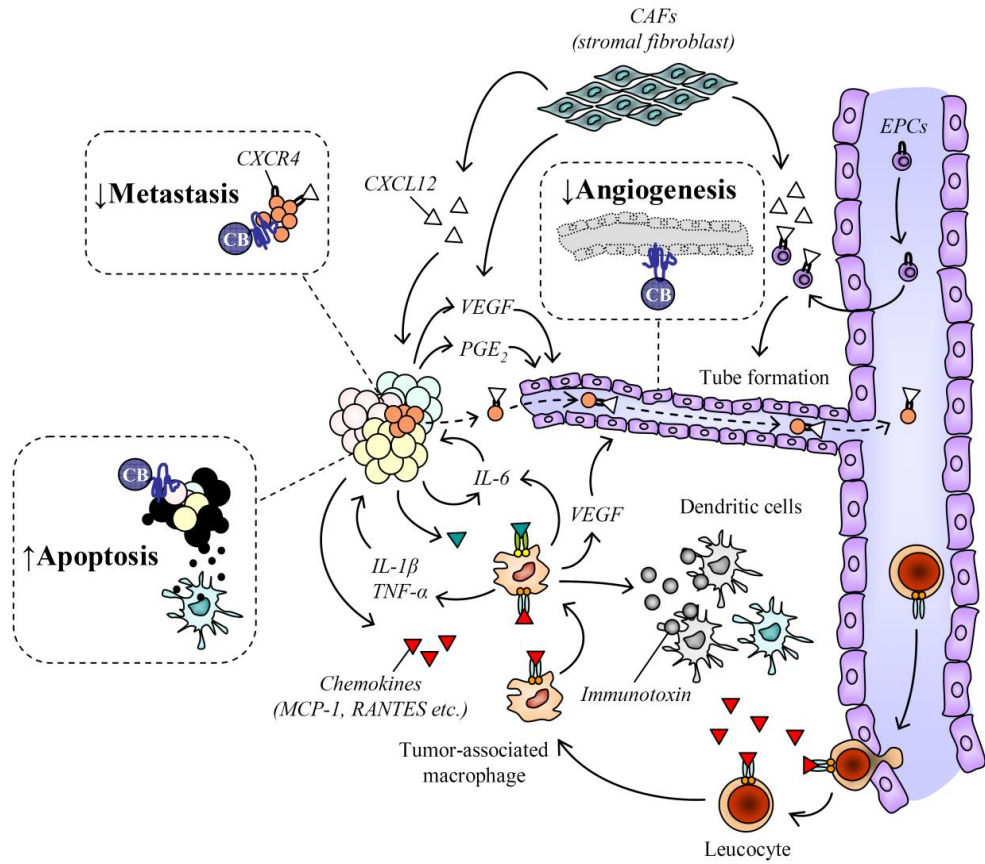
çalışmada, erken evre tümörlerde adiponektinin pro-anjiyogenik rolü gösterilmiş ve erken evrelerde adiponektin bifazik etkisi gösterilmiştir. Ancak geç dönemlerde böyle bir etki tespit edilememiştir (70).

4.8.2.MCP-1

Kemokinler, G-protein bağlı hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanarak immün hücrelerin göçünü düzenleyen küçük proinflamatuvar kemotaktik sitokinlerdir. Çalışmalarda kemokinler ve bunların reseptörlerinin tümör ilişkili anjiyogenezin düzenlenmesi, bir tümöre spesifik immün yanıtın aktivasyonu ve tümör hücrelerinin çoğalmasının uyarılması yoluyla kanserin başlaması ve ilerlemesinde rol oynadığını göstermiştir (71) (Şekil 4).

CC kemokin ailesi üyeleri, monosit, dentritik hücreler, natural killer (NK) hücreler ve T lenfositler için kemotaktik aktiviteye sahiptir (9). CC kemokin ailesine ait olan MCP-1, membran CC kemokin reseptörü 2 (CCR2) ye bağlanarak, monosit/makrofaj ve diğer inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu düzenler (72, 73). MCP-1, tümör ilişkili makrofajlar (TAM), endotelial hücreler ve fibroblastlar gibi hücreler tarafından sentez edilir (74). MCP-1 ekspresyonu, kanserde dahil olmak üzere inflamasyona bağımlı hastalıkların ilerlemesi sırasında dokuların çoğunda gözlenmiştir (10). MCP-1 ekspresyonu melanoma, over kanseri, akciğer, meme ve özofagus kanseri gibi çeşitli tümör tiplerinde rapor edilmiştir (75,76). Ancak KKK'da MCP-1'in biyolojik rolünü gösteren çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. CCR2, MCP-1 için önemli bir reseptördür ve bağışıklık sistemi hücreleri ve tümör hücrelerinde eksprese edilir (75).

TAM'lar, tümör ilerlemesinde kompleks işlevleri vardır. TAM'lar tümör büyümesini inhibe etmek için ve neoplastik hücreleri yok etmek üzere uyarılabilir. Aksine parakrin etkide TAM'lar, endotelial hücreleri de içeren diğer stromal hücreler ve tümör hücreleri için solübl mediyatörleri karşılıklı olarak üretebilir. Malign hücrelerde MCP-1 ekspresyonu tümör alanında TAM birikim miktarı ile ilişkilidir (77).



Şekil 4. Tümör gelişim ve metastazında inflamatuvar sitokinler, tümör-kaynaklı kemokinler (MCP-1 ve RANTES gibi) ve TAM'lar

MCP-1, artan neovaskularizasyon yoluyla tümörün invazyon ve metastazını geliştirebileceği gibi bunun aksine mikro çevresindeki duruma göre tümör hücrelerine karşı monositlerin sitostatik fonksiyonlarını da sitimüle edebilir

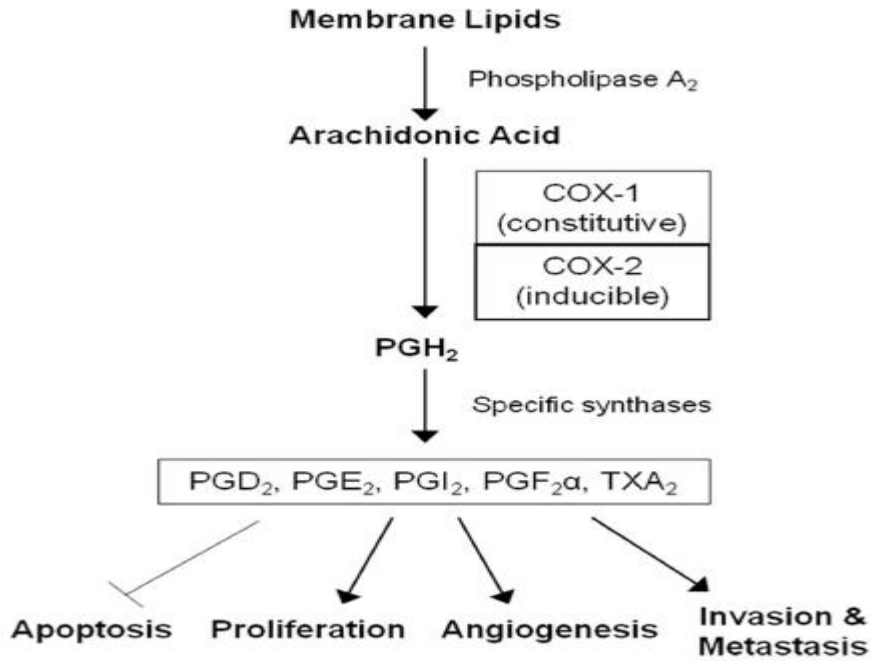
(78). CC kemokin ailesine ait hiçbir üyenin anjiyogeneze doğrudan etki ettiği ile ilgili kanıtlar bulunmamasına rağmen, MCP-1 çoğunlukla monositler üzerindeki kemotaktik etkisi ile anjiyogeneze katkı yaptığı ileri sürülen ilk CC kemokin üyesidir (79,80).

4.8.3.Sulindak

Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ); antipiretik, analjezik ve antiinflamatuvar etkilerinden dolayı artrit, romatizma gibi çeşitli inflamasyonlu hastalıkların tedavisinde en çok tercih edilen ilaçlardır. Ancak bu ilaçların gastrointestinal sistem (GİS) ve böbrekler üzerindeki yan etkileri NSAİİ'nin kullanılışlarını sınırlandırır (81). NSAİİ son yüzyılda çok kullanılmalarına rağmen 1971 yılında siklooksijenaz (COX) enziminin yapısı teşhis edilene kadar etki mekanizmaları tam olarak bilinmeyen ilaçlar olmuşlardır. 1990'a kadar siklooksijenazın tek tipinin olduğu düşünülmüş, takiben hızla ilerleyen çalışmalar ve moleküler biyoloji tekniklerinin bu alanda yaygın olarak kullanılmasıyla siklooksijenazın konstitütif ve indüklenbilir tip olmak üzere iki tipinin olduğu ortaya çıkmıştır. Konstitütif siklooksijenaza COX-1, indüklenbilir siklooksijenaza ise COX-2 adı verilmiştir. COX-1 ve COX-2 aynı reaksiyonları katalize etse de farklı yapı ve fonksiyonlara sahiptir (82, 83). NSAİİ farmakolojik etkileri şüphesiz karmaşıktır ve anjiyogenezis inhibisyonu gibi indirekt etkilerin yanı sıra apoptozisin indüklenmesi veya proliferasyonun baskılanması için tümör hücrelerinde direkt etkiye yol açan hem COX-bağımlı (Şekil 5) hem de COX-bağımsız etkileri de kapsamaktadır (84,85). Ancak bazı araştırmacılar, COX-bağımsız etkilerin, hedeflenenden farklı bir mekanizma ile ya antineoplastik aktivite için tamamen sorumlu ya da katkıda bulunabileceği şeklinde

tanımlamışlardır. Bir dizi COX-bağımsız etkiler 15-lipooksijenaz, Ras, PPAR, NF- κ B, PDK-1/Akt, fosfodiesteraz ve daha birçok mekanizma aracılığıyla rol oynamaktadır (86).

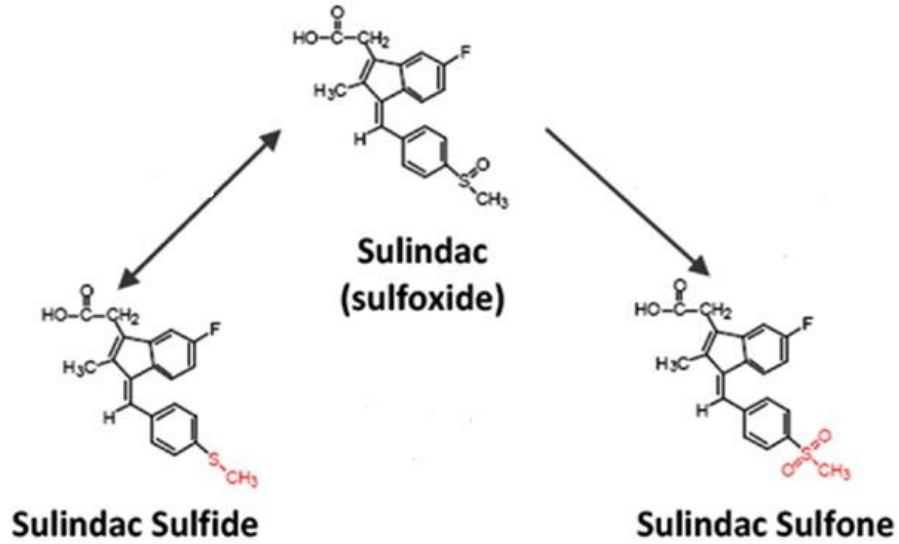
NSAİİ'lerin bilinen etki mekanizmaları: COX enzim inhibisyonu yoluyla prostaglandin (PG) sentezini azaltarak inflamasyonu baskılamak, Lizozomal membran stabilizasyonu, serbest oksijen radikallerinin inhibisyonu, lipooksijenaz inhibisyonu yoluyla lökotrienlerin sentezini azaltmak ve inflamatuvar hücrelerin baskılanması şeklindedir (87,88).



Şekil 5. Araşidonik asit kaskadı ve kanser gelişimi

Klinik çalışmalarda sulindak gibi bazı NSAİİ'nin ailesel yada sporadik adenomatöz polipozisli hastalarda, adenomların gerilemesine katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Sulindak'ın (sülfoksit),antiinflamatuvar aktivitesi sorumlu COX-1

ve COX-2 enzimlerini inhibe ederek bir sülfid'e metabolize olması ile gerçekleşir. Sülfoksitin oksidasyonu ile üretilen ve COX inhibe etmeyen sülfon metaboliti sulindacın antiinflamatuvar aktivitesine katkıda bulunmaz (Şekil 6) (85).



