

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ
SONUÇ RAPORU

Proje Başlığı

Kolorektal kanserli hastalarda kök hücre gen ekspresyon profili ve prognostik önemi

Proje Yürütücüsünün İsmi

Prof. Dr. Hakan Akbulut

Yardımcı Araştırmacıların İsmi

Sıdika Öztop

Proje Numarası

13L3330005

Başlama Tarihi

29.11.2012

Bitiş Tarihi

29.11.2013

Rapor Tarihi

17.06.2014

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Ankara - 2014

1946

RAPOR FORMATI

Bilgisayarda 12 punto büyüklüğünde karakterler ile, tercihan "Times New Roman" stili kullanılarak yazılacak ve aşağıdaki kesimlerden (alt kesimler de dahildir) oluşacaktır.

I. Projenin Türkçe ve İngilizce Adı ve Özetleri

Kolorektal Kanserli Hastalarda Kök Hücre Gen Ekspresyon Profili Ve Prognostik Önemi

Özet

Kanser, günümüzde insan sağlığını tehdit eden en önemli ikinci sağlık sorunudur. Kolorektal kanser ise en yaygın kanser tiplerinden bir tanesidir. Kolorektal kanser insidansı artmasına rağmen tedavide başarı tam olarak sağlanamamıştır. Tedaviye direnç ve nüks kanser tedavisini etkisiz kılan en önemli iki faktördür. Özellikle kanser kök hücrelerinin bu süreçten sorumlu olabileceğinin anlaşılması, bu hücreleri son yıllarda önemli bir hedef haline getirmiştir. Kanser kök hücrelerinin karakterize edilmesi hız kazanmış ve kanser kök hücre belirteçleri belirlenmiştir. CD133, kolorektal kanser kök hücrelerini tanımlayan bir moleküldür. Yapılan bazı çalışmalar CD133'ün prognoz üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Bu verilere dayanarak tez çalışmamızda CD133 ekspresyonu ve prognoz arasındaki ilişki araştırılmıştır. Proje kapsamında 103 kolon kanseri FFPE tümör dokusunda ve 34 sağlıklı kolon dokusunda CD133 ekspresyon düzeyi qRT-PCR tekniği ile tespit edilmiştir. Sonuç olarak, bu tez çalışmasında elde edilen veriler ile hastaların klinikopatolojik ve tedavi seyirleri birlikte değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeye göre, CD133 pozitifliği ile prognoz arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular CD133'ün klinik açıdan literatürde belirtilenin aksine farklı bir boyutu da olabileceği olasılığını gündeme getirmesi açısından ilginçtir.

The Prognostic Significance Of The Expression Of The Stemness Genes In Patients With Colorectal Cancer

Abstract

Cancer is the second most important health problem that threatens human health. Colorectal cancer is one of the most common cancers. Despite the increase in the incidence of colorectal cancer, treatment is not fully successful. Resistance and relapse are the two most important factors that decrease the success of the treatment. In recent years, cancer stem cell have become one of the main therapeutic targets in cancer research. There have been a lot of study to characterize the cancer stem cell and to define markers for those cells. The prominin, CD133, has been reported as a sem cell marker for colon cancer stem cells. In some studies CD133 has been reported as a prognostic factor. Taking into account the published data on CD133, we aimed to investigate the CD133 expression in archival colorectal cancer tissues and its prognostic significance. We determine the levels of CD133 expression by qRT-PCR technique in FFPE tumor tissues of 103 patients with colon cancer and adjacent colonic tissues of 34 patients. We compared the clinicopathological features of the patients with regard to CD133

expression. No significant differences in clinicopathological parameters were found in CD133 positive and negative patients. We did not find CD133 expression as a prognostic factor in this cohort of colorectal cancer. Though not significant, CD133 expression seems to be a favourable prognostic factor which is not compatible with previous published studies. Our findings may suggest a different aspect of CD133 expression in terms of prognosis.

