



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**KOLOREKTAL KANSER HASTALARINDA ENDOĞLİN  
DÜZEYLERİ İLE ENFLAMATUVAR  
MİKROÇEVRE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Gizem ÖZŞENER**

**DİSİPLİNLERARASI KLİNİK ECZACILIK ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Filiz BAKAR ATEŞ**

**ANKARA  
2019**



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KOLOREKTAL KANSER HASTALARINDA ENDOĞLİN  
DÜZEYLERİ VE ENFLAMATUVAR MİKROÇEVRE  
İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Gizem ÖZŞENER**

**DİSİPLİNLERARASI KLİNİK ECZACILIK ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Filiz BAKAR ATEŞ**

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün  
18L0237008 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ANKARA**

**2019**

## ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne,

Yüksek lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Kolorektal Kansere Hastalarında Endoglin Düzeyi ile Enflamatuvar Mikroçevre İlişkisinin Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Gizem Özşener

Tarih: 26 Ağustos 2019

İmza:

## KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Disiplinlerarası Klinik Eczacılık Anabilim Dalında Gizem ÖZŞENER tarafından hazırlanan 'Kolorektal Kanser Hastalarında Endoglin Düzeyleri ile Enflamatuvar Mikroçevre İlişkisinin Araştırılması' adlı tez çalışması, aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/ OY ÇOKLUĞU ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26 Ağustos 2019



Prof. Dr. Tanju Özçelikay

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı



Prof. Dr. Sevgi Akaydın

Gazi Üniversitesi



Doç. Dr. Filiz Bakar Ateş

Ankara Üniversitesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet AKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

# İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	ix
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Kolorektal Kanser	3
1.1.1. Epidemiyolojisi	3
1.1.2. Etyolojisi	6
1.1.3. Hastalığın Moleküler Temeli	8
1.2. Enflamasyon	9
1.2.1. Tanımı	9
1.2.2. Enflamasyon ve Yeni Kan Damarı Oluşumu (Neovaskülerizasyon)	10
1.3. Enflamasyon ve Kanser İlişkisi	11
1.3.1. Enflamasyon – Kanser İlişkisinde İntrinsik Yolak	14
1.3.2. Enflamasyon – Kanser İlişkisinde Ekstrinsik Yolak	16
1.3.3. Kanser-Enflamasyon İlişkisinde Başlıca Anahtar Regülatörler	18
1.3.3.1. NfκB (Nuclear Factor Kappa-Light-Chain)	18
1.3.3.2. TNF-α	19
1.3.3.3. Tümör ilişkili Makrofajlar (TAM)	20
1.3.3.4. İnterlökinler	21
1.3.3.5. Sitozolik Fosfolipaz A2 (cPLA <sub>2</sub> )	21
1.3.3.6. Sekretuar Fosfolipaz A2 (sPLA <sub>2</sub> )	22
1.4. Endoglin	23
1.4.1. Endoglin Yapısı ve Ekspresyonu	24
1.4.2. Fonksiyonu	28
1.4.3. Endoglin ve Anjiyogenez	30
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>31</b>
2.1. Kullanılan cihazlar	32
2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
2.3. İstatistiksel Analiz	33
2.4. ELISA Ölçümleri	34
2.4.1. İnsan Plazma Sitozolik Fosfolipaz A2 (cPLA <sub>2</sub> ) Düzeyi Tayini	34
2.4.2. İnsan Plazma Sekretuar Fosfolipaz A2 (sPLA <sub>2</sub> ) Düzeyi Tayini	36
2.4.3. İnsan Plazma Endoglin Düzeyi Tayini	39
2.4.4. İnsan Plazma NF-κB Düzeyi Tayini	42
2.4.5. İnsan Plazma TGF-β1 Düzeyi Tayini	44
2.5. PCR Ölçümleri	47
2.5.1. cDNA Sentezi	47
2.5.2. Gen Ekspresyon Düzeylerinin Saptanması	48
<b>3. BULGULAR</b>	<b>49</b>
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>58</b>
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>65</b>

<b>ÖZET</b>	<b>67</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>68</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>69</b>
<b>EKLER</b>	<b>85</b>
Ek-1 Etik Raporu	85
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>88</b>



## ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının konusunu kolorektal kanser hastalarında endoglin düzeylerinin enflamatuvar mikroçevre ile ilişkisinin araştırılması oluşturmaktadır. Yürütülen çalışmada kapsamında, kolorektal kanser tanısı konmuş hasta gönüllü ve sağlıklı gönüllülerden toplanan kan örneklerinden elde edilen plazma ve RNA örneklerinde endoglin düzeyleri, enflamatuvar mikroçevre bileşenlerinden olan NFκB, TGF-β1, cPLA<sub>2</sub>, sPLA<sub>2</sub> düzeyleri ile karşılaştırılmıştır.

Yüksek Lisans sürecimin birçok basamağında, katkı ve tavsiyelerini esirgemeyen, destek olan, belirli bir süre tez danışmanlığımı yapan çok değerli hocam Prof. Dr. Serpil NEBİOĞLU' na teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans tez çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, beni aydınlatan, çalışmalarımda beni her zaman desteklemiş ve bu tezin bitirilmesi konusundaki emeklerini asla ödeyemeyeceğim çok değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Filiz BAKAR ATEŞ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında bana rahat bir çalışma ortamı sağlayan Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. A. Tanju ÖZÇELİKAY'a teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerini her zaman arkamda hissettiğim aileme ve gerçek dostlarıma sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.



## SİMGELER VE KISALTMALAR

AA	Araşidonik Asit
AKT	Protein Kinaz B
APC	Adenomatöz Polipozis Koli
COX	Siklooksijenaz
cPLA <sub>2</sub>	Sitozolik Fosfolipaz A <sub>2</sub>
CRC	Kolorektal Kanser
FAP	Ailesel Adenomatöz Polipoz
GSK-3 $\beta$	Glikojen Sentaz Kinaz-3 $\beta$
HNPCC	Hereditör Non-Polipoz Kolorektal Kanser
IL	İnterlökin
MMR	Yanlış Eşleşme Onarımı
Nf $\kappa$ B	Nükleer Faktör Kappa B
NO	Nitrik Oksit
PG	Prostaglandin
PI3K	Fosfatidilinositol 3-Kinaz
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
sPLA <sub>2</sub>	Sekretuar Fosfolipaz A <sub>2</sub>
TAM	Tümör-ilişkili Makrofajlar
TGF- $\beta$	Transforme Edici Büyüme Faktörü- $\beta$
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

## ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Dünyada Yeni Vaka ve Ölüm Sayısı 2018 (Her iki cinsiyet, tüm yaşlar)	4
Şekil 1.2. Türkiye’de Yeni Vaka Sayısı 2018 (Her iki cinsiyet, tüm yaşlar)	5
Şekil 1.3. Akut ve kansere bağlı enflamasyonun ilerlemesindeki farklılıklar.	11
Şekil 1.4. Enflamasyon ve kanseri bağlayan moleküler yollar	13
Şekil 1.5. Endoglinin Yapısı.	26
Şekil.1.6. Kan damarları ve endoglin ilişkisi.	27
Şekil 1.7. Endoglin ve ALK1, ALK5 sinyal yolları.	29
Şekil 2.1. Endoglin ELISA yöntemi kalibrasyon eğrisi	36
Şekil 2.2. NfκB ELISA yöntemi kalibrasyon eğrisi	39
Şekil 2.3. TGF-β1 ELISA yöntemi kalibrasyon eğrisi	41
Şekil 2.4. cPLA <sub>2</sub> ELISA yöntemi kalibrasyon eğrisi	44
Şekil 2.5. sPLA <sub>2</sub> ELISA yöntemi kalibrasyon eğrisi	47
Şekil 3.1. Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait plazma endoglin düzeyleri (ng/ml)	50
Şekil 3.2. Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait plazma NFκB düzeyleri (ng/ml)	51
Şekil 3.3. Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait plazma TGF-β1 düzeyleri (ng/ml)	51
Şekil 3.4. Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait plazma cPLA <sub>2</sub> düzeyleri (ng/ml)	52
Şekil 3.5. Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait plazma sPLA <sub>2</sub> düzeyleri (ng/ml)	52
Şekil 3.6. Kolorektal kanser grubuna ait NfκB ve endoglin düzeyi korelasyon eğrisi.	53
Şekil 3.7. Kolorektal kanser grubuna ait TGF-β1 ve endoglin düzeyi korelasyon eğrisi.	54
Şekil 3.8. Kolorektal kanser grubuna ait cPLA <sub>2</sub> ve endoglin düzeyi korelasyon eğrisi.	54
Şekil 3.9. Kolorektal kanser grubuna ait sPLA <sub>2</sub> ve endoglin düzeyi korelasyon eğrisi.	55
Şekil 3.10. Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait PLA <sub>2</sub> mRNA ekspresyonu düzeyleri.	56
Şekil 3.11. Kolorektal kanser hasta ve kontrol grubu örneklerine ait PLA <sub>2</sub> PCR gen eğrisi	56
Şekil 3.12. Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait endoglin mRNA ekspresyonu düzeyleri.	57
Şekil 3.13. Kolorektal kanser hasta ve kontrol grubu örneklerine ait endoglin PCR gen eğrisi	57