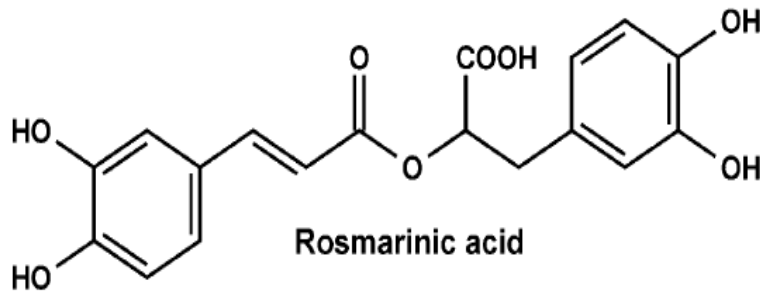
Şekil 6. Sulindac metabolizması

4.8.4. Rosmarinik asit

Oksidatif stres, KRK'nın etiolojisiyle de ilişkilidir. Uzun süre maruz kalınan ROT oksidatif stres oluşturmaktadır. ROT, DNA hasarı oluşturarak proliferasyonun artması, apoptozun inhibe edilmesi ve metastazı indüklemesi kabiliyetleri sayesinde tümör oluşturucu olarak kabul edilirler (89,90). Antioksidanların, karsinogenezisin başlangıç aşamasında hücreleri mutagenezden koruması daha belirgin olmasına rağmen, transforme edilmiş hücrelerin yok edilmesindeki rolü daha az belirgindir (91).

Apoptozis; gereksiz, yaşlı, hasar görmüş hücrelerin ortadan kaldırılmasında görevli önemli bir yoldur. Sadece doku homeostazının geliştirilmesi ve muhafaza edilmesinde rol oynamaz, aynı zamanda zararlı hücrelerin elimine edilmesinde etkin bir mekanizmadır (92,93). Apoptozis sinyalizasyonu ve kanser gelişimi için ara girdiler olarak ROT'un rolü çok sayıda araştırmalar tarafından desteklenmektedir (94,95).

Kemopreventif maddeler, tipik olarak normal hücrelerin pre malign hücrelere dönüşümünü, oksidatif hasardan hücre elemanlarının korumasını, ksenobiyotik biyotransformasyon ile ilişkili işlevleri modüle ederek premalign hücrelerin malign hücrelere ilerlemesini inhibe eden doğal ürünler ya da sentetik analoglardır (96). Kemopreventif etki gösteren polifenollerin, antioksidan aktiviteli önemli bitki bileşeni ve çeşitli yararlı biyolojik etkileri vardır (97). Rosmarinik asit (RA) (Şekil 7), Lamiaceae (ballıbabagiller) ailesi bitkilerinde bol olarak bulunan, doğal olarak oluşan polifenoldür (98).



Şekil 7. Rosmarinik asitin yapısı

Rosmarinik asit, ticari biberiye (Avrupa ve ABD'de gıda işleminde antioksidan olarak kullanımı için temin edilebilecek tek baharattır) ekstraktlarının yüksek antioksidan aktivitesinden sorumlu başlıca bileşenlerinden biridir. Ayrıca

adaçayı, fesleğen, nane, melisa, biberiye, keklik otu, kekik ve lavantada bulunur. RA'nın biyolojik aktiviteleri ve potansiyel uygulamaları yaygın olarak incelenmiştir. RA'nın antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, antimitojen, antibakteriyel, antialerjik, hepatoprotektif ve nöroprotektif etkileri gösterilmiştir, aynı zamanda trombin aktivitesini inhibe ettiği ve apoptoza neden olduğu bilinmektedir (98, 99). Diğer polifenolik karboksilik asitler ile RA içeren *prunella vulgaris*'in bir ekstraktı farelere implante edildiğinde, lewis akciğer tümörü hücrelerinin büyümesini inhibe etmiştir. Buna da ek olarak *perilla frutescens* ekstraktının topikal uygulaması ile bir kemirgene ait cilt kanseri modelinde tümör oluşumunun azalması RA varlığı ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır. RA'nın tek olarak uygulandığı in vitro MDA-MB-231BO kemik metastazlı meme kanseri hücrelerinin göç yeteneklerine karşı koruyucu bir etki göstermiştir (98).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1.GEREÇ

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (FÜHADEK) 01.03.2012 tarih ve 38 sayılı kararı ile Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde (FÜDAM) 1983 Helsinky deklarasyonunda bildirilen “hayvanlarda bilimsel çalışmalar için etik kurallar”ına uyularak yapıldı.

Deneyde 8 haftalık 42 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar, araştırma süresince 19-21°C sabit sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık/karanlık dönemlerin bulunduğu özel hazırlanmış, otomatik olarak klimatize edilen odalarda 4'erli ve 3'erli gruplar halinde özel kafeslerde korundu. Modifiye pellet cinsi yem (standart rat yemine %15,8 fıstık yağı eklenerek) ile beslendi (Tablo 6).

Tablo 6. Standart rat yemi

Yem Bileşimi	
Su (en çok)	% 12
Ham protein (en az)	% 24
Ham selüloz (en çok)	% 7
Ham kül (en çok)	% 8
HCl'de çözünmeyen kül (en çok)	% 2
NaCl (en çok)	% 1
Mineral Karması *	% 1.25
Vitamin Karması **	% 1.25
Metabolik enerji	2650 kcal/kg

* Mineral Karması: Kalsiyum (%1-2,8), Fosfor (%0,9), Sodyum (%0,5-0,7), Mangan (10 mg/kg), Çinko (4 mg/kg).

** Vitamin Karması: Vitamin A (300 IU/kg), Vit. D₃ (1000 IU/kg), Vit. E (60 mg/kg), Vit. B₂ (4 mg/kg).

Yapılan çalışmalarda kolorektal kansere bağlı sıçan ölüm oranları (bu oranlar çalışmalarda farklı olmakla birlikte en yüksek %53 ölüm oranı bildiren araştırma baz alındı) göz önünde bulundurularak sayılar yüksek tutulmuştur (100). Deney tamamlandığında her bir grupta 6 sıçan kalacağı düşünülerek çalışmamız, kontrol grubunda 6 ve diğer gruplarda 8 sıçan olacak şekilde 3 grup üzerinde planlandı. Bir haftalık uyum süresinin sonunda sıçanların kiloları ölçülerek deneye başlandı. Deney süresince hayvanlar günlük olarak kontrol edildi ve haftalık kilo takibi yapıldı. Ayrıca genel morfolojik görünümleri (tüy dökülmesi, dışkılama bozuklukları ve anal lezyonlar açısından) makroskobik olarak değerlendirildi.

AOM ile deneysel kolon kanseri oluşturulmasına ilişkin çalışmalar çok uzun yıllardır devam etmektedir. Yapılan bu çalışmalarda ilaç dozu, ilacın verililiş yolu, uygulama süresi ve uygulama süresinin bitimini takiben başlayan kanser gelişim sürecinin izlendiği bekleme süresi açısından farklı protokoller uygulanmıştır. Bissahoyo ve ark. 10 mg/kg AOM'un haftada birkez 4 hafta boyunca farelere uygulanmasının maksimum olarak tümörü indükleyeceği bildirmiştir (19). Kobæk-Larsen ve ark. 15 mg/kg AOM'un haftada birkez 6 hafta boyunca sıçanlara uygulanması ve ilk enjeksiyondan 20-38 hafta sonra sakrifiye edilen sıçanlarda %100 tümör oluşumu bildirmiştir (101). Papanikolaou ve ark. 10 mg/kg AOM'un haftada birkez 6 hafta boyunca farelere uygulandıktan sonra ilk enjeksiyondan 30 hafta sonra sakrifiye edilen farelerde kolorektal kanser insidansının yüksek olduğu bildirmiştir (102). Yapılan bazı çalışmalarda 20 mg/kg AOM'un uygulandığı farelerde AOM toksik etki göstermiştir (19,103).

Bütün bu bilgiler ışığında çalışmamızda AOM'a ait protokolü şu şekilde belirledik; 4 hafta boyunca i.p. yoldan 15 mg/kg dozda AOM haftada birkez enjekte edildi. AOM uygulamaları esnasında hayvanları irrite etmemek ve enfeksiyon gelişimini önlemek amacıyla her hayvan için ayrı bir insülin enjektörü kullanıldı. İlk AOM enjeksiyonunu takiben 30 hafta, tümoral dönüşüm için beklenen latent dönem olarak belirlendi ve bu sürenin sonunda (30. haftanın bitiminde) sıçanlar sakrifiye edilerek alınan kan ve doku örneklerinden biyokimyasal ve histopatolojik incelemeler yapıldı.

5.1.1. Kullanılan Kimyasalların Hazırlanışı

AOM (Sigma, St. Louis, MO, ABD), izotonik sodyum klorür solüsyonu (0,9 gr/100 ml) içinde çözülüp, i.p. enjeksiyondan hemen önce taze olarak hazırlandı (104).

Rosmarinik asit (Sigma, St. Louis, MO, ABD), distile su içinde çözülüp, oral uygulamadan hemen önce taze olarak hazırlandı (5 mg/kg) ve 8 milimetrelik (mm) orogastrik sonda aracılığıyla gavaj yoluyla hayvanlara verildi. Bu uygulama esnasında hayvanları irrite etmemek ve uygulama kolaylığı sağlamak amacıyla sıçanlarda eter inhalasyonu yoluyla kısa süreli bir sedasyon oluşturuldu (105).

Fıstık yağı, %100 doğal fıstık yağı 8 milimetrelik (mm) orogastrik sonda aracılığıyla gavaj yoluyla hayvanlara verildi. Bu uygulama esnasında hayvanları irrite etmemek ve uygulama kolaylığı sağlamak amacıyla sıçanlarda eter inhalasyonu yoluyla kısa süreli bir sedasyon oluşturuldu.

5.1.2.Deney grupları

Bir haftalık bekleme süresi sırasında 13 tane sıçan öldüğünden sulindak grupları değerlendirmeye alınamadı. Bu haftadan sonra çalışmaya kontrol grubunda 12, azoksimetan grubunda 8 ve azoksimetan+rosmarinik asit grubunda 9 sıçan olarak devam edildi. Çalışma sonunda toplam 28 hayvan değerlendirmeye alındı (azoksimetan+rosmarinik asit grubundan 1 sıçan kaybedildi).

Grup 1 (kontrol grubu):Bu grup 30 hafta boyunca sadece modifiye diyet ile beslendi. Beslenme ortamına uyum sağlandıktan sonraki ikinci haftadan itibaren 4 hafta boyunca haftada bir kez olmak üzere i.p. %0,9'luk salin enjeksiyonu yapıldı, süre bitiminde (30 hafta sonunda) sakrifiye edildi.

Grup 2 (AOM):Bu gruptaki sıçanlara modifiye diyet ek olarak ikinci haftadan itibaren 4 hafta, haftada bir kez olmak üzere i.p. 15 mg/kg azoksimetan (AOM) enjekte edilerek deneysel kolon kanseri oluşturuldu. Latent dönem bitiminde (30 hafta sonunda) sakrifiye edildi.

Grup 3 (AOM+rosmarinik asit):Bu gruba modifiye diyet ek olarak ikinci haftadan itibaren 4 hafta boyunca haftada bir kez olmak üzere i.p. 15 mg/kg azoksimetan (AOM) enjekte edilerek deneysel kolon kanseri oluşturuldu. 30 hafta boyunca ikinci haftadan itibaren 5 mg/kg rosmarinik asit orogastrik sonda aracılığıyla gavaj yoluyla hayvanlara verildi, süre bitiminde (30 hafta sonunda) sakrifiye edildi.

5.1.3.Örneklerin Alınması ve Hazırlanması

Deney süresi sonunda hayvanlar steril aletler kullanılarak sakrifiye edildi, kan örnekleri analizler için uygun olacak şekilde EDTA'lı tüplere alındı. Alınan kanlar 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek (Heraeus Biofuge Stratos; Kendo Laboratory Products, Osterode-Germany) plazmaları ayrıldı. Ayrılan plazmalar eppendorf tüplere porsiyonlanarak -80°C'de saklandı.