II. Amaç ve Kapsam

Kanser tedavisinde son yıllarda bireysel tedavi yaklaşımları ön plana çıkmaya başlamıştır. Klasik tedavi yöntemleri ile hastaların önemli bir kısmında nüks izlenmektedir. KRK'li hastalarda adjuvan tedaviler ancak hastaların yaklaşık %6'sında mutlak yarar sağlamaktadır. Tedavilerin hangi hastalarda etkili olabileceğini belirleyen bir belirteç ise ne yazık ki bulunmamaktadır. Kanser nüksünde özellikle KKH'lerinin sorumlu olabileceğinin anlaşılması bu hücreleri son yıllarda önemli bir hedef haline getirmiştir. KKH'lerinin yüzey özelliklerine göre tanımlanmasındaki zorluklar ile özellikle insanlarda tümör hücre izolasyonuna olanak sağlayabilecek yeterli taze doku bulunmasındaki zorluklar yeni arayışları gündeme getirmiştir. Hastalara ait arşivdeki tümör dokularından kök hücre özelliklerini belirleyen gen ifadelerinin saptanması bunlardan biridir.

Bu projenin amacı; KRK kök hücresi moleküler belirteçlerinden bir tanesi olan CD133'ün çalışmamız dâhilindeki hasta örneğinde ekspresyon düzeyini belirleyerek hastaların prognozu üzerindeki etkisini araştırmaktır. Böylece ilgili genin hastalarda ekspresyon düzeyine bakılarak olası prognoz tahminleri ile tedaviyi şekillendirebilmek ve elde edilen sonuçlara göre bu belirtecin bir kanser tedavi hedefi olup olmayacağını belirleyebilmek mümkün olabilecektir.

Bu çalışmada özellikle erken evre kolon kanserli hastalarda adjuvan tedaviden yarar görebilecek bir hasta grubunun belirlenmesi hedeflenmiştir. Böylece hastaların cevap alamayacağı tedavilerle zaman kaybetmesinin ve/veya etkisiz tedavilerden olumsuz etkilenmesinin önüne geçilebilecektir. Kanser hastalığında, hastaların tedavi süresince yaşadıkları klinik zorluklar göz önüne alındığında, etkin ve olumlu yanıt alınabilecek tedavinin en kısa sürede uygulanmasının son derece önemlidir. Bunların yanı sıra pahalı olan kanser ilaçlarının tedaviden yarar görebilecek uygun hastalarda kullanılmasıyla sağlık bütçesinde oluşan kayıpların da önüne geçilebilecektir. Ayrıca çalışmada elde edilecek sonuçların, kanser kök hücresi hedefli spesifik tedaviler için hedef gen veya hedef gen gruplarını saptamada bir basamak oluşturabileceğine inanıyoruz.

III. Materyal ve Yöntem

Materyal

Bu çalışma, kolorektal tanısı almış hastalardan alınan formalinle fikse edilmiş parafine gömülü (Formalin Fixed Paraffin Embedded, FFPE) tümör dokuları ve FFPE sağlıklı kolon dokuları üzerinde yürütülmüştür. Çalışmada Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji kliniğinde takip ve tedavileri yapılan erken evre kolon kanserli toplam 103 hasta retrospektif olarak alınmıştır. Çalışmada

103 KRK'li hastanın tümörlü kolon dokuları ile aynı gruptan rastgele seçilen 34 hastanın tümör içermeyen sağlam kolon dokuları kullanılmıştır. Çalışmaya daha önce Tıbbi Onkoloji ve Gastroenteroloji kliniklerinde ortak olarak Prof. Dr. Hakan AKBULUT danışmanlığında yürütülen bir çalışmanın hasta grubu dâhil edilmiştir. Bu tez çalışması bir önceki çalışmanın (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 3 Mayıs 2010 tarihli ve 10-157 karar numarası ile onay alan ve Prof. Dr. Hakan AKBULUT'un danışmanlığında yürütülen "Kolorektal kanserlerde VİT D reseptör ekspresyonunun evre ile ilişkisi ve prognoz üzerine etkisi" başlıklı proje) bir parçası niteliğindedir.