## ÇİZELGELER

<b>Çizelge 3.1.</b> Kolorektal kanser ve kontrol grubuna ait demografik veriler	49
<b>Çizelge 3.2.</b> Kolorektal kanser ve kontrol grubu plazma endoglin, NFκB, TGF-β1, cPLA <sub>2</sub> , sPLA <sub>2</sub> düzeyleri.	53
<b>Çizelge 3.3.</b> Kolorektal kanser grubu korelasyon analiz sonuçları.	55
<b>Çizelge 3.4.</b> Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait endoglin ve PLA2 mRNA ekspresyonu düzeyleri.	57



## 1. GİRİŞ

Kanser, hücrelerin sürekli ve kontrolsüz şekilde çoğalmaları ile karakterize bir hastalıktır. Kanserde, normal hücre davranışını kontrol eden sinyallere uygun şekilde cevap vermek yerine, hücreler kontrolsüz bir şekilde büyüyüp bölünmekte, normal dokuları ve organları istila etmekte ve sonunda tüm vücuda yayılmaktadır. Kanser hücreleri tarafından sergilenen genel hücresel büyüme kontrolünün kaybı, çoklu hücresel regülasyon sistemlerinde birikmiş anormalliklerin net sonucudur ve kanser hücrelerini normal hücrelerden ayırmaktadır. Kanser, vücuttaki farklı hücre türlerinin herhangi birinin anormal çoğalmasından kaynaklanabilmektedir. Bu nedenle, progresyonu ve tedaviye yanıtı önemli ölçüde değişebilen yüzden fazla farklı kanser türü tanımlanmıştır. (Ulusal Kanser Enstitüsü, 2015)

Kolorektal kanser (CRC), günümüzde giderek yaygınlaşan kanser türleri arasında ön sıralarda yer almaktadır ve her yıl dünya çapında bir milyondan fazla yeni CRC teşhisi konulmaktadır (Tenesa ve Dunlop, 2009). CRC, dünya genelinde en yaygın 3. malignite ve en yaygın 4. mortalite nedeni olarak görülmektedir (Tenesa ve Dunlop, 2009). CRC vakalarının sadece % 20'si ailesel temelli olup (Rustgi, 2007), bazıları, herediter nonpolipozis kolorektal kanser (Lynch sendromu) ve ailevi adenomatöz polipozis gibi iyi tanımlanmış sendromlarla ilişkilidir. Bununla birlikte, CRC vakalarının en büyük kısmı, kalıtsal genetik değişiklikler yerine çevresel nedenlerle ilişkili bulunmuştur. Çevresel ve gıda kaynaklı mutajenler, spesifik bağırsak patojenleri, ve tümör gelişiminden önce görülen kronik bağırsak enflamasyonu, kolorektal kanser gelişimi için risk faktörleri olarak kabul edilmektedir. (Westbrook ve ark., 2010)

Kanser ile enfeksiyon ve enflamasyon arasındaki ilişki uzun süredir bilinmektedir ve enflamasyon varlığı ile çeşitli pre-kanseröz lezyonların gelişimi arasında güçlü

korelasyon olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Örneğin, prostatit nedeni ile prostat kanseri gelişim riskinde %14 (Rothman ve ark., 2004; Nelson ve ark., 2004; Rosenblatt ve ark., 2001), ülseratif kolit nedeniyle kolorektal kanser gelişimi riskinde %25 (Adelstein ve ark., 1979; Loftus, 2006) ve pankreatit geçirmiş hastalarda pankreas kanseri gelişme riskinde 10-20 kat (6-8) artış olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, enflamasyon varlığının karsinogenezi indüklediği ya da kolaylaştırdığı düşünülmektedir.

Enflamasyonun farklı nedenlerle kanser gelişimine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Enfeksiyon ajanlarının doğrudan kansere neden olabileceği (Beatty, 2014), immün aracılı hastalıkların kronik enflamasyon oluşumunu desteklemesi (Francescone ve ark., 2015), obezite vb. gibi subklinik enflamasyon durumu (Calle ve Kaaks, 2004), ve çevresel karsinojenler (Cohen ve Pope, 1995) bu nedenler arasında yer almaktadır.

Bu tez önerisinde, CRC hastalarında bir transmembran glukoprotein olan ve enflamasyonlu dokularda ekspresyonunun arttığı bilinen endoglin düzeyi ile enflamatuvar mikroçevre ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda, kolorektal kanser tanısı almış hastalardan ve sağlıklı gönüllülerden toplanan kan rneklelerinde, plazma endoglin düzeyi ve enflamatuvar belirteçlerden olan NF-kB, sekretuar ve sitozolik fosfolipaz A<sub>2</sub> (sPLA<sub>2</sub>, cPLA<sub>2</sub>) ve TGFB1 plazma düzeyleri saptanmış ve korelasyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, endoglin ile PLA<sub>2</sub> mRNA ekspresyon düzeyleri de belirlenerek elde edilen bulgular kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

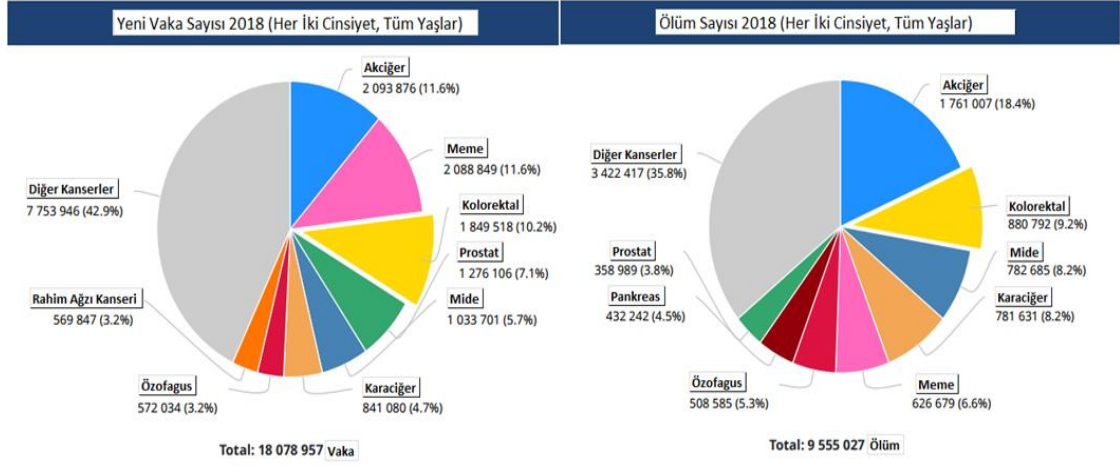
## 1.1. Kolorektal Kanser

### 1.1.1.Epidemiyolojisi

CRC, kolonda ya da rektumda başlayan bir kanser türüdür. Bu kanserler, nerede başladıklarına bağlı olarak kolon kanseri veya rektal kanser olarak da adlandırılabilir.

CRC dünya çapında en yaygın üçüncü kanser tipidir ve kansere bağlı ölümlerin ikinci nedenini oluşturmaktadır (Globocan, 2018). Son yıllarda yapılan araştırma sonuçlarına göre, tüm malign tümörlerin % 13' ünü oluşturan, gastrointestinal sistemdeki en yaygın malign tümör olarak kabul edilmektedir. Gelişmiş ve gelişmemiş ülkelerde, kadınları ve erkekleri aynı şekilde etkilemekte olan kolorektal kansere bağlı ölüm oranının, önümüzdeki yıllarda kalp hastalıkları mortalite oranının üzerine çıkması beklenmektedir (Calva ve Acevedo, 2009; Dobre ve ark., 2015; Siegel ve ark., 2015).