Histopatolojik ve biyokimyasal analizler için hayvanların abdominal kaviterleri açılarak, karın bölgesindeki organlar sağ tarafa doğru uzaklaştırıldı ve kolona ulaşıldı. Daha sonra çekum bulunarak bu hizadan itibaren rektosigmoid bileşkeye kadar kolon ve devamında da rektum ince bir makas yardımı ile diseke edildi. İki eşit parçaya ayrılan dokuların ilk kısmı histopatolojik inceleme için derhal %10'luk formaldehit içine alındı. Diğer kısım biyokimyasal değerlendirmeler için %0,9'luk soğuk (+4°C) sodyum klorür (NaCl) ile yıkandı ve kurutma kâğıdı ile kurutuldu. Daha sonra dokular homojenizatör ile (Ultra Turrax Type T25-B, IKA Labortechnik, Germany) 0,15 M'lık KCl çözeltisi içinde (1:9,w:v), 16000 rpm'de 3 dakika homojenize edildi. Homojenizasyon bir buz kabının içerisinde gerçekleştirildi. Homojenat 5000xg'de 1 saat (+4°C'de) santrifüjlenerek süpernatantları ayrıldı ve analiz zamanına kadar (1 hafta) -40 °C'de bekletildi. TAS, TOS, MCP-1 ve Adiponektin seviyeleri süpernatantta kendilerine uygun metodlarla tayin edildi.

5.2. YÖNTEM

5.2.1. Enzim-Bağlı İmmün Assay Yönteminin Prensibi

Enzim-bağlı immün assay (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)) yöntemi, serum ve doku homojenatlarında araştırılan maddelerin (antijen) spesifik antikor molekülleri ile kompleks oluşturmaları prensibine bağlıdır. Benzer amaçla kullanılan radioimmunoassay (RIA) yönteminden farklı olarak ELISA yönteminde radyoaktif işaretleyiciler yerine spesifik enzimler kullanılmaktadır. Alkalen fosfataz ve Horseradish Peroksidaz (HRP) çalışmalarda yaygın olarak kullanılan enzimlerdir. ELISA ile RIA yöntemleri karşılaştırıldığında; radyoaktivite tehlikesi olmaması, otomasyona uygun oluşu ve çalışma süresinin daha kısa oluşu ELISA yöntemini daha üstün hale getirmektedir. Analiz aşaması antijenin pleyt yüzeyine (Sorbent) absorbe edilmesiyle başlamaktadır. Antijenin spesifik (özgül) antikoru ile reaksiyona girmesi immunasyon sağlanmaktadır. Bu kompleks antikor (primer antikor) kısmından enzim bağlanmış ikinci bir antikor (sekonder antikor) ile reaksiyona sokulmaktadır (Enzyme-Linked). Substrat renkli ürün oluşturacak şekilde mevcut kompleks içerisindeki enzim ile reaksiyona girmektedir. Elde edilen bu renkli son ürün kompleksi ELISA sayacında okutularak konsantrasyon hesaplanır (Assay) (106).

5.2.2. MCP-1 Düzeylerinin Ölçümü

MCP-1 düzeyleri, sıçan MCP-1-ELISA kiti (Rat monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1/MCAF) Elisa kit, Sunred Biological Technology Company,

katalog no: 201-11-0119) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Plate yıkamalarında ise otomatik yıkayıcı olarak Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) kullanıldı. Sonuçlar pg/ml olarak belirtildi. Ölçüm aralığı 3-700 pg/ml idi.

5.2.3. Adiponektin Düzeylerinin Ölçümü

Adiponektin düzeyleri, sıçan Adiponektin-ELISA kiti (AssayMax Rat Adiponectin ELISA Kit, Assaypro company, USA, katalog no: ERA2500-1) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Plate yıkamalarında ise otomatik yıkayıcı olarak Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) kullanıldı. Sonuçlar ng/ml olarak belirtildi. Minimum ölçüm miktarı 1,5 ng/ml idi.

5.2.4. TAS Düzeylerinin Ölçümü

TAS düzeyleri Fırat Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda otoanalizörle (Siemens Advia 2400 Chemistry System, Siemens, Tokyo, Japonya) Rel Assay Total Antioxidant StatusTest Kiti kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar mmolTrolox Equiv./L olarak belirtildi.

5.2.5. TOS Düzeylerinin Ölçümü

TOS düzeyleri Fırat Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda otoanalizörle (Siemens Advia 2400 Chemistry System, Siemens, Tokyo, Japonya) Rel Assay Total Oxidant Status Test Kiti kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L olarak belirtildi.

5.2.6. Histopatolojik İnceleme

Kolorektal doku incelenmek üzere bölümlere ayrıldı. Sonra parafin bloklar hazırlanarak mikrotomda 5 μm kalınlığında seri kesitler alındı. Daha sonra histolojik kesitler, hematoksilin-eozin (HE) ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi. Lezyonlar Olympus BX-51 ışık mikroskobu ile incelendi.

5.3. İstatistiksel Analizler

Tüm istatistiksel analizler SPSS 22,0 istatistiksel paket yazılımı ile gerçekleştirildi. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve ardından çoklu karşılaştırma yöntemlerinden LSD testi kullanıldı. $p < 0,05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

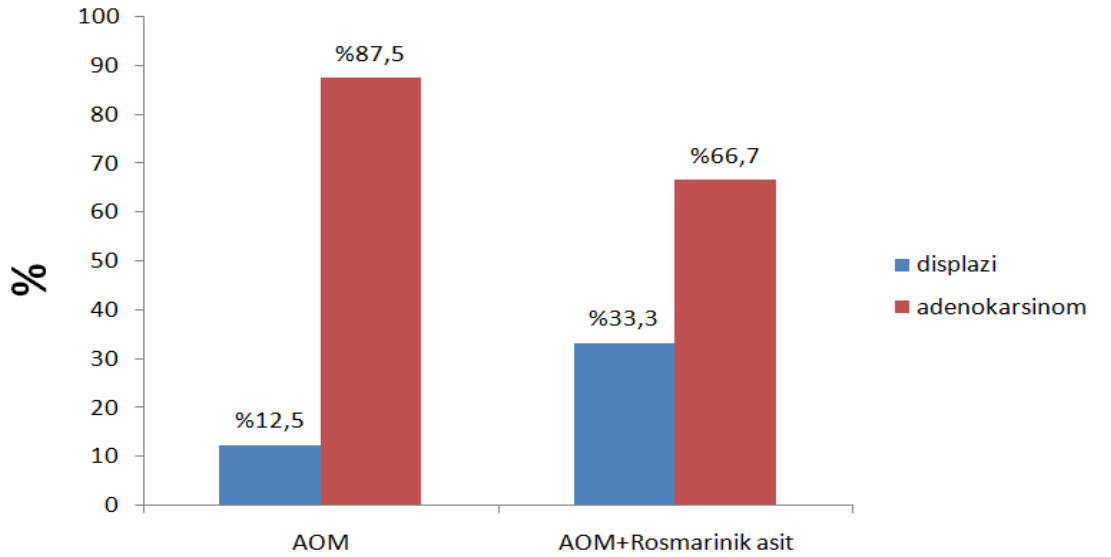
6. BULGULAR

6.1. Histopatolojik değerlendirme

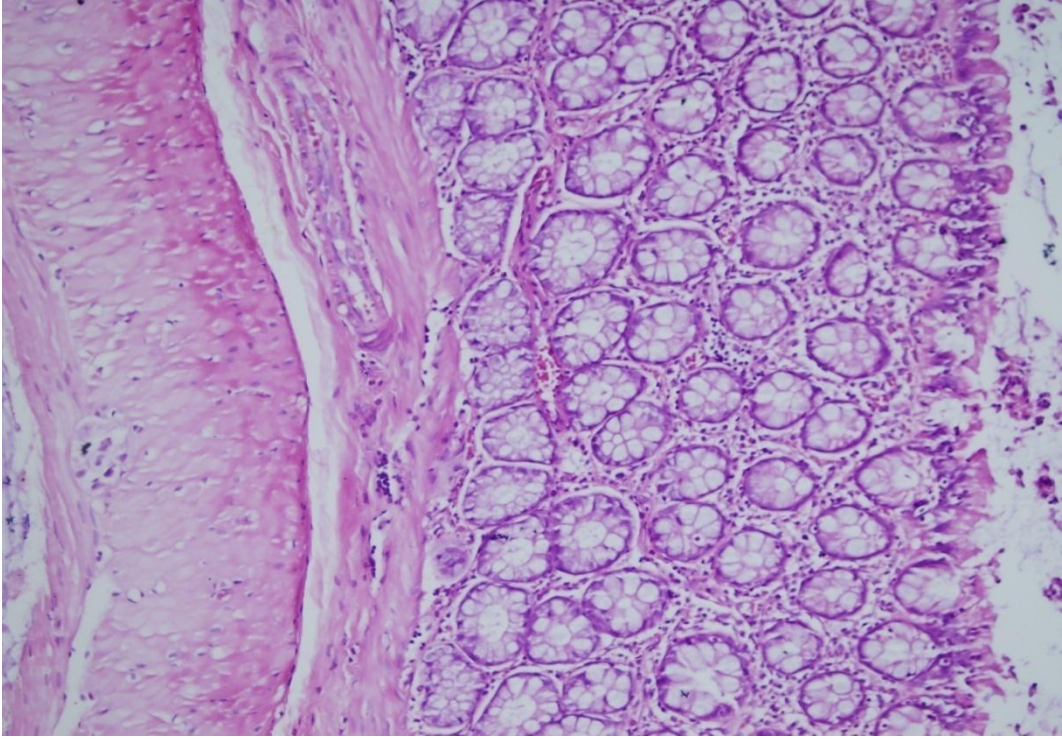
Kontrol grubundaki hayvanlarda herhangi bir patolojik lezyon tespit edilmedi, kontroller normal olarak değerlendirildi.

AOM verilen sıçanları histopatolojik olarak değerlendirdiğimizde değişen derecelerde displazi %12,5'inde (1 tane), adenokarsinom ise sıçanların %87,5'inde (7 tane) olduğu tespit edildi. AOM verilen bütün hayvanlar tümöral gelişim gösterdi.

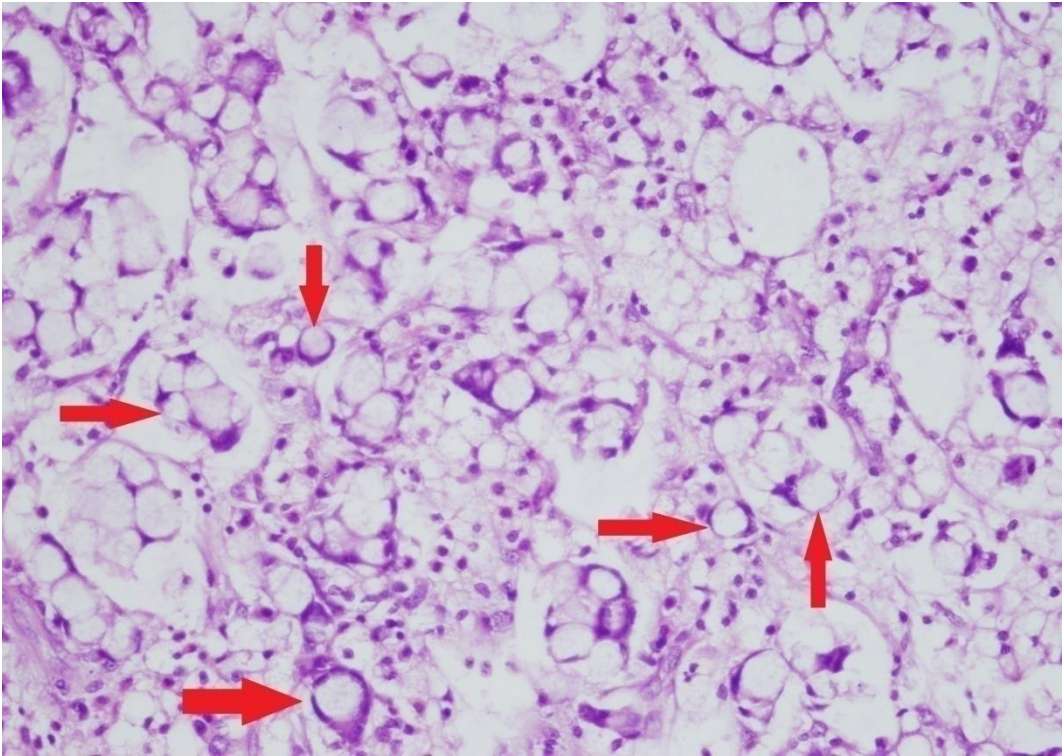
AOM+Rosmarinik asit verilen grup histopatolojik olarak değerlendirdiğimizde değişen derecelerde displazi %33,3'ünde (3 tane), adenokarsinom ise sıçanların %66,7'sinde (6 tane) olduğu tespit edildi (Şekil 8).