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda her hasta örnekten 10 µm kalınlığında 4 kesit alınmıştır. Pozitif kontrol olarak CD133 pozitif U87 insan glioblastoma hücre hattı (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Bilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. Asuman SUNGUROĞLU'nun ekibinden sağlanmıştır) kullanılmıştır. Standart dilüsyonları oluşturmak için CD133 pozitif CaCo-2 insan kolon adenokarsinoma hücre hattı (Hacettepe Üniversite Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden Sayın Prof. Dr. Duygu UÇKAN'nın ekibinden sağlanmıştır) kullanılmıştır.

Yöntem

Çalışmada deney grubunu klinik takipleri Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda yapılan kolon kanseri tanısı almış hastalar oluşturmaktadır. Bu hastaların parafine gömülü (FFPE) tümörlü kolon dokuları ve bu hastalar arasından rastgele seçilerek gen ifade profili açısından kontrol grubunu oluşturan bir grup hastanın FFPE sağlıklı kolon dokuları çalışılmıştır. Çalışma A.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalı ile iş birliği yapılmıştır. Önerilen tez çalışması aşağıda belirtildiği gibi 2 iş paketinden(İP) oluşmaktadır.

İP1. FFPE Dokudan RNA İzolasyonu ve RNA Kalite Kontrol Testleri

FFPE doku örneklerinden kit ile total RNA izolasyonu yapılacaktır. Elde edilen RNA'nın saflık ve miktar tayini ölçümleri Nanodrop (ND 1000) ile yapılırken, bütünlük ve kalite tayini ise AGİLENT RNA 6000 Nano Assay analizi ile yapılacaktır. Son olarak tüm örnekler nature agaroz jel elektroforezinde yürütülerek kontrol edilecektir.

İP2. QRT-PCR ve İstatistik Testleri

Kalite ve kontrol testlerini takiben yukarıda belirtilen genler için primer tasarımı yapılacaktır. QRT-PCR ile kanser kök hücre özelliğini sağlayan genlerin ifade düzeyleri deney grubu dokuları ve kontrol grubu dokularında saptanacaktır. Elde edilen veriler hastaların klinik takip verileri ile birlikte istatistiksel olarak değerlendirilecektir

IV. Analiz ve Bulgular

Çalışma kapsamında hasta ve kontrol grubu doku örneklerinde qRT-PCR tekniği ile CD133 geni ifade düzeyi belirlenerek elde edilen veriler klinik takip verileri ile kıyaslanmış ve hastanın

prognozu ile ilgili genin ifade düzeyi arasındaki ilişki istatiki verilerle analiz edilmeye çalışılmıştır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz verilerin istatistik değerlendirmesi sonucunda; tümör dokusunda CD133 pozitifliği ile cinsiyet, hastalığın primer bölgesi, tümörün evresi ve greydi arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$). Çalışmamızda toplam 103 KRK tümör örneği üzerinde çalışıldı ve sadece 7 örnekten CD133 pozitif sonuç alındı. Kaplan Meier Metoduna göre KRK tümör dokularında yapılan analiz sonucunda 5 yıllık hastaliksız sağkalım oranı CD133 pozitif olgularda %72,1 iken CD133 negatif olgularda %61,8 olarak saptandı ($p=0,801$).

CD133 kolon KKH belirteci olmanın yanı sıra aynı zamanda normal kolon kök hücre belirteci olduğu için sağlıklı kolon dokularını içeren kontrol grubu üzerinde de CD133 ekspresyonu düzeyi araştırıldı. Çalışmamızda kontrol grubunu oluşturan 34 sağlıklı kolon dokusundan 16 örnekten CD133 pozitif sonuç alındı. Normal kolon mukozasında CD133 pozitifliği kadınlarda erkeklere göre daha fazla bulundu (%60 vs %40) ancak aradaki, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ($p=0,273$). Kaplan Meier Metoduna göre sağlıklı kolon dokularında yapılan analiz dikkate alındığında 5 yıllık hastaliksız sağkalım oranı CD133 pozitif olgularda %80,1 iken CD133 negatif olgularda %61,2 olarak saptandı ($p=0,727$).