2018'de 1,8 milyondan fazla yeni CRC vakası ve 881 bin ölüm olacağı tahmin edilmektedir (Şekil 1.1). Yapılan değerlendirmelerde, CRC'nin insidans açısından üçüncü, mortalite açısından ise ikinci sırada yer aldığı görülmüştür (Şekil 1.1) (Globocan, 2018)

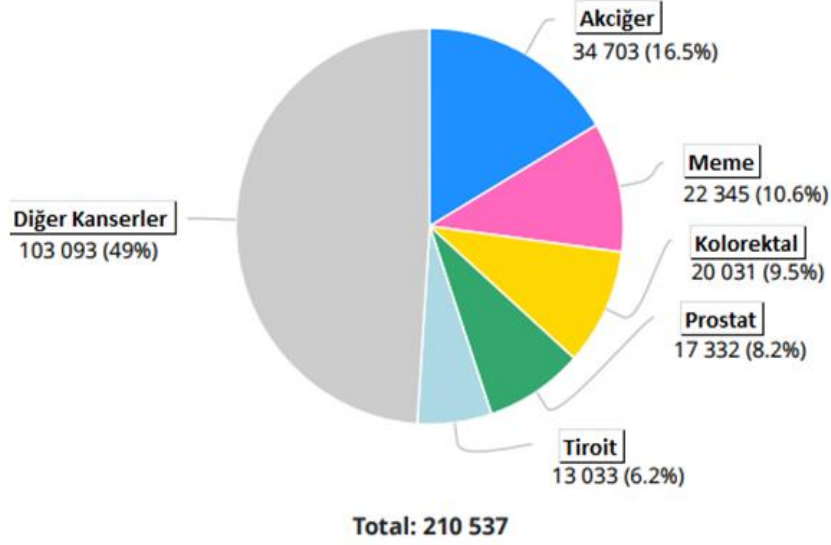


**Şekil 1.1.** Dünyada Yeni Vaka ve Ölüm Sayısı 2018 (Her iki cinsiyet, tüm yaşlar) (Globocan, 2018).

CRC insidans oranları, dünyada kolon kanserinde 8 kat ve rektal kanserde 6 kat farklı olacak şekilde geniş ölçüde değişmektedir. Hastalık, sosyoekonomik gelişimin bir göstergesi olarak düşünülmektedir ve gelişme sürecine giren ülkelerdeki kolorektal kanser insidansının, artan insani gelişme indeksi (HDI) ile orantılı bir şekilde artma eğilimi gösterdiği bildirilmiştir (Fidler ve ark., 2016).

Türkiye’de 2018 yılında 210 537 yeni kanser vakası bildirilmiştir. Bu kanseler içinde kolorektal kanser, % 9.5 oran ve 20 031 yeni vaka sayısı ile en çok görülen üçüncü kanser türüdür (Şekil 1.2) (Globocan, 2018).

## Yeni Vaka Sayısı 2018 (Her İki Cinsiyet, Tüm Yaşlar)



**Şekil 1.2.** Türkiye’de Yeni Vaka Sayısı 2018 (Her iki cinsiyet, tüm yaşlar) (Globocan, 2018).

İnsidanstaki artışın nedeni ile ilgili yapılan araştırmalar, diyet örüntüleri, obezite ve yaşam tarzı faktörlerinin etkisine işaret ederken, daha gelişmiş ülkelerde görülen mortalite düşüşleri, gelişmiş ülkelerde kanser tedavisi ve yönetimi ile ilgili uygulamalarda en iyi olanın benimsenmesi ile hayatta kalma arasındaki iyileşmeleri yansıtmaktadır (Arnold ve ark., 2017). ABD ve Japonya’da olduğu gibi 1990’larda uygulanmaya başlanan, tarama ve erken teşhis programları da etkili olmuştur (Schreuders ve ark., 2015).



### 1.1.2. Etyolojisi

Yapılan araştırmalar, CRC gelişimindeki en önemli etkenin genetik faktörler olduğunu göstermektedir.

Spesifik genlerdeki mutasyonlar, diğer kanser türlerinde olduğu gibi CRC başlamasına neden olabilmektedir. Bu mutasyonlar onkogenlerde, tümör baskılayıcı genlerde ve DNA tamir mekanizmalarında ilişkili genlerde ortaya çıkabilir (Fearon ve Vogelstein, 1990). Mutasyonun kökenine bağlı olarak kolorektal karsinomlar sporadik, kalıtsal ve ailesel olarak sınıflandırılmaktadır. Yaşam boyunca ortaya çıkan nokta mutasyonları, kalıtsal sendromlarla ilişkili değildir ve sadece bireysel hücreleri ve onun dokularını etkilemektedir (Mármol ve ark., 2017). Nokta mutasyonlarından türetilen kanserlere sporadik kanserler denir ve bu tür kanserler, tüm CRC'lerin % 70'ini oluşturur. Sporadik kanserin moleküler patogenezi, mutasyonlar farklı genleri hedef alabildiğinden heterojendir (Fearon ve Vogelstein, 1990). Bununla birlikte, CRC vakalarının yaklaşık % 70' i, bir adenom oluşumuyla başlayıp daha sonra karsinom durumunda sona eren belirli bir morfolojik diziye çevrilen spesifik bir mutasyon dizisini takip eder. İlk mutasyon, polip olarak da adlandırılan, malign olmayan adenomların oluşumunu tetikleyen, bir tümör baskılayıcı gen olan adenomatous polipozis koli (APC) 'de meydana gelir. Bu adenomların yaklaşık % 15'inin on yıllık bir süre içinde karsinomaya dönüşmesi beklenir. Bu APC mutasyonunu KRAS, TP53 ve son olarak DCC'deki mutasyonlar takip eder (Fearon ve Vogelstein, 1990).

Kalıtsal kanserler, tüm CRC vakalarının sadece % 5'ini oluşurmaktadır. Bu kanserlere, mutasyona uğramış genin alellerinden birini etkileyen kalıtsal mutasyonlar neden olur, bu da diğer aleldeki bir nokta mutasyonunun tümör hücresini ve ardından karsinomun ortaya çıkmasını tetikleyeceği anlamına gelir. Kalıtsal kanserlerin daha doğru bir şekilde sınıflandırılmasını sağlamak için, polipoz ve polipoz olmayan formlar olmak üzere iki grup kurulmuştur. Polipoz varyantı esas

olarak, kolonda potansiyel olarak çok sayıda malign polip oluşumu ile karakterize olan familyal adenomatöz polipozisi (FAP) içerir (Lynch, 2003). Buna karşılık, kalıtsal polipoz olmayan kolorektal kanser (HNPCC), DNA tamir mekanizmasındaki mutasyonlarla ilgilidir. HNPCC'nin ana nedeni, MSH2, MLH1, MLH6, PMS1 ve PMS2 gibi DNA tamir proteinlerini kodlayan alellerden birinde kalıtsal mutasyonların neden olduğu Lynch sendromudur. Lynch sendromu tüm CRC vakalarının % 2-3 'ünde bulunabilir ve bu nedenle HNPCC grubunda en sık görülen sendromdur (Lynch, 2003; Umar ve ark., 2004). Ailesel CRC tüm vakaların yaklaşık % 25' ini oluşturur ve kalıtsal mutasyonlardan kaynaklanır, ancak kalıtsal herhangi bir kanser varyantına dahil edilemedikleri için kendi başına kalıtsal kanserler olarak sınıflandırılmazlar (Stoffel ve Kastrinos; 2014).

CRC, multifaktöriyel bir hastalık sürecidir ve kalıtsal faktörlerin yanı sıra, beslenmenin de dahil olduğu çevresel etkenler, gastrointestinal sistemin enflamasyonu gibi durumlar CRC gelişiminde etkisi tanımlanmış diğer faktörlerdir. Obezite alkol kullanımı, sigara ve hareketsiz yaşam tarzı artmış CRC riski ile ilişkilendirilmiştir. Prospektif kohort çalışmalar sonucunda, sigara içenlerde, CRC riskinde belirgin artış olduğu tespit edilmiştir. Bu risk erkek bireylerde, kolon kanserinden daha çok olarak rektal kanserde görülmüştür ve sigarayı bırakmış olanlarda da riskin devam ettiği bildirilmiştir (Tsoi ve ark., 2009). Ailesinde CRC öyküsü olan bireylerde alkol tüketiminin, kolorektal kanser riskini artırdığı da saptanmıştır (Cho ve ark., 2012).

CRC'nin biyolojik ve kalıtsal özelliklerini anlamaya yönelik önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Edinilen bilgiler; klinik kullanımla birleştirilerek kolorektal kanser gelişiminde bireysel risklerin daha kapsamlı şekilde ele alınması, daha iyi tarama stratejilerinin bulunması, hastalığın seyrinin daha iyi değerlendirilmesi ve uygulanacak antikanser tedavilerin etkinliğinin daha etkili şekilde saptanabilmesi alanında rol oynamaya başlamıştır.

### 1.1.3. Hastalığın Moleküler Temeli

Kolorektal adenokarsinoma gelişimi sırasında, gastrointestinal sistemin epitelyal hücrelerinde, spesifik onkogenler ve/veya tümör baskılayıcı genlerdeki ardışık genetik ve epigenetik mutasyonlar gelişmekte, bu durum, söz konusu hücrelerin proliferasyon ve kendini yenileme yetenekleri üzerinde selektif bir etkinlik sağlamaktadır (Ewing ve ark., 2014; Pancione ve ark., 2012). Böylece, normal epitel doku, hiperproliferatif bir mukoza haline gelmekte ve yaklaşık on yıla yakın bir sürede karsinoma ve metastaz haline dönüşen iyi huylu bir adenoma yol açmaktadır (Vogelstein ve ark., 1988).