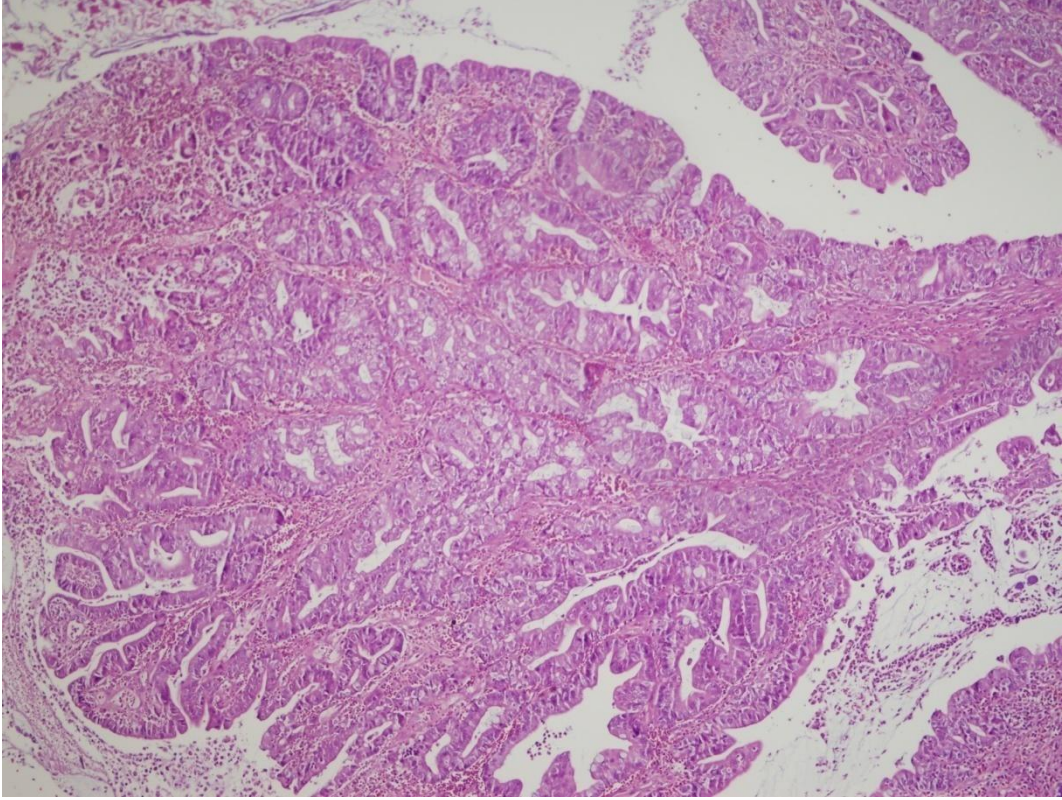
Şekil 8. Gruplara ait histopatolojik lezyon oranları



Şekil 9. Kontrol Grubunda kolonda normal histopatolojik görünüm. (HE). (x200).



Şekil 10. AOM Grubunda kolonda müsinöz adenokarsinoma ait taşlı-yüzük hücreleri ve zeminde müsinin histopatolojik görünümü. (HE). (x400).

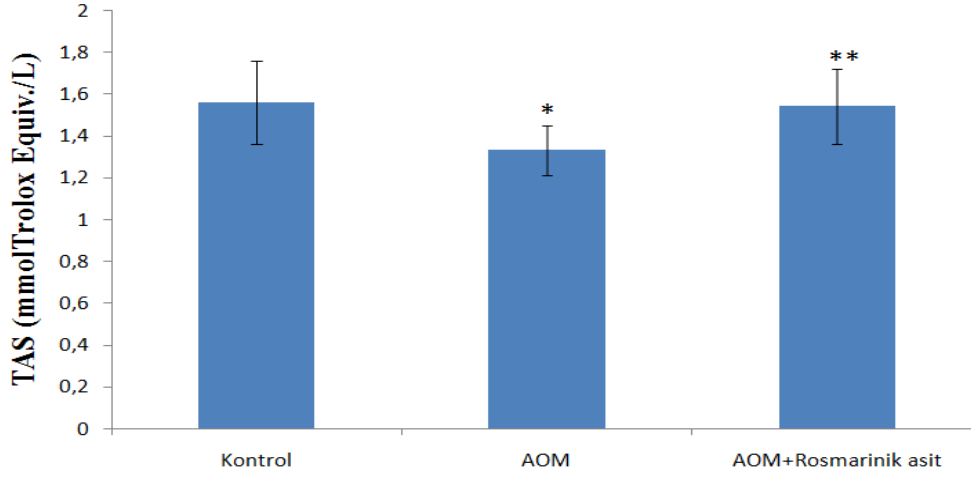


Şekil 11. AOM Grubunda kolonda adenokarsinoma aithistopatolojik görünüm. (HE). (x400).

6.2. Biyokimyasal Değerlendirmeler

6.2.1. Plazma TAS düzeyleri

TAS düzeyleri AOM grubunda ($1,33 \pm 0,12$ mmolTrolox Equiv./L) kontrol grubuna göre ($1,56 \pm 0,20$ mmolTrolox Equiv./L) istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük tespit edildi ($p < 0,05$). AOM grubu ile AOM+Rosmarinik asit ($1,54 \pm 0,18$ mmolTrolox Equiv./L) grubu karşılaştırıldığında TAS düzeylerinde istatistiksel anlamlı yükselme tespit edildi ($p = 0,021$) (Şekil 12, Tablo 7).

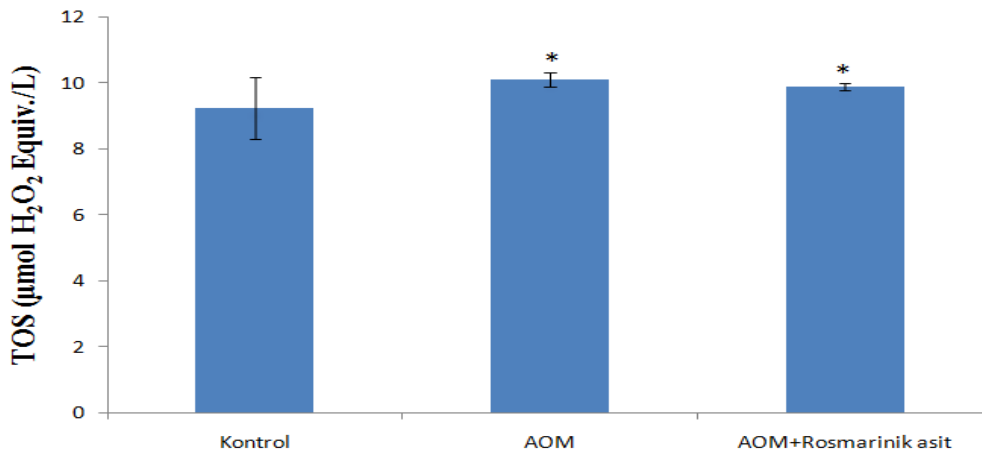


Şekil 12. Gruplara ait plazma TAS düzeyleri

*p<0,05: kontrolle karşılaştırma, **p<0,05: AOM grubu ile karşılaştırma

6.2.2. Plazma TOS düzeyleri

TOS düzeyleri AOM grubunda ($10,11 \pm 0,21$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L) kontrol grubuna göre ($9,26 \pm 0,94$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L) istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek tespit edildi ($p < 0,05$). AOM grubu ile AOM+Rosmarinik asit ($9,90 \pm 0,11$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L) grubu karşılaştırıldığında TOS düzeylerinde düşüş olmasına rağmen istatistiksel anlamlı değildi ($p = 0,489$) (Şekil 13, Tablo 7).

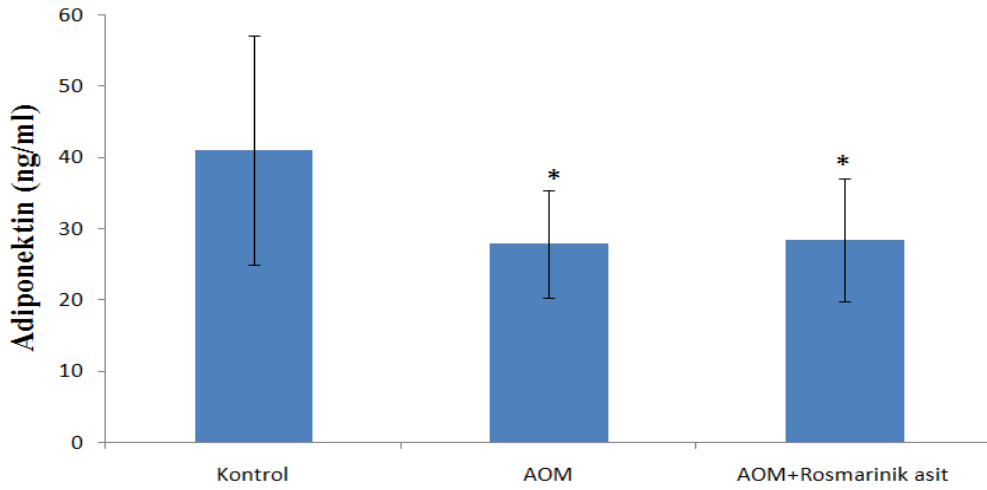


Şekil 13. Gruplara ait plazma TOS düzeyleri

*p<0,05: kontrolle karşılaştırma

6.2.3. Plazma ADİPONEKTİN düzeyleri

Adiponektin düzeyleri AOM grubunda ($27,78 \pm 7,60$ ng/ml) kontrol grubuna göre ($41,00 \pm 16,03$ ng/ml) istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük tespit edildi ($p < 0,05$). AOM grubu ile AOM+Rosmarinik asit ($28,32 \pm 8,65$ ng/ml) grubu karşılaştırıldığında adiponektin düzeylerindeki artış istatistiksel anlamlı değildi ($p = 0,925$) (Şekil 14, Tablo 7).

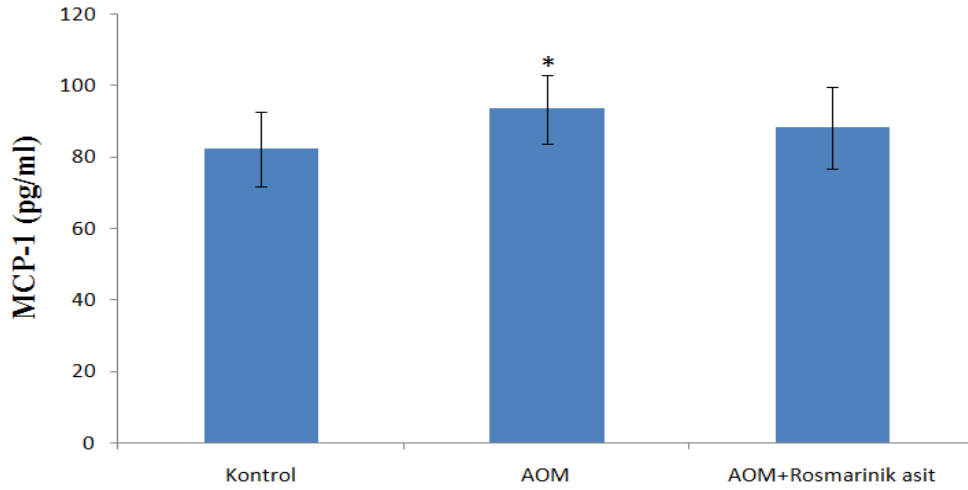


Şekil 14. Gruplara ait plazma Adiponektin düzeyleri

* $p < 0,05$: kontrolle karşılaştırma

6.2.4. Plazma MCP-1 düzeyleri

MCP-1 düzeyleri AOM grubunda ($93,37 \pm 9,64$ pg/ml) kontrol grubuna göre ($82,06 \pm 10,35$ pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek tespit edildi ($p < 0,05$). AOM grubu ile AOM+Rosmarinik asit ($88,19 \pm 11,41$ pg/ml) grubu karşılaştırıldığında MCP-1 düzeylerinde düşüş olmasına rağmen istatistiksel anlamlı değildi ($p = 0,333$) (Şekil 15, Tablo 7).