V. Sonuç ve Öneriler

Günümüzde büyük bir sağlık problemi olan kanserde üçüncü en yaygın kanser tipi olan kolorektal kanser insidansı önemli bir orana sahiptir. İlerleyen teknoloji ve sağlık imkânlarına rağmen kolorektal kanserin (KRK) henüz tedavisi kesin olarak bulunamamıştır. Özellikle metastatik KRK hastalarında konvansiyonel tedavilere direnç, nüks bu süreçte karşılaşılan en önemli problemlerdir.

Bu problemlerin üstesinden gelebilmek adına son yıllarda kanser oluşumuna farklı bir bakış getiren kanser kök hücresi hipotezinin önemi giderek artmaktadır. Yapılan çalışmalar birçok epitelyal kanser çeşidinde bazı genleri eksprese eden hücrelerin kök hücre karakteri özelliği taşıdığını ve kanseri başlatan hücreler olduğunu göstermektedir. Bu nedenle kesin bir tedavi için kanser kök hücrelerinin kimliklendirilmesi çalışmaları hız kazanmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen veriler hedefe yönelik tedavi stratejisi geliştirmek için son derece önemlidir.

Kolon kanserinde kanser kök hücre belirteci olarak öne çıkan en önemli protein CD133 glikoproteinidir. CD133 proteini immünohistokimyasal olarak tümör dokularında bakılabileceği gibi yine tümör dokularında veya hastaların periferik kan hücrelerinde CD133 gen ifade düzeyleri de çok sayıda çalışmada incelenmiştir. Parafinize tümör dokularında CD133 gen ifade artışı ile ilgili değişik sonuçlar bildirilmiştir. Gaiser ve arkadaşlarının çalışmasında parafinize kolon kanseri tümör dokusunda CD133 pozitifliği %80 olarak bildirilirken (1) bir başka çalışmada Xi ve arkadaşları bu oranı %54,7 olarak bildirmişlerdir (2). Bizim çalışmamızda ise parafinize kolon kanserli tümör dokusunda CD133 gen ifade artışını hastalarımızın %6,7'sinde bulduk. Literatürde bu kadar değişken sonuçlar bildirilmesinde parafinize dokulardan gen ifade çalışmalarının bazı sınırlamaları olabileceğini göstermektedir. Örneğin bu kısıtlamalardan bir tanesi parafinize dokulardan yeterli ve kaliteli RNA elde edilmesinde karşılaşılan güçlüklerdir. Nitekim bizim çalışmamızda da RNA kalitesi birçok

örneğimizde iyi değildi. Parafinize arşiv dokularından gen ifadesi çalışılmasına karşılaşılan bir başka güçlük de doku kesitlerindeki tümör hücrelerinin oranıdır. Lazer diseksiyon mikroskobu ile tümör dokusu spesifiye edilemiyor ise genellikle normal doku ile tümör hücreleri dilüe olabilmektedir. Bu çalışmamızda doku kesitlerimizdeki tümör oranının en az %70 olmasına dikkat edilmiştir Patoloji değerlendirmeleri Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji anabilim Dalı'ndan Doç Dr. Berna Savaş tarafından yapılmıştır.