Somatik mutasyonlara bağlı sporadik CRC'ler tüm kolorektal kanserlerin yaklaşık % 70' ini oluşturmaktadır (Burt, 2000). Onkogen ya da tümör baskılayıcı genlerdeki germline minör varyant ya da tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), hastalığın ailesel tiplerinden sorumlu olup, aynı genlerdeki mutasyonları inaktive ederken kalıtsal CRC'ye neden olduğu bildirilmiştir (Duraturo ve ark., 2011; Jaspersen ve ark., 2010). Ailesel adenomatöz polipoz ve Lynch Sendromu olarak bilinen Herediter Non-Polipoz Kolorektal Kanser (HNPCC)'ler, kalıtsal kökenli temel CRC türleri olarak bilinmektedir (Rustgi, 2007).

Moleküler düzeyde, CRC çok heterojen bir hastalık grubudur. Kromozomal instabilite, anormal DNA metilasyonu ve DNA onarım defektleri, kolorektal epitelyal hücre transformasyonuna katılan mekanizmalar olup CRC gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar (Boland, 2010; Goel ve ark., 2007; Pino ve Chung, 2010; Sideris ve Papagrigroriadis, 2014). CRC gelişimi ile ilgili çeşitli yollar bulunmaktadır. Bunlardan birincisi, sporadik kolorektal kanserin % 80' inde mevcut olan kromozom instabilitesidir. İkincisi ise, sporadik kanserin % 20' sinde ve herediter kolorektal kanserin %80' inde esas olarak saptanan ve APC (% 60), p53 (%

70), DCC (% 70), KRAS (% 40) ve BAX (% 50) genlerinin mutasyonları ile ilişkili olan yolaktır (Kelsen ve ark., 2008).

CRC başlangıcında, Wnt / APC /  $\beta$ -katenin, fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) / AKT / glikojen sentaz kinaz-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ), transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) / Smad, Nf $\kappa$ B ve yanlış eşleşme onarımı genlerindeki (MMR) mutasyonlar gibi çeşitli değişmiş moleküler sinyalleme yolları yer almaktadır. Bu değişiklikler, kansere karşı bireysel duyarlılık kazandırmakta ve anti-tümör ajanlarına karşı yanıtızsızlık ya da dirençten sorumlu oldukları bildirilmektedir. (Colussi ve ark., 2013; Markowitz ve Bertagnoli, 2009).

## **1.2. Enflamasyon**

### **1.2.1. Tanımı**

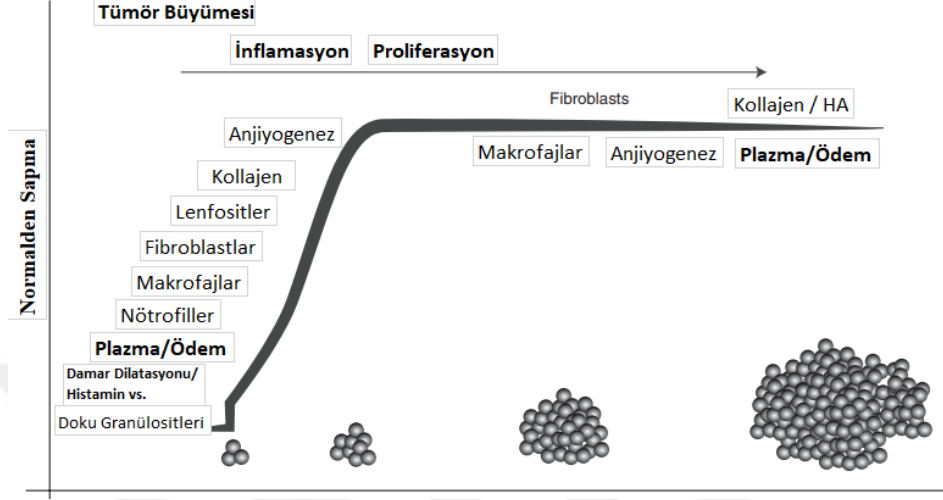
Enflamasyon, potansiyel patojenleri yok etmek, daha fazla doku hasarının oluşumunu sınırlandırmak ve onarım mekanizmalarını harekete geçirmek amacı ile hızlı bir savunma mekanizması görevi üstlenmiş, güçlü bir yanıttır (Ferrero-Miliani ve ark., 2007). Enflamasyon, patojenleri veya travmaları tespit eden ve nörotransmitterler şeklinde sinyaller göndererek lokal yanıtı ve diğer hücrelerin bölgeye göçünü güçlendiren, dokuya yerleşik hücreler tarafından başlatılmaktadır (Chertov ve ark., 2000). Enflamatuvar süreci gösteren ve klinik olarak gözlemlenebilen dört özellik bulunmaktadır: dolor (ağrı), calor (ısı), rubor (kızarıklık) ve tumor (şişlik) (Ciaccia, 2011).

### 1.2.2. Enflamasyon ve Yeni Kan Damarı Oluşumu (Neovaskülerizasyon)

Enflamasyona bağlı üretilen sitokinlerin bazıları, kemokinler olarak hareket etmektedirler ve bu durum hücrelerde, damardan dışarıya çıkarken ve dokuya göç ederken gerekli ipuçlarını sağlamak üzere kimyasal gradyanlar oluşturmaktadır. Kemokinler, nötrofillerin ve diğer lökositlerin yanı sıra anjiyogenik kan damarlarının oluşmasında da rol oynamaktadır (Pold ve ark., 2004; Schenk ve ark., 2002). Bu kemokinlere yanıt olarak, nötrofiller ve monositler dokuya girmektedir (Klintrup ve ark., 2005). Nötrofiller, mikroorganizmaları ve hücre kalıntıları fagositoz etmekte ve yanıtı arttırmak için ek sitokinleri salgılamaktadır. Ayrıca yerleşik granüositlere benzer antimikrobiyal molekülleri de serbest bırakabilmekte ve nötrofil ekstraselüler tuzaklar (NET) oluşturmaktadır. NET'ler, fagositoz olmaksızın bakterileri ve mantarları yakalayıp öldüren nötrofil elastaz, katepsin G ve miyelo-peroksidaz dahil olmak üzere histon ve granül proteinleri ile kaplanmış DNA zengini fiber ağlardır (Hakkim ve ark., 2011; Hu ve ark., 2016; Shan ve ark., 2014; Tamarozzi ve ark., 2016). Monositler dokuya girdiklerinde makrofajlara farklılaşabilmekte ve ayrıca hücreleri ve debrisleri fagosite edebilmektedirler (Huang ve ark., 2011; Khatami, 2014; Sica ve ark., 2008).

Inflamatuvar yanıtlarda yeni kan damarları da oluşturulmaktadır. Doku ve kan damarlarının zarar görmesi, hücrelerin hareketi ve artan hücre aktivitesi, yeni kan damarlarının oluşmasını başlatan hipoksi durumunun gelişmesine katkıda bulunmaktadır (Li ve ark., 2003). Akut enflamasyonda, yeni kan damarlarının oksijen iletimini arttırması, hipoksiyi ve VEGF gibi anjiyojenik büyüme faktörlerini azaltması nedeni ile neovaskülerizasyon kendi kendisini sınırlamaktadır. Başarılı bir inflamatuvar yanıtta, bu adımlar (immün hücre alımı, patojenlerin ortadan kaldırılması ve hasarlı dokusunun onarılması), homeostazinin sağlanması için yeterlidir. Otoimmün enflamasyonda ise, yanıtı sürdürmek için sürekli bir öz-antijen kaynağı gereksinimi söz konusudur. İnflamasyonun giderilmesi, sürekli olarak doku yapısını

bozan, inflamatuvar sitokinler üreten ve inflamatuvar hücreleri toplayarak büyüyen bir tümör tarafından engellenebilmektedir (Şekil 1.3) (Munn, 2017).



**Şekil 1.3.** Akut ve kansere bağlı enflamasyonun ilerlemesindeki farklılıklar. Hücrelerin ve proseslerin çoğu ortak olmakla birlikte, akut enflamasyon, patojenin ortadan kaldırılmasından ve/veya dokunun stabilize edilmesinden sonra düzeldirken; kansere bağlı enflamasyonda sürekli mekanik bozulma, sitokin ve büyüme faktörü üretimi ve hücre alımı vardır, bu nedenle enflamasyon devam eder (Munn, 2017).