Şekil 15. Gruplara ait plazma MCP-1 düzeyleri

*p<0,05: kontrolle karşılaştırma

Tablo 7. Gruplara ait plazma TAS, TOS, Adiponektin, MCP-1 düzeyleri

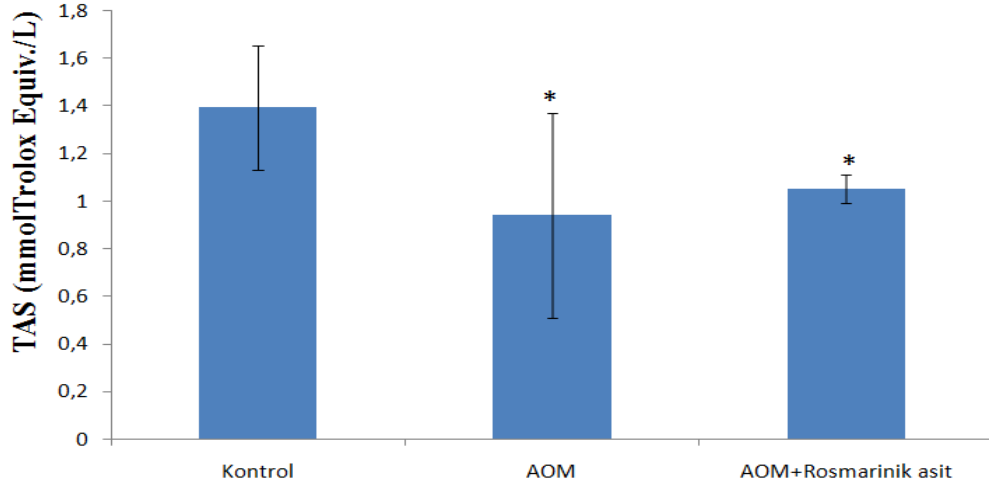
PLAZMA	Kontrol	AOM	AOM+RA
TAS (mmolTrolox Equiv./L)	1,56±0,20	1,33±0,12 ^a	1,54±0,18 ^c
TOS (µmol H ₂ O ₂ Equiv./L)	9,26±0,94	10,11±0,21 ^a	9,90±0,11 ^b
Adiponektin (ng/ml)	41,00±16,03	27,78±7,60 ^b	28,32±8,65 ^b
MCP-1 (pg/ml)	82,06±10,35	93,37±9,64 ^b	88,19±11,41

^ap<0,01 kontrolle karşılaştırma ^bp<0,05 kontrolle karşılaştırma

^cp<0,05 AOM ile karşılaştırma

6.2.5. Doku TAS düzeyleri

TAS düzeyleri AOM grubunda (0,94±0,43 mmolTrolox Equiv./L) kontrol grubuna göre (1,39±0,26 mmolTrolox Equiv./L) istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük tespit edildi (p<0,05). AOM grubu ile AOM+Rosmarinik asit (1,05±0,06 mmolTrolox Equiv./L) grubu karşılaştırıldığında TAS düzeylerindeki değişim istatistiksel anlamlı değildi (p=0,447) (Şekil 16, Tablo 8).

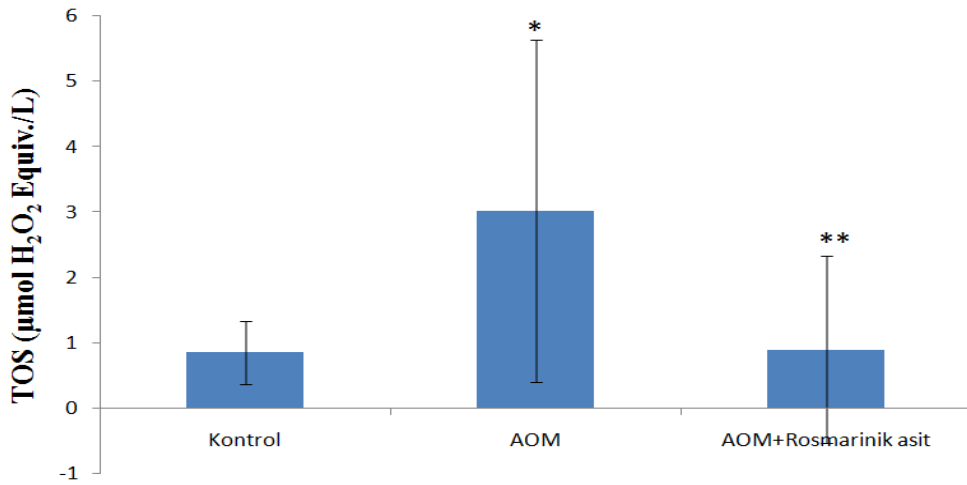


Şekil 16. Gruplara ait doku TAS düzeyleri

*p<0,05: kontrolle karşılaştırma

6.2.6. Doku TOS düzeyleri

TOS düzeyleri AOM grubunda ($3,02 \pm 2,62 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$) kontrol grubuna göre ($0,85 \pm 0,48 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek tespit edildi ($p < 0,05$). AOM grubu ile AOM+Rosmarinik asit ($0,89 \pm 1,43 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$) grubu karşılaştırıldığında TOS düzeylerinde istatistiksel anlamlı düşüş tespit edildi ($p = 0,020$) (Şekil 17, Tablo 8).

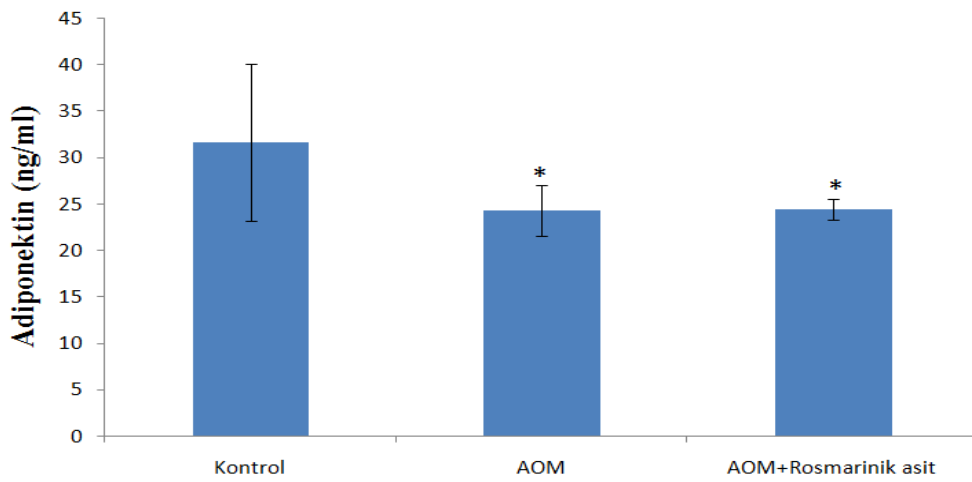


Şekil 17. Gruplara ait doku TOS düzeyleri

*p<0,05: kontrolle karşılaştırma; **p<0,05: AOM grubu ile karşılaştırma

6.2.7. Doku Adiponektin düzeyleri

Adiponektin düzeyleri AOM grubunda ($24,28 \pm 2,75$ ng/ml) kontrol grubuna göre ($31,56 \pm 8,46$ ng/ml) istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük tespit edildi ($p < 0,05$). AOM grubu ile AOM+Rosmarinik asit ($24,37 \pm 1,15$ ng/ml) grubu karşılaştırıldığında adiponektin düzeylerindeki artış istatistiksel anlamlı değildi ($p = 0,978$) (Şekil 18, Tablo 8).

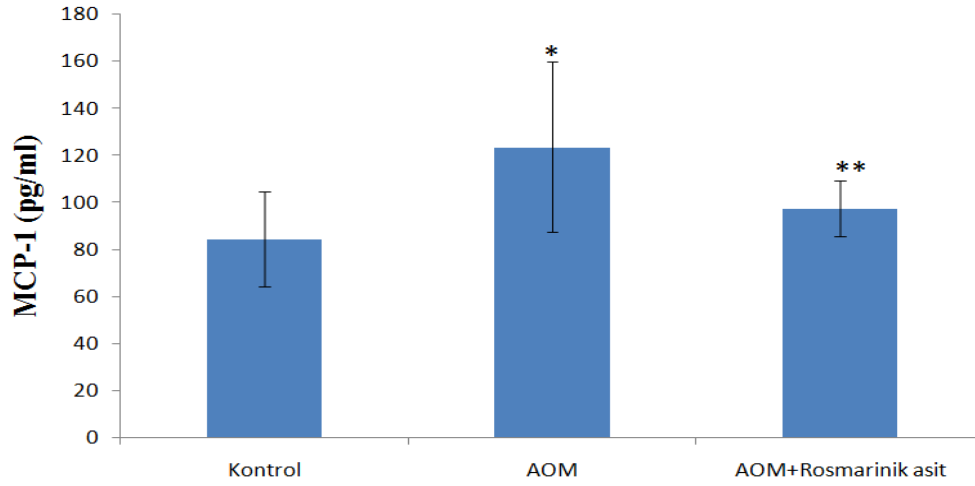


Şekil 18. Gruplara ait doku Adiponektin düzeyleri

* $p < 0,05$: kontrolle karşılaştırma

6.2.8. Doku MCP-1 düzeyleri

MCP-1 düzeyleri AOM grubunda ($123,52 \pm 36,14$ pg/ml) kontrol grubuna göre ($84,58 \pm 20,23$ pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek tespit edildi ($p < 0,05$). AOM grubu ile AOM+Rosmarinik asit ($97,43 \pm 11,94$ pg/ml) grubu karşılaştırıldığında MCP-1 düzeylerinde istatistiksel anlamlı düşüş tespit edildi ($p = 0,036$) (Şekil 19, Tablo 8).



Şekil 19. Gruplara ait doku MCP-1 düzeyleri

*p<0,05: kontrolle karşılaştırma; **p<0,05: AOM grubu ile karşılaştırma

Tablo 8. Gruplara ait dokuTAS, TOS, Adiponektin, MCP-1 düzeyleri

DOKU	Kontrol	AOM	AOM+RA
TAS(mmolTrolox Equiv./L)	1,39±0,26	0,94±0,43 ^a	1,05±0,06 ^b
TOS (µmol H ₂ O ₂ Equiv./L)	0,85±0,48	3,02±2,62 ^b	0,89±1,43 ^c
Adiponektin (ng/ml)	31,56±8,46	24,28±2,75 ^b	24,37±1,15 ^b
MCP-1(pg/ml)	84,58±20,23	123,52±36,14 ^a	97,43±11,94 ^c

^ap<0,005 kontrolle karşılaştırma ^bp<0,05 kontrolle karşılaştırma

^cp<0,05 AOM ile karşılaştırma

7. TARTIŞMA

Global onkolojik problemler arasında kolorektal kanser üçüncü sırada bulunmaktadır. Halen ABD’de KRK, kanser ölümlerinin önde gelen nedenidir ve Asya-Pasifik bölgesinde en hızlı gelişen gastrointestinal kanserdir (107).

Kolon kanseri gelişim mekanizmasını anlamak ve tedaviye yönelik yeni stratejiler geliştirmek oldukça önemlidir. Günümüzde KRK’nın moleküler ve biyolojik özelliklerinin araştırılması sayesinde kanserogenezis daha ayrıntılı bilinmektedir. KRK’nın gelişim sürecinin erken evrelerinde teşhis edilmeleri tedavileri açısından daha olumlu olacaktır.

Kolorektal kanser, normal glandüler epitelin invaziv kansere değişim gösterdiği genetik ve epigenetik değişikliklerin birikimidir. Kolorektal kanser patogenezinde genomik ve epigenomik instabilite kadar, hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptozis, immortalizasyon, anjiogenezis ve invazyon gibi karsinogenezisde kritik olayları düzenleyen çok özel genlerin mutasyonları ve bunun sonucu değişen sinyal yolları da önemli yer tutar (108). APC, K-ras, DCC, p53, Smad4, MTG ve daha birçok gen KRK’da sıklıkla mutasyona uğramaktadır (43).

Sinyal yolları ve genlerdeki değişiklikler sonucu oluşan kanser hücresi, immün sistemden kaçma, kontrolsüz çoğalma, apoptozisin inhibisyonu ve anjiyogenezin indüklenmesi, invazyon ve metastaz yapabilme kabiliyetine sahip normal hücrelerden farklı özellikler gösterirler. Kanser oluşumu ve ilerlemesinin işaretçileri olan mutant genler, değiştirilmiş yollar ve farklılaşmış hücrelere

karşı terapötik hedefler belirlenmiş ve çalışmalar yapılmış ve halen bu çalışmalar yapılmaktadır (109).