Kolon kanserli hastalarda CD133 ifadesinin klinikopatolojik parametreleri ve prognoz ile ilişkisini araştıran bazı çalışmalar vardır. Yakın zamanda yapılan bir meta analiz çalışmasında özellikle histokimyasal olarak CD133 tayininde proteinin ifade derecesinin yüksekliği ile kötü sağkalım arasında bir ilişki olduğu ortaya konmuştur (3). Söz konusu bu meta-analizde immün histokimyasal olarak CD133 tayinine dayalı olan çalışmalar değerlendirmeye alınmıştır. Horst ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada %50'den fazla tümöral glandda CD133 pozitif boyanması CD133-yüksek olarak tanımlanmış ve bu tanımlamaya göre hastaların %26'sının pozitif olduğu gösterilmiştir. Klinikopatolojik özellikler (yaş, cinsiyet, tümör boyutu vb) ile CD133 arasında pozitif bir ilişki gösterilemez iken CD133-yüksek olan hastalarda 5 ve 10 yıllık sağkalım oranlarının daha kötü olduğu bulunmuştur (4). Xi Ho ve arkadaşının yaptığı bir çalışmada da benzer olarak CD133 protein ifadesinin kolorektal kanserli hastalarda, tümör dokusunda yaklaşık %55 komşu normal mukozada ise %25 oranında pozitif olduğunu bulmuşlardır (2).

CD133'ün gen düzeyinde ifadesini araştıran çalışmalar da mevcuttur. Ancak bu çalışmalar henüz CD133 gen ifade düzeylerinin kolorektal kanserli hastalarda klinik seyir hakkında bir belirteç olarak yol gösterici rolünü ortaya koyabilecek düzeyde kanıt sunamamaktadır. Lin ve arkadaşı kolorektal kanserli hastaların periferik kanlarındaki monoökleer hücrelerde yaptığı çalışmada, CD133 mRNA düzeyi RT-PCR ile araştırmış ve çalışmalarında artmış CD133 düzeyleri ile hastalık nüksü arasında bir ilişki göstermişlerdir (5). Erken evre (evre I-III) kolorektal kanserli hastalarda yaptıkları bir çalışmada Artells ve arkadaşları CD133 ifade artışı ile hastalık nüksü arasında bir paralellik bulmuşlardır (6). Toplam 64 hasta ile yapılan bu çalışmada CD133 ün diğer klinikopatolojik parametrelerden bağımsız olarak prognostik önemi olduğu gösterilmiştir. Yine Huh ve arkadaşlarının yaptıkları yeni bir çalışmada CD133 pozitifliğinin daha agresif tümör davranışını yansıttığı ve prognozla ters orantılı bir ilişki gösterdiği bulunmuştur (7).

Bizim çalışmamızda ise erken evredeki (evre I-III) toplam 78 hastanın ayrı olarak değerlendirdiğimizde CD133 ifade artışı ile hastaliksız sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bulamadık. Artells R ve arkadaşının çalışmasının aksine istatistiksel olarak anlamlı olmasa da CD133 ifade artışı ile hastaliksız sağkalım arasında negatif bir ilişki söz konusuydu. CD133 pozitif olan erken evredeki bu hastalarımız detaylı incelendiğinde bunların radikal cerrahi operasyon geçirdikleri ve cerrahi sonrası nispeten daha etkili adjuvan kemoterapi (FOLFOX4 şeması) aldıkları görülmektedir. CD133 pozitif hasta sayısının azlığı ve karıştırıcı olarak değerlendirilebilecek cerrahi müdahale, adjuvan tedavi vb faktörlerin rolünü dışlamak zor olacağı için ve istatistiksel olarak da anlamlı olmaması nedeniyle bu bulgumuz konusunda kesin bir yorum yapılması uygun değildir.

Hasta sayısının azlığı, parafinize dokulardan total RNA eldesi kalitesinde yaşanan zorluklar çalışmamızın başlıca kısıtlılıklarını oluşturmaktadır. CD133 pozitiflik oranımızın düşük olması nedeniyle kanser kök hücreleri marker pozitifliği olan ve olmayan hastaların klinikopatolojik olarak karşılaştırmaları da yeterli istatistiksel güce ulaşmamaktadır. Tez çalışmamızda elde edilen bulguların

klirik önemi konusu değerlendirilirken bu durumların göz önünde bulundurulmasında yarar vardır. Bu çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular CD133'ün klinik açıdan literatürde belirtilenin aksine farklı bir boyutu da olabileceği olasılığını gündeme getirmesi açısından ilginçtir. Bu bulgularımızın teyid edilmesi için hasta sayısının arttırılarak, ayrıca mümkün olabilir ise taze tümör dokuları ya da hastaların periferik kan hücrelerinden örnekler alınarak yapılacak çalışmalara gereksinim olduğunu düşünüyöruz.