### 1.3. Enflamasyon ve Kanser İlişkisi

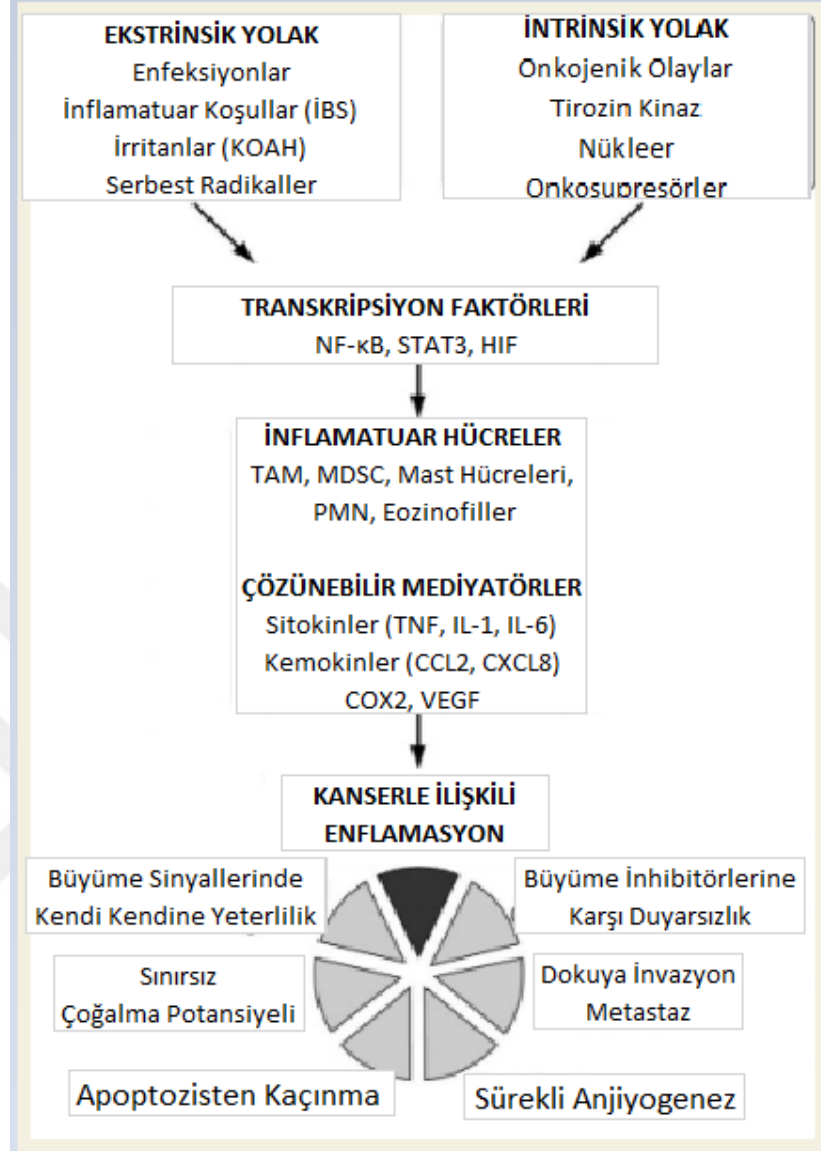
19. yüzyılda, Alman Patolog Virchow, tümörlerin sıklıkla kronik enflamasyon ortamında geliştiği ve tümör biyopsi örneklerinde inflamatuvar hücrelerin mevcut olduğu gözlemine dayanarak, enflamasyon ve kanser arasındaki nedensel bağlantıyı öne sürmüştür (Balkwill ve Mantovani, 2001)

Epidemiyolojik çalışmalar, kronik enflamasyonun farklı kanser türlerine zemin hazırladığını ortaya çıkarmıştır. Literatürde, kronik enflamasyon durumunun kanser gelişimini destekleyebildiği ve tümörden kaynaklı enflamasyonun “kartopu” etkisi yaratarak tümör ilerlemesini sürdürdüğünü gösteren kanıtlar bulunmaktadır (Lin ve

Karin, 2007). Dünya çapında kansere bağlı ölümlerin %15-20'sinin, altta yatan inatçı enfeksiyonlara ve kronik enflamasyona karşı gelişmiş enflamatuvar yanıtlara bağlı olduğu tahmin edilmektedir (Mantovani ve ark., 2008; Mantovani ve ark., 2010; Wang ve Goldenring, 2002).

Kanser riskini arttıran kronik enflamasyonun tetikleyicileri arasında mikrobik enfeksiyonlar (mide kanseri ve mukozal lenfoma için *Helicobacter pylori*), otoimmün hastalıklar (örn. kolon kanseri için iltihaplı bağırsak hastalığı) ve belirsiz kökenli kriptojenik enflamatuvar durumlar (örn. Prostat kanseri için prostatit) yer almaktadır (Del Prete ve ark., 2011).

Enflamasyon ve kanseri birbirine bağlayan moleküler ve hücresele yolaklar bulunmakta olup, şematik olarak iki genel yolak tarif edilmektedir (Şekil 1.4) (Mantovani ve ark., 2008).



**Şekil 1.4.** Enflamasyon ve kanseri bağlayan moleküler yollar (Mantovani ve ark., 2008)

İntrinsik yolda, neoplastik transformasyona neden olan genetik olaylar (örn., onkojenler, genetik aberasyonlar), enflamatuvar bir mikro ortamın gelişimini yönlendiren ve enflamasyon ile ilişkili programların ekspresyonunu başlatmaktadır.

Ekstrinsik yolak ise, enflamatuvar lökositler ve kanser riskini artıran çözünür mediatörler tarafından yönlendirilmektedir. Patojenlerin (örn., Hepatit B ve C virüsleri ve *Helicobacter pylori*) neden olduğu enfeksiyonlar ile ilişkili kronik



enflamasyon tümör gelişiminin başlatılmasını ve ilerlemesini kolaylaştırır (Vannucci ve ark., 2009). Ayrıca, mekanik, radyasyon ve kimyasal etkenlerin de insanlarda, malignite ile ilişkili enflamasyonun uyarılmasından sorumlu olabileceği bildirilmiştir (Casey ve ark., 2015).

Kansere bağlı enflamasyonun temel özellikleri, çoğunlukla tümör-ilişkili makrofajlar (TAM), lökosit infiltrasyonu, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 gibi sitokinlerin ya da CCL2 ve CXCL8 gibi kemokinlerin varlığı ile anjiyogenez ve doku yeniden modelleme oluşumudur. Enflamatuvar sitokinler ve hücreler çoğu yerde tümör oluşumu ve tümör progresyonunda rol oynamaktadır ve bu durum, mide (Wang ve Goldenring, 2002; Wang ve Karin 2015), kolon (Bromberg ve Wang, 2009; Fazio ve ark., 2016; Liang ve ark., 2013), cilt (Alam ve ark., 2016; Lund ve ark., 2016; Perez ve ark., 2008; Zhang ve ark., 2011; Zheng ve ark., 2008), karaciğer (Alderton, 2012; Barash ve ark., 2010; He ve Karin, 2011), göğüs (Al Murri ve ark., 2006; Cohen ve ark., 2015; Hunj ve ark., 2015), akciğer (Engels ve ark., 2007; Pold ve ark., 2004; Spitz ve ark., 2011) ve baş / boyun (Bian ve ark., 2012; Bonemi ve ark., 2014; Bornstein ve ark., 2009) kanserlerinde gösterilmiştir.

### **1.3.1. Enflamasyon – Kanser İlişkisinde İntrinsik Yolak**

Enflamasyon ile epidemiyolojik olarak ilişkili olmayan tümörlerdeki enflamatuvar bileşenlerin varlığı, enflamatuvar ortamın oluşmasından neoplaziye neden olan genetik olayların sorumlu olup olmayacağı sorusunu gündeme getirmiştir. Bu soru, çeşitli onkogenetik mekanizmaların değerlendirilebildiği pre-klinik ve klinik araştırmalar kullanılarak ele alınmıştır. Onkogenler ve enflamatuvar ortam arasındaki ilişki, kemokin kılavuzluğunda, makrofaj ve dendritik hücre infiltrasyonunun varlığı ile karakterize edilen bir tümör olan insan papiller tiroid karsinomu ile klinik olarak gösterilmiştir (Borrello ve ark., 2005; Russell ve ark.,

2003). Protein tirozin kinazı kodlayan genin bulunduğu kromozomun yeniden düzenlemeleri, papiller tiroid kanserinin patogeneğinde sık, erken, nedensel ve yeterli bir genetik olaydır (Borrello ve ark., 2005).