Çeşitli faktörlerle uyarılan kronik inflamasyon, insanlarda değişik türlerdeki kanserlerin artışıyla ilişkilidir. Kronik inflamasyon hücreler dengede düzensizliklere, normal hücrelerde büyüme ve maligniteye ilerleyişin başlamasına, değişik türlerde DNA hasar ürünleri oluşmasına, DNA onarım mekanizmalarının yetersizliğine, proinflamatuvar sitokinlerin artışı ve hasarlanmış hücrelerin apoptozis hızında azalmaya neden olmaktadır. Kronik inflamasyonda uzun süreli oksidatif stres vardır. Kolorektal kanser gelişiminde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Oksidatif stres, doku veya hücrede oluşan ROT'un konsantrasyonunun antioksidan kapasiteyi aşması olarak tanımlanır. ROT, reaktif nitrojen türleri (RNT) ve lipid peroksidasyon ürünleri inflamasyon ve karsinogenez sürecinde rol oynarlar (90,110,111).

Kolonda lümen mukozası sürekli ROT'un etkisine maruz kalmaktadır. Bu maruziyet okside gıda artıklarından, yüksek düzeyde demir iyonlarından, oksidanlardan, toksinlerden, bakterilerden ve safra asitlerinden kaynaklanmaktadır. ROT ayrıca sitozolik kalsiyum konsantrasyonunun düzenlenmesi, protein fosforilasyonunun düzenlenmesi ve NF- κ B ve AP-1 faktör ailesi gibi bazı transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunda rol alır (111).

Çalışmamızda kanserojen olarak kullandığımız azoksimetan (AOM), 1,2 dimetilhidrazin (DMH)'den türeyen alkilleyici bir ajandır. Bir metil hidrazin türevi olan DMH, organizmada metil radikali salıveren bileşiklere dönüşmek sureti ile etkinlik kazanan kanserojen ajandır. DNA (Deoksiribonükleik asit) moleküllerini metilleyerek mutajenik etki yapan DMH aynı zamanda RNA

(Ribonükleik asit) ve dolayısıyla protein sentezini de bozar. DMH ve azoksimetan ile yapılan farmakolojik çalışmalar, bu ajanların gerçek bir karsinojen özelliği kazanabilmeleri için önce metabolik olarak aktive olmaları gerektiğini göstermiştir. Radyoaktif olarak işaretlenmiş DMH enjeksiyonundan sonra yapılan radyografik incelemelerde enjeksiyondan 1 saat sonra hepatositlerde, 3 saat sonra da kolon hücrelerinde yüksek oranda tutulum olduğu gözlenmiştir. Bu madde ile karsinogenezin başlamasındaki esas yol; DMH'ın karaciğerde azoksimetan ve azoksimetanole dönüşmesidir. Azoksimetanol daha sonra glukuronik asitle konjuge olur ve bilier ekskresyona uğrar. Kolon lümeninde glukuronoidler bakteriyal hidrolize uğrarlar ve aktif karsinojen metabolitlere dönüşürler. DMH metabolizması boyunca serbest radikaller üretilir. Bu metabolik yıkımın son ürünlerinden olan metildiazonyum iyonu DNA, RNA ve proteinleri metilleme özelliğine sahiptir. Böylelikle karsinogenezis başlatılmış olur (112).

Çalışmamızda bizde kolorektal kanser indüklemeye etkili olan azoksimetan ajanını kullandık. Deney süresince sadece AOM verilen sıçanları histopatolojik olarak değerlendirdiğimizde değişen derecelerde displazi %12,5'inde, adeno-karsinom ise sıçanların %87,5'inde olduğu tespit edildi. AOM verilen bütün hayvanlar tümöral gelişim gösterdi. Bu bulgular birçok çalışmayla uyumluydu (113,114). Çalışmamızda AOM+Rosmarinik asit uygulanan grupta, hayvanların kolonlarına ait kesitlerin histopatolojik olarak değerlendirilmesi sonucu AOM grubuyla karşılaştırıldığında displazi oranının arttığını ve karsinom oranının azaldığını gözlemledik. Elde ettiğimiz bulgular birçok çalışmayla uyumluydu (90,91,115). Ancak rosmarinik asitle tedavi edilen sıçan grubundaki azalan adenokarsinom oranı beklentilerimiz yönünde değildi.

Yağ dokusunun sadece bir enerji deposu değil aynı zamanda aktif endokrin organ olduğu bilinmektedir. Visseral adipoz dokudan üretilen bir hormon olan adiponektin ailevi hiperlipidemi patogenezinde yer alır ve insülin direnci ile ilişkilidir (116). İnflamasyonla birlikte artan sitokinler (TNF- α ya da diğer bazı sitokinler) aracılığıyla bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B aktif formuna dönüşür. NF- κ B'nin transkripsiyonel hedefleri arasında karsinogenez de etkili olan birçok gen bulunmaktadır. Adiponektin makrofajlarda TNF- α 'nın üretimini, endotelial hücrelerde işlevlerini inhibe etmektedir. Adiponektin dolaşımdaki seviyelerinin artmasıyla bazı inflamatuvar sitokinlerin inhibisyonunu sağlayarak NF- κ B'nin aktivasyonunu engeller. Obezitede azalan adiponektin insülin direncinin gelişimine yol açar. Azalan adiponektin ile artan insülin seviyeleri ve IGF-1 aktivitesi pek çok dokuda apoptozisin inhibisyonu, proliferasyonu artıran ve anjiyogeneze katkı yapan VEGF salınımını artırır ve karsinogenezi teşvik eder (15).

Meme kanseri hücrelerinde adiponektinin glikojen sentaz kinaz-3 β (GSK-3 β) ve Akt'nin fosforilasyonu ve β -katenin'in hücre içi birikimini azalttığı ve buna bağlı olarak da siklin D1 salınımını baskıladığı ve dolayısıyla hücre döngüsünü kontrol edebileceği gösterilmiştir (117).

Çalışmamızda plazma ve doku adiponektin düzeylerini AOM grubunda kontrollere göre anlamlı düşük tespit ettik. Elde ettiğimiz sonuçlar benzer çalışmalarla uyumluydu (118-123). Çalışmamızda AOM+Rosmarinik asitin uygulandığı grupta, plazma ve doku adiponektin düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı düşük iken AOM grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

AOM gruplarında azalan adiponektin seviyeleri kolonun inflamatuvar stres altında olduğu fikrini vermiştir. Kolonda inflamasyonun olması TNF- α ve diğer bazı sitokinlerin artmasını sağladığı ve ayrıca oluşturulan oksidatif stres ile NF- κ B'nin aktive edildiği düşünülmektedir. Aktive NF- κ B, neoplastik mekanizmalardan sorumlu birçok genin ekspresyonunu artırarak ve dolaylı olarak adiponektin seviyelerini baskılamaktadır. Ancak tedavi grubundaki adiponektin seviyelerinin kontrollere göre hala düşük ve AOM grubuna yakın değerlerde seyretmesi tedavi grubunda histopatolojik olarak tümör insidansındaki beklenen gerilemenin gerçekleşmemesi ile bağlantılı yukarıda belirtilen mekanizmaların hala daha işlev gördüğünü düşündürmektedir. Bu durum rosmarinik asit tedavi dozu ve süresi ile ilgili olabilir.

Kanserin başlaması ve ilerlemesinde rol oynadığı gösterilen CC kemokin ailesinden olan MCP-1, membran CCR2'ye bağlanarak, monosit/makrofaj ve diğer inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu düzenler (71-73). TNF- α 'nın uyarılmasıyla MCP-1 ekspresyonu arttığı ve MCP-1'in transkripsiyonel regülatörü olan NF- κ B ve AP-1 faktörleri de bu süreçte etkin rol oynadığı gösterilmiştir. Ayrıca TNF- α 'nın uyarılması NF- κ B aracılıklı p53 tarafından sağlanır (13).

KRK'da artan MCP-1 ekspresyonu ile birlikte kolonda makrofajlar çoğalır ve COX-2 artışı gerçekleşir (124). p53 tarafından transkripsiyonel aktivasyonu yapılan COX-2'nin artmasıyla p53 inaktifleşir (125). Karsinogenezde etkin rolü olan NF- κ B yolağı, hedef genlerinden biri olan MCP-1 düzeylerini artırarak tümör gelişimini indüklediği ve bununla birlikte inaktif p53 regülatör olarak MCP-1 artışına sebep olduğu söylenebilir.

AOM verilen grupta değerlendirilen plazma ve doku MCP-1 seviyeleri, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir artış olduğu tespit edildi. Elde ettiğimiz bu veriler diğer alışmasonuları ile uyumluydu (124,126). Çalışmamızda AOM+Rosmarinik asit uygulanan grupta, plazma ve doku MCP-1 seviyeleri AOM grubuyla karşılaştırıldığında MCP-1'deki dūřuřler plazmada anlamlı değilken, dokuda istatistiksel anlamlı bulundu.

COX-2 inhibitörleri veya antioksidan kullanımıyla aktif p53'ün artışı ve nükleusa translokasyonu saęlanır. p53'ün MCP-1 üzerindeki regülatör etkisiyle MCP-1 seviyelerini dūřürür ve bunun yanı sıra tümör süpresör olarakta NF-κB yolaęına etki ederek MCP-1 seviyelerini düzenledięi dūřünölmektedir. Çalıřmamızda güçlü bir antioksidan olan rosmarinik asitin böyle bir etki göstererek MCP-1 seviyelerini deęiřtirdięini dūřünmekteyiz.

Rosmarinik asitin antioksidan etkisiyle, NF-κB transkripsiyon faktörünü aktive eden ROT'u toplayarak anti-kanserojen etki göstermektedir. ROT ayrıca DNA hasarı, proinflamatuvar sitokinlerin artışına ve hasarlanmış hücrelerin apoptozis hızında azalmaya neden olmaktadır. Çalışmamızda plazma ve dokuda değerlendirilen TAS ve TOS düzeyleri rosmarinik asitin antioksidan etkinliği hakkında bilgi vermiştir. TAS ve TOS seviyelerinin değerlendirildiği bu çalışmada, kontrol grubuyla AOM verilen grup karşılaştırılmasında TAS düzeylerinde anlamlı azalma TOS düzeylerinde ise anlamlı bir artış olduğu tespit edildi. AOM grubuyla AOM+Rosmarinik asit uygulanan grup karşılaştırıldığında plazma TAS seviyeleri istatistiksel anlamlı olarak artmış, plazma TOS seviyelerinde ise anlamlı olmayan bir azalış tespit edildi. Bu gruplarda doku TAS artışı anlamlı değilken doku TOS dūřüřü istatistiksel anlamlı bulundu.

Rosmarinik asitin kanserdeki etkisini inceleyen çalışmalarda TOS ve TAS'ın değerlendirildiği bir çalışma bulunmamakla beraber bazı çalışmalarda oksidan ve antioksidan parametreler değerlendirilmiştir (90,91). Bu çalışmaları değerlendirerek AOM verilen grupla kontrol grubu karşılaştırıldığında elde edilen bulguların literatürle uyumlu olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, antimitojen, antibakteriyel, antialerjik, hepatoprotektif ve nöroprotektif etkileri gösterilmiş olan rosmarinik asitin AOM ile indüklenmiş sıçan KKK modelinde biyokimyasal ve histopatolojik parametreler üzerine olan etkilerini değerlendirdiğimiz çalışmamızda RA'nın tümör gelişim insidansında belirgin azalmaya yol açtığını tespit ettik. Ancak AOM+RA tedavisi alan deney grubumuzda tespit ettiğimiz bu azalma beklediğimiz etkinlikte değildi. KKK'ların gelişim sürecindeki farklı metabolik yollar ile karmaşık ve çoklu mekanizmalar etkin tedavi modalitelerini de etkilemektedir. Bu kompleks yapılar göz önünde bulundurulduğunda çalışmamızda bu kısıtlılığa yol açan durumun denek sayısının artırıldığı, farklı metabolik, moleküler ve immünohistokimyasal parametrelerin değerlendirildiği yeni çalışmalarla giderileceği kanaatindeyiz.