VI. Geleceğe İlişkin Öngörülen Katkılar

Çalışmamızda kolorektal kanser kök hücresi markırı olan CD133 geni ifade düzeyinin KRK kanser hastalarının prognozu üzerindeki etki araştırıldı. Elde edilen bulguların kesin bir şekilde bu ilişkiyi ifade edebilmesi çalışmamızdaki teknik kısıtlılıklar nedeniyle sağlıklı değildir. Ancak çalışmamızın bir sonraki aşaması olarak uygun maddi destek bulunduğunda ilgili örneklerle immünohistokimyasal çalışmalar yapılacak ve sonuçlarımızın farklı bir teknik ile desteklenmesiyle bu ilişki hakkında daha kesin yorumlar yapabilmek şansımız olacaktır.

CD133 glikoproteininin KRK kök hücrelerinin en belirgin markırı olduğu düşünöldüğünde bu şekilde gerçekleştirilen kimliklendirme çalışmalarının olası ilaç hedefleri için önemi çok büyüktür. Bu nedenle projemizin devamı olan immünohistokimyasal çalışmalardan elde edeceğimiz bulgular daha net sonuçlara ulaşmamızda önemli bir basamak olacaktır. Elde ettiğimiz ve edeceğimiz veriler ile CD133'ün kolorektal kanser hastalarında olası bir ilaç hedefi olup olamayacağı sorusuna önemli bir katkı sağlamış olacağız.

VII. Sağlanan Altyapı Olanakları ile Varsa Gerçekleştirilen Projeler

Projemize sağlanan destek sadece sarf malzemeleri ve hizmet alımı için kullanılmıştır.

VIII. Sağlanan Altyapı Olanaklarının Varsa Bilim/Hizmet ve Eğitim Alanlarındaki Katkıları

IX. Kaynaklar

- 1- Gaiser T, Camps J, Meinhardt S, et al. Genome and transcriptome profiles of CD133-positive colorectal cancer cells. The American journal of pathology. 2011 Apr;**178**(4):1478-88.
- 2- Xi HQ, Zhao P. Clinicopathological significance and prognostic value of EphA3 and CD133 expression in colorectal carcinoma. Journal of clinical pathology. 2011 Jun;**64**(6):498-503.
- 3- Chen S, Song X, Chen Z, et al. CD133 expression and the prognosis of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. PloS one. 2013;**8**(2):e56380
- 4- Horst D, Kriegl L, Engel J, Kirchner T, Jung A. CD133 expression is an independent prognostic marker for low survival in colorectal cancer. British journal of cancer. 2008 Oct 21;**99**(8):1285-9.
- 5- Lin EH, Hassan M, Li Y, et al. Elevated circulating endothelial progenitor marker CD133 messenger RNA levels predict colon cancer recurrence. Cancer. 2007 Aug 1;**110**(3):534-42.
- 6- Artells R, Moreno I, Diaz T, et al. Tumour CD133 mRNA expression and clinical outcome in surgically resected colorectal cancer patients. European journal of cancer. 2010 Feb;**46**(3):642-9.
- 7- Huh JW, Park YS, Lee JH, Kim HR, Shin MG, Kim YJ. CD133 mRNA expression and microsatellite instability in colorectal carcinoma. Journal of surgical oncology. 2010 Dec

1;**102**(7):765-70.