İnsan kanserinde en sık mutasyona uğramış baskın onkogenler olan Ras ailesi onkogenleri, aktif hale getirildiğinde, enflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunu ve üretimini indükleyebilmektedir. Yapılan bir çalışmada, Ras onkogeninin, bir servikal karsinom hattına (HeLa) aktarılmasının, anjiyogenez ve tümör progresyonunu destekleyen bir kemokin olan CXCL8 üretimini indüklediği bildirilmiştir (Masih-Khan ve ark., 2006; Wang ve ark., 2006). Ayrıca, hafif seyreden kronik pankreatitin, pankreatik intra-epitelyal neoplazi ve invaziv duktal karsinomu indüklemek için Kras mutasyonu ile birlikte hareket ettiği gösterilmiştir (Guerra ve ark., 2007). Malign melanomada sıklıkla aktive olan Braf, pro-tümör ortamına katkıda bulunan sitokinleri uyarmaktadır (Sumimoto ve ark., 2006). Bir başka onkogen olan, myc ise, birçok insan tümöründe aşırı eksprese edilen bir transkripsiyon faktörünü kodlamaktadır.

Tümör baskılayıcı proteinler, aynı zamanda enflamatuvar mediatörlerin üretimini de düzenleyebilmektedir. von Hippel Lindau / hipoksi-indüklenebilir faktör (VHL / HIF), transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), fosfataz ve tensin homoloğu (PTEN), bu tür proteinlere örnektir. Sıklıkla malign hücreler üzerinde eksprese edilen ve hücre sağkalımı ve metastazında rol oynayan kemokin reseptörü CXCR4 ve TNF- $\alpha$ , insan renal hücreli karsinom hücrelerinde VHL / HIF ekseninin temelinde yer almaktadır. TNF- $\alpha$  ve malignite arasındaki ilginç bir genetik bağlantı yakın zamanda renal hücreli kanserde tanımlanmıştır, burada pVHL, tümör baskılayıcı gen TNF- $\alpha$ 'nın bir translasyon baskılayıcısı olarak rol oynamaktadır (Balkwill ve ark., 2005).

Bu nedenle, farklı moleküler sınıfları ve etki düzeylerini temsil eden onkogenler (tirozin kinazlar, ras-raf, nükleer onkogenler, vb.) ve tümör baskılayıcı genler, pro-enflamatuvar programları düzenlemektedir. Her ne kadar bu tepkiler, birkaç dokuda (örneğin anjiyogenez, miyelo-monositik orijinli hücrelerin güçlendirilmesi gibi) ortak unsurları paylaşıyor olsa da, farklı dokulardaki rolleri ve farklı kanser türleri yönünden aydınlatılması için bu alanda yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

### **1.3.2. Enflamasyon – Kanser İlişkisinde Ekstrinsik Yolak**

Ekstrinsik yolakta enflamasyon, çoğunlukla enflamatuvar mediatörler üreten lökositler tarafından tetiklenmektedir. Kronik enfeksiyonlar, enflamasyonu tetikleyen zararlı ajanlara (örneğin; gastrik asit reflüsü, tütün, asbest) maruz kalma ve otoimmün koşullar enflamasyona neden olabilmektedir (Kamp ve ark., 2011; Soucek ve ark., 2007). Kronik enflamasyon ve kanser arasındaki en iyi bağlantı, enflamatuvar bağırsak hastalıkları (ülseratif kolit ve Crohn hastalığı) olan hastalarda gelişen kolorektal kanserdir. Bu hastalarda, kolorektal kanser gelişme riski 5-7 kat artmıştır. Araştırmalar, ülseratif kolitli hastaların %43'ünde 25-35 yıl kadar sonra kolorektal kanser gelişebildiğini göstermiştir (Ferrone ve Dranoff, 2010).

IBD geliştirilmiş bir fare modelinde, kolit ile ilişkili kolorektal kanser gelişiminin, TNF- $\alpha$  ekspresyonunu bloke ederek inhibe edilebileceği gösterilmiştir (Popivanova ve ark., 2008).

Akciğer kanserli tüm hastaların yaklaşık % 90'ında tütün maruziyetinin belirgin neden olmasına rağmen, asbest, hava kaynaklı partiküler maddeye maruz kalma, idiopatik pulmoner fibrozis, tüberküloz gibi diğer kronik hava yolu enflamasyon

koşulları akciğer kanseri için bağımsız risk faktörleri olarak değerlendirilmekte olup, sigara kullanımı ile ilgili olmayan vakaların bir kısmı bu faktörler ile açıklanmaktadır (Yao ve Rahman, 2009).

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrojen ara maddeleri, DNA hasarına neden olabilen enflamasyon kaynaklı aday medyatörler olduğu, in vitro ve in vivo çalışma bulguları ile gösterilmiştir (Mantovani ve ark., 2008). Bir araştırmada, farelerde K-ras kaynaklı akciğer kanserine aracılık etmek için mitokondriyal ROS üretiminin gerekli olduğu gösterilmiştir (Weinberg ve ark., 2010).

Diğer taraftan, hasarlı hücre tarafından salınan mitokondriyal ürünler, enflamasyonu aktive edebilmekte ve pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini tetikleyen sinyal molekülleri olarak hareket edebilmektedir (Naik ve Dixit, 2011). Mitokondriyal ROS'un inflamazom aktivatörleri tarafından indüklendiği gösterilmiştir ve aynı zamanda mitokondriyal ROS inflamazom aktivasyonu için de gereklidir (Zhou ve ark., 2011). Mitokondriyal hasar gelişimi ve ROS üretimini de içinde barındıran önemli yeni moleküler yollar, sadece DNA hasarı ve onkogenlerin aktivasyonunu değil, aynı zamanda enflamasyonun farklı yönlerini de etkilemektedir. Bu durum da, yeni moleküler yolların, enflamasyonu ve tümör oluşumunu destekleyen kanserle ilişkili sinyal yollarının regülatörleri olarak önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir.

Enflamasyon ve kanser arasındaki ilişkinin en net ortaya konabildiği sistem, diyet, bağırsak bakterileri, enfeksiyon ya da otoimmün bozukluklarının neden olduğu enflamasyonun nispeten yaygın olduğu sindirim sistemidir. Örneğin; kronik ülseratif kolit ve Crohn hastalığı kolon kanseri riskini artırmakta iken, asit reflü özofagus kanseri ile ilişkili bulunmuştur (Munn, 2017). Hepatit C enfeksiyonu ve alkol tüketiminin hepatoselüler karsinoma riskini, *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun ise mide ve kolon kanseri riskini artırdığı gösterilmiştir (Munn, 2017).

### **1.3.3. Kanser-Enflamasyon İlişkisinde Başlıca Anahtar Regülatörler**

Kanserle ilişkili enflamasyonda, NFκB gibi transkripsiyon faktörlerini içeren anahtar endojen promotorlar ile interlökinler ve TNF-α gibi birincil enflamatuvar sitokinler yer almaktadır (Karin, 2006; Langowski ve ark., 2006; Voronov ve ark., 2003; Yu ve ark., 2009).

#### **1.3.3.1. NfκB (Nuclear Factor Kappa-Light-Chain)**

NfκB, immün ve enflamatuvar yanıtlar ile ilişkili genlerin düzenlenmesinde rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür (Liu ve ark., 2017). NfκB, enflamatuvar sitokinlerin, adezyon moleküllerinin, prostaglandin sentaz yolundaki önemli enzimlerin, nitrik oksit (NO) sentaz ve anjiyojenik faktörlerin ekspresyonunu indüklemektedir (Wojdasiewicz ve ark., 2014). Kanser hücreleri ve karsinojenlere maruz kalan epitelyal hücrelerde NFκB, hücre döngüsünü düzenleyen proteinlerin ve apoptozu düzenleyen genlerin aktivasyonu ile hücre sağkalımını ve proliferasyonu teşvik etmektedir (Liu ve ark., 2017). NFκB, doğuştan gelen immünite ve enflamasyonun anahtar bir düzenleyicisidir ve tümör hücreleri ile enflamatuvar hücreler arasında potansiyel bir moleküler köprü olarak kabul edilmektedir (Karin, 2006).

NFκB sinyal yolu, kanserin başlama, proliferasyon, metastaz ve tedaviye direnç dahil olmak üzere çeşitli aşamalarında rol oynamaktadır. NfκB, çok yönlü etkilerinin olması nedeni ile tümörü indükleyici ya da inhibe edici olarak fonksiyon gösterebilmektedir (Aggarwal ve Sung, 2011; Perkins, 2012). NFκB sinyalizasyonunun, süresi ve uygunluğuna göre değişmekle birlikte, hem normal

hem de kanser hücrelerinde tehlikeli müdahalelere karşı koruyucu bir mekanizma olarak işlev gördüğü bildirilmiştir (Prasad ve ark., 2010; Perkins, 2012) Genel olarak, uyarılabilir bir faktördür ve normal hücrelerde geçici olarak aktive edilirken, kanser hücrelerinde sürekli aktivasyon sergilemektedir (Chaturvedi ve ark., 2011; Prasad ve ark., 2010). Yapılan araştırmalar, gastrointestinal, hepatosellüler, cilt, beyin, prostat, akciğer ve hematopoetik malignite durumlarında sürekli bir NFκB aktivasyonu olduğunu bildirmiştir (Prasad ve ark., 2010; Xiao ve Fu, 2011). NFκB, enflamatuvar yanıtların entegrasyon noktasında olduğu için, enflamasyon ve kanser arasındaki ilişkisinde önemli bir işlev görmektedir (Ben-Neriah ve Karin, 2011; Grivennikov, 2013).