8. KAYNAKLAR

1. Lahouar L, Ghrairi F, El Arem A, et al. Attenuation of histopathological alterations of colon, liver and lung by dietary fibre of barley Rihane in azoxymethane-treated rats. *Food Chemistry* 2014; 149: 271–276.
2. Gertig DM, Hunter DJ. Genes and environment in the etiology of colorectal cancer. *Cancer Biology* 1998; 8: 285-298.
3. Cabal ML. 1. Colorectal cancer epidemiology. Assessing and managing risk. *Prevention. Resarch signpost* 2011; 37: 1-33.
4. Bradley BA, Eves BM. Molecular advances in the etiology and treatment of colorectal cancer. *Surgical oncology* 1997; 6: 143-156.
5. Moghaddam AA, Woodward M and Huxley R. Obesity and risk of colorectal cancer; a meta-analysis of 31 studies with 70,000 events. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 2007; 16(12): 2533-2547.
6. Grady WM and Carethers JM. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 2008; 135(4): 1079-1099.
7. Wiseman H and Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species; role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem. J* 1996; 313: 17-29.
8. Storz P. Reactive oxygen species in tumor progression. *Front Biosci* 2005; 10: 1881-1896.
9. Rollins BJ. Chemokines. *Blood* 1997; 90: 909-928.
10. Çıtak FE, Çıtak EÇ, Karadeniz C. Kemokinler ve Hastalıklardaki Yeri. *T Klin Tıp Bilimleri* 2002; 22: 210-216.
11. Hong KH, Ryu J and Han KH. Monocyte chemoattractant protein-1–induced angiogenesis is mediated by vascular endothelial growth factor-A. *Blood* 2005; 105(4): 1405-1407.
12. Bao X, Lu C and Frangos JA. Temporal gradient in shear but not steady shear stress induces PDGF-A and MCP-1 expression in endothelial cells role of NO, NFκB, and egr-1. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 1999; 19(4): 996-1003.
13. Hacke K, Rincon-Orozco B, Buchwalter G, et al. Research Regulation of MCP-1 chemokine transcription by p53. *Molecular cancer* 2010; 9: 82.
14. Scaife CL, Kuang J, Wills JC, et al. Nuclear Factor κB Inhibitors Induce Adhesion-dependent Colon Cancer Apoptosis Implications for Metastasis. *Cancer research* 2002; 62(23): 6870-6878.
15. Kelesidis I, Kelesidis T and Mantzoros C S. Adiponectin and cancer; a systematic review. *British journal of cancer* 2006; 94(9): 1221-1225.
16. Ertürk S. Kolon ve rektum kanserleri. Baykan A, Zorluoğlu A, Geçim E, Terzi C. (editör) 1. Bölüm, 1. Baskı, İstanbul; Türk Kolon ve Rektum Cerrahisi Derneği, 2010.

17. <http://kanser.gov.tr/> T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye halk sağlığı kurumu, kanser daire başkanlığı, değerlendirme raporları (21.08.14)
18. Boyle P, Levin B. World health organization, International Agency for Research on Cancer, World cancer report, Lyon, France. 2008; 374-380.
19. Bissahoyo A, Pearsall RS, Hanlon K, et al. Azoxymethane Is a Genetic Background-Dependent Colorectal Tumor Initiator and Promoter in Mice; Effects of Dose, Route, and Diet. *Toxicological Sciences* 2005; 88(2): 340–345.
20. Hea Jin Park, Steven R. Davis, Hsin-Yin Liang, Daniel W. Rosenberg, Richard S. Bruno. Chlorogenic Acid Differentially Alters Hepatic and Small Intestinal Thiol Redox Status Without Protecting Against Azoxymethane-Induced Colon Carcinogenesis in Mice. *Nutrition and Cancer* 2010; 62(3): 362-370.
21. Erarslan E, Türkay C. Kolorektal Kanser Etiyolojisi ve Predispozan Faktörler. *Güncel Gastroenteroloji* 2007; 11.
22. World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer; a Global Perspective. Washington DC; AICR, 2007.
23. Kimura Y, Kono S, Toyomura K, et al. Meat, fish and fat intake in relation to subsite-specific risk of colorectal cancer; The Fukuoka Colorectal Cancer Study. *Cancer Sci* 2007; 98: 590–597.
24. Leon MP, Roncucci L. The cause of colorectal cancer. *Digest liver ois* 2000; 32: 426-439.
25. T.C. Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Beslenme ve Fiziksel Aktiviteler Daire Başkanlığı, Diyet posası ve beslenme. Ankara 2008.
26. Greenberg ER, Baron JA, Tosteson TD, et al. A clinical trial of antioxidant vitamins to prevent colorectal adenoma. *The new england journal of medicine* 1994; 331: 141-147.
27. Sanjoaquin MA, Allen N. Folate intake and colorectal cancer risk; A meta-analytical approach. *Int. J. Cancer* 2005; 113:825–828.
28. Young-In Kim. Folate and DNA Methylation; A Mechanistic Link between Folate Deficiency and Colorectal Cancer? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 511-519.
29. Martha LS. Physical Activity and Colorectal Cancer. *Sports Med* 2004; 34(4): 239-252.
30. Meyerhardt JA, Giovannucci EL. Physical Activity and Survival After Colorectal Cancer Diagnosis. *Journal of clinical oncology* 2006; 24: 3527-3534.
31. Saxena A, Chumanevich A. Adiponectin deficiency; Role in chronic inflammation induced colon cancer. *Biochimica et Biophysica Acta* 2012; 1822: 527–536.
32. Larsson SC, Wolk A. Obesity and colon and rectal cancer risk; a meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 556–65.
33. Beştaş R. Kolorektal kanserde serum vasküler endotelial büyüme faktör (VEGF) düzeylerinin bilinen prognostik faktörlerle ilişkisi. Tıpta uzmanlık tezi, Diyarbakır; T.C. Dicle üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıklar Anabilim Dalı, 2007.

34. Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis; a meta-analysis. *Gut* 2001; 48: 526–535.
35. Karagöl H. Evre I-III kolon kanserinde prognostik faktörlerin araştırılması. Tıpta uzmanlık tezi, Edirne; T.C. Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 2008.
36. Düngül ÇD. Sporadik kolorektal kanser vakalarında genom ebadında tek nükleotit polimorfizm profilinin belirlenmesi ile yeni genetik yatkınlık genlerinin ve kanserin gelişmesinde etken olan genlerin belirlenmesi. Doktora tezi, Ankara; T.C. Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, 2011.
37. Üsken N. Kolon kanserinde genetik. *Onko vital* 2012; 9: 1-2.
38. Gryfe R, Swallow C. Molecular Biology of Colorectal Cancer. *Curr Probl Cancer* 1997; 21: 238-285.
39. McDermott U, Longley DB, Johnston PG. Molecularand biochemical markers in colorectal cancer *Ann Oncol* 2002;13: 235-245.
40. Büyükdöğün M. Kolorektal kanserli hastalarda sitokrom p450 (cyp2c9 ve cyp2c19) enzim genetik polimorfizmi. Doktora tezi, Konya; T.C. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Genetik Bilim Dalı, 2007.
41. Wiesner GL, Slavin TP, Barnholtz-Sloan JS. Essentials of Genomic and Personalized Medicine. Colorectal cancer, chapter 36. 2010.
42. Kheirleiseid EAH, Miller N, Kerin MJ. Molecular biology of colorectal cancer; Review of the literature. *American Journal of Molecular Biology* 2013; 3: 72-80.
43. Harrison S, Benziger H. The molecular biology of colorectal carcinoma and its implications; A review. *The surgeon* 2011; 9: 200-210.
44. Turgut A. Kolorektal karsinomalarda egfr ekspresyonunun prognostik önemi. Tıpta uzmanlık tezi, Ankara; T.C. Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Patoloji Anabilim Dalı Başkanlığı, 2007.
45. <http://tr.wikipedia.org/wiki/P53> (20.08.14)
46. Durhan E, Kolon kanser tanılı olgularda PCR-RFLP metodu ile p53 gen mutasyonlarının saptanması. Yüksek lisans tezi, Afyon; T.C. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 2006.
47. Kindler HL, Shulman KL. Metastatic Colorectal Cancer. *Curr Treat Options Oncol* 2001; 2(6): 459-471.
48. Öncel M, Matriks Metalloproteinazlar ve Kanser. *Eur J Basic Med Sci* 2012; 2(3): 91-100.
49. Koskensalo S, Louhimo J, Nordling S, Hagström J, Haglund C. MMP-7 as a prognostic marker in colorectal cancer. *Tumour Biol.* 2011; 32(2): 259-64.
50. Taçyıldız N, Çavdar AO. Adezyon molekülleri ve metastaz. *Ankara Tıp Mecmuası* 1995; 48: 199-214.
51. Aydın R. Tümör anjiyogenezi. *Cerrahpaşa Öğrenci Bilimsel Dergisi* 2008; 1.

52. Ferrara N. VEGF; an update on biological and therapeutic aspects. *Current Opinion in Biotechnology* 2000; 11: 617–624.
53. Harmey JH. VEGF and cancer. *Landes bioscience* 2004; 1.
54. Lanzaa G, Messerini L, Gafà R, Risio M. Colorectal tumors; The histology report. *Digestive and Liver Disease* 2011; 43: 344–355.
55. Topak N. Kolon karsinogenezisinde siklooksijenazların rolü. *Tıpta Uzmanlık Tezi. Afyon; Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, 2007.*
56. Karaca Ö. Farelerde deneysel olarak oluşturulan kolon kanseri üzerine endostatin'in etkileri. *Doktora tezi. Kayseri; Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008.*
57. Ertekin T. Farelerde deneysel olarak oluşturulan kolon kanseri üzerine angiostatın'in etkileri. *Doktora tezi. Kayseri; T.C. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008.*
58. Sarpdağ F. Ülseratif kolit ve kolorektal kanserli hastalarda e-kaderin ve fibronektin düzeyinin karsinogenez ile ilişkisi. *Tıpta Uzmanlık Tezi. Sivas; T.C. Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 2009.*
59. Türkoğlu A. Kolorektal kanserlerde prognostik faktörlerin belirlenmesi. *Tıpta uzmanlık tezi. Elazığ; T.C. Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, 2010.*
60. Fleming M, Ravula S, Tatishchev SF, Wang HL. Colorectal carcinoma; Pathologic aspects. *J Gastrointest Oncol* 2012; 3(3): 153-173.
61. Kaya S. Kolorektal kanserli hastalarda survivin ekspresyonunun sağkalım ve histopatolojik değişkenlerle ilişkisi. *Tıpta uzmanlık tezi. Kartal Dr.Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2.İç Hastalıkları Kliniği, 2008.*
62. Compton CC, Greene FL. The Staging of Colorectal Cancer; 2004 and Beyond. *CA Cancer J Clin* 2004; 54: 295–308.
63. Çavdar Z. Kolon ve rektum kanserlerinde endostatin'in matriks metalloproteinaz-2 üzerine gösterdiği etkinin araştırılması. *Doktora tezi. İzmir; T.C. Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008.*
64. Joshi RK, Lee SA. Obesity Related Adipokines and Colorectal Cancer; A Review and Meta-Analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15(1): 397-405.
65. Dalamaga M, Diakopoulos KN, Mantzoros CS. The Role of Adiponectin in Cancer; A Review of Current Evidence. *Endocrine Reviews* 2012; 33: 547–594.
66. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, et al. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J. Clin. Invest* 2006; 116: 1784–1792.
67. Taliaferro-Smith L, Nagalingam A, Zhong D, et al. LKB1 is required for adiponectin-mediated modulation of AMPK–S6K axis and inhibition of migration and invasion of breast cancer cells. *Oncogene* 2009; 28: 2621–2633.