- 8- Todaro M, Francipane MG, Medema JP, Stassi G, Colon Cancer Stem Cells: Promise of Targeted Therapy, *Gastroenterology*, 2010 Jun;138(6):2151-62.
- 9- Roy S, Majumdar A, Signaling in Colon Cancer Stem Cells, *Journal of Molecular Signaling* 2012, 7:11
- 10- Anderson EC, Hessman C, Levin TG, Monroe MM, Wong MH, The Role of Colorectal Cancer Stem Cells in Metastatic Disease and Therapeutic Response, *Cancers* 2011, 3(1), 319-339
- 11- Kennedy RD, Q'Brien E, Bylesjo M, Kerr P, Davison T, *et.al.*, Development and Independent Validation of a Prognostic Assay for Stage II Colon Cancer Using Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue, *J Clin Oncol.* 2011 Dec 10;29(35):4620-6
- 12- Ziskin JL, Dunlap D, Yaylaoglu M, *et al.*, In situ validation of an intestinal stem cell signature in colorectal cancer, *Gut* (2012). doi:10.1136/gutjnl-2011-301195
- 13- Merlos-Suárez A, Barriga FM, Jung P, Iglesias M, Céspedes MV, Rossell D, *et.al.*, The Intestinal Stem Cell Signature Identifies Colorectal Cancer Stem Cells and Predicts Disease Relapse, *Cell Stem Cell.* 2011 May 6;8(5):511-24
- 14- Schneider M, Huber J, Hadaschik B, *et.al.*, Characterization of colon cancer cells: a functional approach characterizing CD133 as a potential stem cell marker, *BMC Cancer* 2012, 12:96 doi:10.1186/1471-2407-12-96
- 15- Choi D, Lee HW, Hur KY, *et.al.*, Cancer stem cell markers CD133 and CD24 correlate with invasiveness and differentiation in colorectal adenocarcinoma, *World J Gastroenterol.* 2009 May 14; 15(18): 2258–2264
- 16- Zhang H, Li W, Nan F, Ren F, Wang H, Xu Y, Zhang F, MicroRNA expression profile of colon cancer stem-like cells in HT29 adenocarcinoma cell line, *Biochem Biophys Res Commun.* 2011 Jan 7;404(1):273-8
- 17- Hao JM, Chen JZ, Sui HM, Si-Ma XQ, *et.al.*, A five-gene signature as a potential predictor of metastasis and survival in colorectal cancer, *J Pathol.* 2010 Mar;220(4):475-89

X. Ekler

a. Mali Bilanço ve Açıklamaları

Çalışmamıza sağlanan destek sarf malzeme ve hizmet alımı için kullanılmış olup aşağıdaki tabloda detayı verilmiştir.

| <u>Malzeme Türü</u> | <u>Malzeme Adı</u> | <u>Malzeme Ölçüsü</u> | <u>Malzeme Maliyeti</u> |
|---------------------|---|-----------------------|-------------------------|
| Sarf Malzemesi | LC Nano gen ekspresyon seti | 1 adet | 18,434,52 TL |
| Hizmet Alımı | AGILENT RNA Bütünlük ve Miktar Tayini Analizi | 1 adet | 1,564,68 TL |
| TOPLAM | | | 19,999,20TL |

- b. Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar
- c. Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar (varsa Kesim III'de yer almayan analiz ayrıntıları)
- d. Sunumlar (bildiriler ve teknik raporlar) **(Altyapı Projeleri için uygulanmaz)**
- e. Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler) ve tezler **(Altyapı Projeleri için uygulanmaz)**

NOT: Verilen sonuç raporu bir (1) nüsha olarak ciltsiz şekilde verilecek, sonuç raporu Komisyon onayından sonra ciltlenerek bir kopyasının yer aldığı CD ile birlikte sunulacaktır. Sonuç raporunda proje sonuçlarını içeren, ISI' nın SCI veya SSCI veya AHCI dizinleri kapsamında ve diğer uluslar arası dizinlerce taranan hakemli dergilerde yayınlanmış makaleler, III. Materyal ve Yöntem ve IV. Analiz ve Bulgular bölümleri yerine kabul edilir.