NF-κB aktivitesinin bilinen indükleyicileri oldukça değişken olup, temel indükleyicileri ROS, TNF-α ve IL-1β'dır. Ayrıca, NFκB aktivasyonu, kanser hücrelerinde çeşitli genetik değişikliklerin (amplifikasyon, mutasyonlar veya delesyonlar) sonucu olarak da oluşabilmektedir (Afonso ve ark., 2007).

### **1.3.3.2. TNF-α**

TNF-α, akut enflamasyon sırasında monosit/makrofajlardan salınan ve hücrelerde nekroza kadar giden bir sinyalizasyon kaskadından sorumlu olan enflamatuvar bir sitokindir (Idriss ve Naismith, 2000). TNF-α, enflamasyonun devam etmesinde önemli bir rol oynamakta olup, yapılan çalışmalar, tümör kaynaklı TNF-α'nın, deri, pankreas ve bağırsaklardaki çeşitli indükleyici ajanlar ile uyarılmış tümörlerin büyümesini ve ilerlemesini sürdürdüğünü göstermiştir (Balkwill, 2009; Moore ve ark., 1999; Popivanova ve ark., 2008).

Kanser hücrelerine ek olarak, tümör mikroçevresinde farklı TNF- $\alpha$  üreticileri de tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalar, makrofajların (Hagemann ve ark., 2005) ve CD4+ hücrelerinin de (Charles ve ark., 2009), TNF- $\alpha$  salgıladığını ve enflamasyonu tetiklediğini göstermiştir (Pikarsky ve ark., 2004). Ayrıca, TNF- $\alpha$ 'nın yapısal üretimini, kemokinlerin (CCL2, CXCL8, CXCL12), IL-6, VEGF ve makrofaj göç önleme faktörü (MIF-1) salınımının artmasıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Del Prete ve ark., 2011). TNF- $\alpha$ , CXCR4 aracılı tümör progresyonu, CXCR4 / CXCL12 aracılı tümör hücresi sağkalımı ile CXCL12 ve VEGF ekspresyonunun indüksiyonuna bağlı olarak peritoneal tümör kolonilerinde yeni kan damarlarının uyarılması üzerinde doğrudan etkiler içermektedir (Kulbe ve ark., 2007).

### **1.3.3.3. Tümör ilişkili Makrofajlar (TAM)**

Tümör mikroçevresindeki ana enflamatuvar sitokin kaynağı, tümörle ilişkili makrofajlardır (TAM) (Mantovani ve ark., 2002; Sica ve ark., 2006). TAM'ların gastrik kanserde TNF aracılığı ile wnt sinyalini uyardığı gösterilmiştir (Oguma ve ark., 2008). Bu bulgular, kanser tedavisinde TNF antagonistlerinin kullanıldığı klinik protokollerin geliştirilmesine katkıda bulunmuştur (Harrison ve ark., 2007). TAM'lar, sitokinler, büyüme faktörleri ve matriks degradasyon enzimleri (dahil olmak üzere birçok şekilde tümör davranışına yardımcı olmaktadır (Condeelis ve Pollard, 2006; Mantovani ve ark., 2006; Wyckoff ve ark., 2007).

İnsan kanseri ile ilgili çeşitli çalışmalarda, TAM birikimi anjiyogenez ve çeşitli anjiyogenik faktörlerin üretimi ile ilişkilendirilmiştir (Balkwill ve ark., 2001; Dineen ve ark., 2008; Du ve ark., 2008; Duluc ve ark., 2007; Kusmartsev ve ark., 2008; Robinson-Smith ve ark., 2007; Stearman ve ark., 2008). TAM'lar tümör dokularındaki hipoksik bölgelerde birikmekte ve hipoksi, bu hücrelerde pro-anjiyogenik bir programı tetiklemektedir (Du ve ark., 2008).

#### 1.3.3.4. İnterlökinler

İnterlökinler, lökositlerden salgılanan ve spesifik reseptörlerine bağlanarak hücre içi iletişimde rol oynayan sitokinlerdir (Akdiş ve ark., 2016). Bu ailenin üyelerinden olan IL-1'in tümör gelişimine katıldığı bilinmektedir. İnsan meme, kolon, akciğer, baş ve boyun kanserleri, melanomlarda IL-1 ekspresyonunun arttığı ve IL-1 üreten tümörleri olan hastaların genellikle kötü prognoza sahip oldukları bildirilmiştir (Naldini ve ark., 2010). IL-1, metalloproteinazlar, kemokinler, büyüme faktörleri ve TGF- $\beta$  gibi çeşitli metastatik genleri indükleyerek tümör büyümesini ve metastazı teşvik etmektedir (Dinarello, 2006). IL-1'in güçlü bir proanjyogenik sitokin olması ve VEGF salımının da IL-1'e bağımlı olması, söz konusu sitokinin anjiyogenez üzerindeki önemli etkilerindedir (Carmi ve ark., 2009). IL-1 $\alpha$ 'nın karaciğer kanseri patogeneğinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Sakurai ve ark., 2008).

#### 1.3.3.5. Sitolik Fosfolipaz A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>)

Siklooksijenaz (COX) enzimlerinin tümör gelişimi ve ilerlemesine katkısı üzerine araştırmalar da, kanser araştırmaları içinde oldukça önemli bir yer tutmaktadır (Williams ve ark., 1999). COX, araşidonik asitten prostaglandin (PG) biyosentezinde rol oynayan hız sınırlayıcı bir enzimdir. Bu enzimin izoformlarından olan COX-2'nin uyarılabilir bir enzim olduğu; ancak, yapısal olarak aşırı eksprese edildiği ve kolorektal kanserin de içinde bulunduğu çeşitli kanserlerde onkogenik bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Stratton ve Alberts, 2002).

COX-2'ye ilave olarak, PG üretimi doğrudan serbest araşidonik asit (AA) varlığına da bağlıdır. AA, fosfolipaz A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) enzimi aracılığı ile membran gliserofosfolipidlerinden salınmaktadır ve PG ile tromboksanları üretmek için COX ile daha ileriye metabolize edilmektedir (Balsinde ve ark., 1999). PLA<sub>2</sub>, araşidonik



asit metabolizmasında COX yolağı ile PG'lerin sentezine yol açan anahtar bir düzenleyici enzimdir. PLA<sub>2</sub> proteinleri genel olarak üç farklı sınıfa ayrılır: salgılayıcı PLA<sub>2</sub> (sPLA<sub>2</sub>), sitozolik PLA<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>) ve Ca<sup>2+</sup> bağımlı PLA<sub>2</sub> (iPLA<sub>2</sub>). Bunlardan 85 kDa IVA sitozolik PLA<sub>2</sub>'nin (cPLA<sub>2</sub>) temel hücre içi form olduğu ve COX-2 ile birleşik uyarıcı kaynaklı araşidonik asit salımında önemli bir rol oynadığı öne sürülmüştür (Leslie, 1997; Panel ve ark., 2006). cPLA<sub>2</sub>'nin prostaglandin üretimindeki bu önemli rolü nedeni ile, bağırsak tümörleri oluşumuna katıldığı düşünülmektedir (Dong ve ark., 2003). Bununla birlikte, cPLA<sub>2</sub> ekspresyonunun CRC'nin onkolojik sonuçları üzerindeki klinik etkisi hakkında literatürde yeterli veri bulunmamaktadır. Yapılan bir çalışmada, cPLA<sub>2</sub>, 15-PG-dehidrojenaz ve COX-2 ekspresyonunun CRC'de tümör progresyonu üzerindeki etkisi incelenmiş ve cPLA<sub>2</sub> ekspresyonunun COX-2 ekspresyonu ile yakından ilişkili olduğu ve tümör ilerlemesi üzerinde önemli rolü olduğu gösterilmiştir (Lim ve ark., 2010).