68. Gialamas SP, Petridoua ET, Balafouta ST. Serum adiponectin levels and tissue expression of adiponectin receptors are associated with risk, stage, and grade of colorectal cancer. *Metabolism* 2011; 60: 1530-1538.
69. Hebbard L, Ranscht B. Multifaceted roles of adiponectin in cancer. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2014; 28: 59–69.
70. Landskroner-Eiger S, Qian B, Muise ES, et al. Proangiogenic Contribution of Adiponectin toward Mammary Tumor Growth In vivo. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 3265-3276.
71. Cho YA, Kim JA. Association of polymorphisms in the MCP-1 and CCR2 genes with the risk of cancer; A meta-analysis. *Cytokine* 2013; 64: 213–220.
72. Craig MJ, Loberg RD. CCL2 (Monocyte Chemoattractant Protein-1) in cancer bone metastases. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25: 611–619.
73. Ji WT, Chen HR, Lin CH, et al. Monocyte Chemotactic Protein 1 (MCP-1) Modulates Pro-Survival Signaling to Promote Progression of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Plos one* 2014; 9(2): e88952.
74. Ohta M, Kitada Y, Tanaka S. Monocyte chemoattractant protein-1 expression correlates with macrophage infiltration and tumor vascularity in human esophageal squamous cell carcinomas. *Int. J. Cancer* 2002; 102:220–224.
75. Bektaş KK, Unur M, Boy ZM, Çakmakoğlu B. MCP-1 and CCR2 gene variants in oral squamous cell carcinoma. *Oral Diseases* 2012; 18: 55–59.
76. Kaur J, Sanyal SN. Diclofenac, A Selective COX-2 Inhibitor, Inhibits DMH-Induced Colon Tumorigenesis Through Suppression of MCP-1, MIP-1a and VEGF. *Molecular carcinogenesis* 2011; 50: 707–718.
77. Fujimoto H, Sangai T, Ishii G. Stromal MCP-1 in mammary tumors induces tumor-associated macrophage infiltration and contributes to tumor progression. *Int. J. Cancer* 2009; 125: 1276–1284.
78. Dwyer RM, Potter-Beirne SM, Harrington KA, et al. Monocyte Chemotactic Protein-1 Secreted by Primary Breast Tumors Stimulates Migration of Mesenchymal Stem Cells. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 5020-5027.
79. Salcedo R, Ponce ML, Young HA, et al. Human endothelial cells express CCR2 and respond to MCP-1; direct role of MCP-1 in angiogenesis and tumor progression. *Blood* 2000;96(1): 34-40.
80. Kim MY, Byeon CW, Hong KH. Inhibition of the angiogenesis by the MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) binding peptide. *FEBS Letters* 2005; 579: 1597–1601.
81. Bertolini A, Ottani A, Sandrini M. Dual acting anti-inflammatory drugs; a reappraisal. *Pharmacological Research* 2001; 44: 437-450.
82. Greenhough A, Smartt HJM, Moore AE. The COX-2/PGE2 pathway; key roles in the hallmarks of cancer and adaptation to the tumour microenvironment. *Carcinogenesis* 2009; 30: 377–386.

83. Botting RM. Cyclooxygenase; Past, present and future. A tribute to John R. Vane. *Journal of Thermal Biology* 2006; 31: 208–219.
84. Basu GD, Pathangey LB, Tinder TL, et al. Cyclooxygenase-2 Inhibitor Induces Apoptosis in Breast Cancer Cells in an In vivo Model of Spontaneous Metastatic Breast Cancer. *Mol Cancer Res* 2004; 2: 632-642.
85. Gurpinar E, Grizzle WE, Piazza GA. COX-independent mechanisms of cancer chemoprevention by anti-inflammatory drugs. *Front Oncol* 2013; 3: 181.
86. Piazza GA, Keeton AB, Tinsley HN. A Novel Sulindac Derivative That Does Not Inhibit Cyclooxygenases but Potently Inhibits Colon Tumor Cell Growth and Induces Apoptosis with Antitumor Activity. *Cancer Prev Res* 2009; 2(6): 572-580.
87. Umut SG, Nesrin GK. Antiinflamatuvar Tedavide Yeni Bir Yaklaşım; Siklooksijenaz ve 5-Lipooksijenazın Dual İnhibitörleri. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 2010; 30: 81-118.
88. Melli M. Non-Steroidall Antiinflamatuvar İlaçlar. Kayaalp.O (editör). Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 13.Baskı. Ankara. Pelikan yayıncılık, 2012; 869-902.
89. Seril DN, Liao J, Yu Yang G, Yang CS. Oxidative stress and ulcerative colitis-associated carcinogenesis; studies in humans and animal models. *Carcinogenesis* 2003; 24: 353-362.
90. Karthikkumar V, Sivagami G, Vinothkumar R. Modulatory efficacy of rosmarinic acid on premalignant lesions and antioxidant status in 1,2-dimethylhydrazine induced rat colon carcinogenesis. *Environ. Toxicol. Pharmacol* 2012.
91. Karthikkumar V, Sivagami G, Viswanathan P, et al. Rosmarinic acid inhibits DMH-induced cell proliferation in experimental rats. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology* 2014-0044. (Epub ahead of print)
92. Thompson CB. Apoptosis in the Pathogenesis and Treatment of Disease. *Science* 1995; 267: 1456-1462.
93. Kroemer G, Petit P, Zamzami N, Vayssière JL and Mignotte B. The biochemistry of programmed cell death. *Faseb journal*. 1995; 9: 1277-1287.
94. Wiseman H, Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species ; role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem. J.* 1996; 313: 17-29.
95. Alexandre J, Batteux F, Nicco C, et al. Accumulation of hydrogen peroxide is an early and crucial step for paclitaxel-induced cancer cell death both in vitro and in vivo. *Int. J. Cancer* 2006; 119: 41–48.
96. Sun M, Estrov Z, Ji Y, et al. Curcumin (diferuloylmethane) alters the expression profiles of microRNAs in human pancreatic cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 464-473.
97. Pandey KB, Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2009; 2(5): 270-278.
98. Karmokar A, Marczylo TH, Cai H, et al. Dietary intake of rosmarinic acid by *Apc^{Min}* mice, a model of colorectal carcinogenesis; levels of parent agent in the target tissue and effect on adenoma development. *Mol. Nutr. Food Res.* 2012; 56: 775–783.

99. Petersen M, Simmonds MSJ. Molecules of Interest Rosmarinic acid. *Phytochemistry* 2003; 62: 121–125.
100. Coca S, Enrech S, Moreno García V, et al. Evaluation of the antitumor activity of interleukin-12 in an experimental murine model of colorectal cancer induced by 1,2 dimethyl-hydrazine (DMH). *Rev Esp Enferm Dig* 2005; 97(9): 619- 28.
101. Kobaek-Larsen M, Thorup I, Diederichsen A, Fenger C, Hoitinga MR. Review of colorectal cancer and its metastases in rodent models; comparative aspects with those in humans. *Comparative medicine* 2000; 50(1): 16-26.
102. Papanikolaou A, Wang QS, Papanikolaou D, Whiteley HE, Rosenberg DW. Sequential and morphological analyses of aberrant crypt foci formation in mice of differing susceptibility to azoxymethane-induced colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2000;21(8): 1567-1572.
103. Chen J, Huang XF. The signal pathways in azoxymethane-induced colon cancer and preventive implications. *Cancer biology & therapy* 2009; 8(14):1313-1317.
104. Fujise T, Iwakiri R, Kakimoto T, et al. Long-term feeding of various fat diets modulates azoxymethane-induced colon carcinogenesis through Wnt/ β -catenin signaling in rats. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 2007; 292(4): G1150-G1156.
105. Furtado RA, Oliveira BR, Silva LR, et al. Chemopreventive effects of rosmarinic acid on rat colon carcinogenesis. *European journal of cancer prevention; the official journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP)* 2014.
106. Güngör H. Deneysel kolorektal kanser modelinde siklooksijenaz-2 inhibitörlerinin etkinliği ve anjiyogenezisin değerlendirilmesi. Tıpta uzmanlık tezi. Elazığ; T.C. Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, 2013.
107. Vinothkumar R, Vinoth Kumar R, Karthikkumar V, et al. Oral supplementation with troxerutin (trihydroxyethylrutin), modulates lipid peroxidation and antioxidant status in 1, 2-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. *Environmental toxicology and pharmacology* 2014; 37(1): 174-184.
108. Canbay E, Buğra D. Kolorektal kanser; Genetik ve moleküler biyoloji araştırmaları hasta tedavisine yeterince yansıyor mu? *Ulusal Cerrahi Dergisi* 2011; 27(4): 198-205.
109. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer; the next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646-674.
110. Saygılı Eİ. Kolorektal kanserli hastalarda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistemler. Yüksek lisans tezi. İstanbul; T.C. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1997.
111. Kaya S. Kolorektal kanserli olgularda oksidatif stresin araştırılması. Tıpta uzmanlık tezi. Edirne; T.C. Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya anabilim dalı, 2010.
112. Ergenoğlu OM. 1,2-dimetilhidrazin ile kolorektal kanser oluşturulan sıçanlarda selenyum, vitamin E ve levamizolün etkileri. Tıpta uzmanlık tezi. Adana; T.C. Çukurova Üniversitesi, Tıp fakültesi, Genel cerrahi anabilim dalı, 1999.

- 113.Ling TB, Esa N, Rahman H, Hamzah H, Karim R. Brewers' rice induces apoptosis in azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats via suppression of cell proliferation and the Wnt signaling pathway. *BMC complementary and alternative medicine* 2014; 14(1): 304.
- 114.Wu B, Iwakiri R, Ootani A, et al. Dietary corn oil promotes colon cancer by inhibiting mitochondria-dependent apoptosis in azoxymethane-treated rats. *Experimental Biology and Medicine* 2004; 229(10): 1017-1025.
- 115.Venkatachalam K, Gunasekaran S, Jesudoss VAS, Namasivayam N. The effect of rosmarinic acid on 1, 2-dimethylhydrazine induced colon carcinogenesis. *Experimental and Toxicologic Pathology* 2013; 65(4): 409-418.
- 116.Sönmez B. Plazma adiponektin düzeyi ve diğer insulin rezistansı parametreleri ile mide kanseri arasındaki ilişki. Tıpta uzmanlık tezi. İstanbul; T.C. Sağlık Bakanlığı Dr.Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. dahiliye kliniği, 2008.
- 117.Jardé T, Perrier S, Vasson MP, Caldefie-Chézet F. Molecular mechanisms of leptin and adiponectin in breast cancer. *European journal of cancer* 2011; 47(1): 33-43.
- 118.Chen MW, Ye S, Zhao LL, et al. Association of plasma total and high-molecular-weight adiponectin with risk of colorectal cancer; an observational study in Chinese male. *Med Oncol* 2012; 29: 3129-3135.
- 119.Gulcelik MA, Colakoglu K, Dincer H, et al. Associations between adiponectin and two different cancers; breast and colon. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 395-398.
- 120.Gonullu G, Kahraman H, Bedir A, et al. Association between adiponectin, resistin, insulin resistance, and colorectal tumors. *Int J Colorectal Dis*, 2010; 25: 205-212.
- 121.Erarslan E, Turkey C, Koktener A, et al. Association of visceral fat accumulation and adiponectin levels with colorectal neoplasia. *Dig Dis Sci*, 2009; 54: 862-868.
- 122.Kemik O, Sumer A, Kemik AS, et al. The relationship among acute-phase response proteins, cytokines and hormones in cachectic patients with colon cancer. *World J Surg Oncol*, 2010; 8: 85.
- 123.Kumor A, Daniel P, Pietruczuk M, Malecka-Panas E. Serum leptin, adiponectin, and resistin concentration in colorectal adenoma and carcinoma (CC) patients. *Int J Colorectal Dis*, 2009; 24: 275-281.
- 124.Tanaka S, Tatsuguchi A, Futagami S, et al. Monocyte chemoattractant protein 1 and macrophage cyclooxygenase 2 expression in colonic adenoma. *Gut* 2006; 55(1): 54-61.
- 125.Malisetty VS, Christopher RH, Chinthalapally VR. Inhibition of COX-2 in Colon Cancer Cell Lines by Celecoxib Increases the Nuclear Localization of Active p53. *Cancer Res* 2003; 63: 5239-5242.
- 126.Hillenbrand A, Fassler J, Huber N, et al. Changed adipocytokine concentrations in colorectal tumor patients and morbidly obese patients compared to healthy controls. *BMC cancer* 2012; 12(1): 545.

9. ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Elazığ'da doğdum. 2005 yılında liseden mezun olduktan sonra 2006 yılında Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde yüksek öğrenimime başladım ve 2011 yılında mezun oldum. Aynı yıl Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım. 2013 yılında Anadolu üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Adalet Bölümüne başladım ve halen okumaktayım.

YAYINLAR

Karataş F, Bektaş İ, Birişik A, Aydın Z, Kurtul A. Çiriş Otu'nda (*Asphodelus aestivus* L.) suda çözünen bazı bileşiklerin araştırılması. SDÜ Journal of Science (E-Journal) 2011; 6(1): 35-39.

SERTİFİKALAR

HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) kullanım sertifikası
(Kimyagerler Derneği)

C sınıfı iş güvenliği uzmanlığı sertifikası (Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı)

Bilgisayar işletmenliği sertifikası (Milli Eğitim Bakanlığı)