#### **1.3.3.6. Sekretuar Fosfolipaz A<sub>2</sub> (sPLA<sub>2</sub>)**

PLA<sub>2</sub>'lerin yaklaşık üçte biri, tipik olarak Ca<sup>2+</sup> bağımlılığı ve bir His-Asp katalitik çifti içeren disülfid bakımından zengin, düşük moleküler ağırlıklı sPLA<sub>2</sub> ailesine aittir (Lambeau ve Gelb, 2008). İnsanlarda, son 10 yılda 11 çeşit sPLA<sub>2</sub> tarif edilmiştir ve bunların fizyolojik ve patofizyolojik koşullardaki fonksiyonlarının analizi yoğun araştırma altındadır. İnsanlarda, sPLA<sub>2</sub> enzimi, yapısal özelliklerine göre IB, IIA, IIC, IID, IIE, IIF, III, V, X, XIIA ve XIIB alt gruplarına ayrılmıştır (Laye ve Gill, 2003; Rouault ve ark., 2003; Murakami ve ark., 2005; Cummings, 2007). Bu proteinlerin bazıları yakın zamanda çeşitli patolojilerin biyobelirteçleri (Smith ve ark. 2003; Mallat ve ark. 2005; Wootton ve ark. 2007) ya da terapötik hedefler olarak önerilmiştir (Laye ve Gill, 2003; Cummings, 2007; Henderson ve ark., 2007). sPLA<sub>2</sub>'ler, ekstrasellüler boşluğa salgılandıktan sonra, prostaglandinler, lökotrienler ve tromboksan dahil olmak üzere çeşitli enflamatuvar mediatörlerin üretimine yol açan, otokrin ya da parakrin tarzdaki hücre membranına bağlı

fosfolipitler üzerinde etki etmektedir. sPLA<sub>2</sub>'lerin, ayrıca, mikro parçacıklar, pulmoner yüzey aktif cisimleri, lipoproteinler, mikrobiyal membranlar ve gıda maddeleri de dahil olmak üzere hücrel olmayan fosfolipidler üzerinde de etkili oldukları bildirilmiştir (Murakami ve ark., 2011).

Son yıllarda, sPLA<sub>2</sub>'nin, insanlardaki çeşitli kanser türleri üzerinde etkinlikleri tanımlandığından, sPLA<sub>2</sub>'nin antikanser ilaçlar için bir hedef olabileceği düşünülmektedir (Laye ve Gill, 2003; Cummings, 2007). Yapılan çalışmalar, insan akciğer kanserinde sPLA<sub>2</sub>-V ve sPLA<sub>2</sub>-X'in ekspresyon seviyeleri (Masuda ve ark., 2005) ve insan yumurtalık kanserinde sPLA<sub>2</sub>-V ve sPLA<sub>2</sub>-XIIA ekspresyon seviyelerinde değişiklik olduğunu göstermiştir (Gorovetz ve ark., 2006). Özellikle, mide adenokarsinomunda insan sPLA<sub>2</sub>-IIA'nın aşırı ekspresyonunun, uzun süreli sağkalım ve daha az sıklıkta metastaz ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (Leung ve ark., 2002; Aggarwal ve ark., 2006). Buna karşılık, sPLA<sub>2</sub>-IIA aşırı ekspresyonu, prostat kanserinde onkojenik etkilerle (Sved ve ark., 2004) ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (Graff ve ark., 2001). sPLA<sub>2</sub>-IIA geninin polimorfizmi PLA<sub>2</sub>G<sub>2</sub>A, aynı zamanda ailesel adenomatoz polipozlu hastaların bazı fenotipik özellikleriyle de ilişkilendirilmiştir (Yanaru-Fujisawa ve ark. 2007). Daha yakın zamanlarda, insan sPLA<sub>2</sub>-XIIB'nin, hepatit C virüsü ile ilişkili hepatoselüler karsinomlu hastaların % 50'sinde upregüle edildiği gösterilmiştir (Smith ve ark., 2003). Son olarak, farelerde sPLA<sub>2</sub>-IIA'nın ApcMin ile indüklenen bağırsak tümörlerine karşı koruyucu bir rolü olduğu gösterilmiştir (MacPhee ve ark., 1995; Cormier ve ark., 1997).

#### **1.4. Endoglin**

Kanserlerde antikor bazlı terapötik stratejilere yönelik son çalışmalar ile, çeşitli potansiyel antijenlerin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. CD105 olarak da bilinen “endoglin”, bu kapsamda tanımlanmış ve son yıllarda yaygın bir popülerlik kazanmış bir antijendir. Endoglin, pleiotropik bir sitokin olan TGF- $\beta$  (transforme edici büyüme

faktörü beta)'nın bir yardımcı reseptörü olarak sınıflandırılmaktadır ve endotel hücrelerinde ekspres edildiği gösterilmiştir (Wong ve ark., 2000). Endoglinin ekspresyonu, aktif olarak proliferatif endotel hücrelerinde düzenlenmektedir (Burrows ve ark., 1995; Miller ve ark., 1999; Wikstorm ve ark., 2002). Bu nedenle endoglin, tümörle ilişkili anjiyogenez ve neovaskülarizasyon için uygun bir belirteç olarak önerilmektedir. Endoglinin neoplazmaların prognoz, tanı ve tedavisindeki rolleri uzun süredir tartışılmaktadır (Fonsatti ve ark., 2000; Kumar ve ark., 1999; Wang ve ark., 1994; Wikstorm ve ark., 2002). Neoplazmaların endotel hücreleri, normal dokudaki endotel hücrelerine göre daha üretkendir ve dolayısıyla yüksek endoglin ekspres etmektedir (Denekamp, 1990; Fonsatti ve ark., 2003). Bu nedenle, endoglin ile terapötik kanser tedavisinin amacı, besin maddelerinin hayati olarak taşınmasını ve tümör hücrelerinde metastazı engellemek ve tümör küçülmesini indüklemek için selektif olarak yüksek oranda çoğalan endotel hücrelerini hedeflemektir.

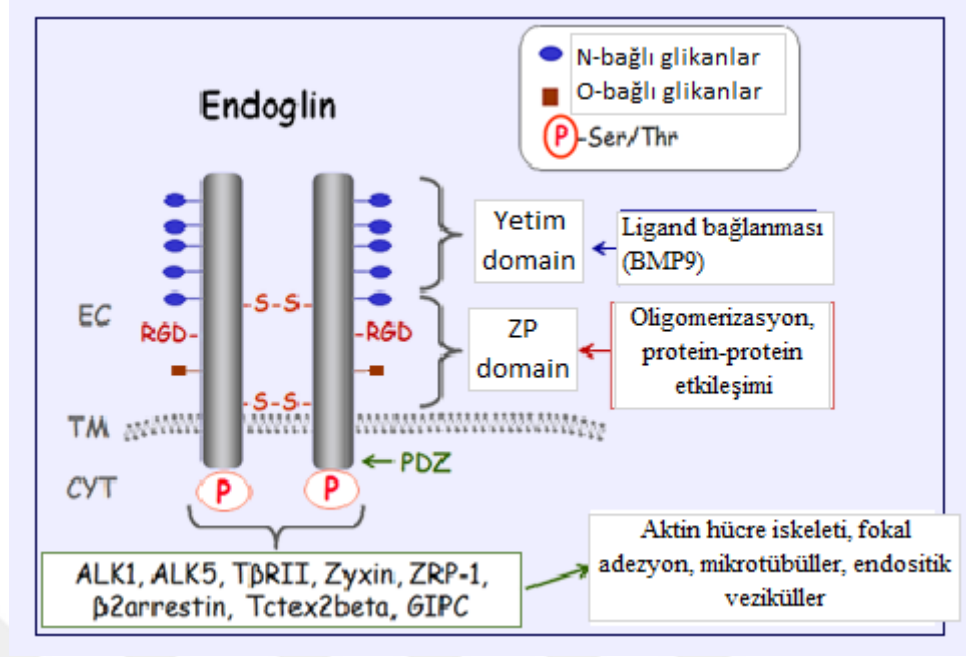
#### **1.4.1. Endoglin Yapısı ve Ekspresyonu**

İnsan endoglini, 633 aminoasitlik, 180 kDa homodimerik disülfid bağlı hipoksi ile indüklenebilir bir transmembran glikoproteinidir. Büyük bir hücre dışı alan, hidrofobik bir membran dışı alan ve kısa bir hücre içi alan içermektedir (Gougos ve Latarte, 1988; Gougos ve Latarte, 1990).

Molekülün sayısız adezyon proteini için hücre tanıma bölgesi olarak bilinen hücre dışı alan, bir Arg-Gly-Asp (RGD) tripeptit, dört N-bağlı glikozilasyon bölgesi ve bir O-bağlı glikozilasyon bölgesi içermektedir (Gougos ve Latarte, 1990). Hücre içi bölge, bazıları fosforilasyon bölgeleri olan birçok serin ve treonin rezidüsü içermektedir (Koleva ve ark., 2006). L-endoglin ve S-endoglin olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır ve bu izoformlar, hücre içi alanın uzunluğu, doku dağılımı

ve fosforilasyon derecesi bakımından birbirlerinden farklılık gösterirler. L-Endoglin, sitoplazmik kuyrukta 47 aminoasit içermekte olup, yüksek bir fosforilasyon derecesine sahiptir ve çoğunlukla endotel hücrelerinde eksprese edilmektedir. S-endoglin ise 14 aminoasit içermektedir (Bellon ve ark., 1993; Cheifetz ve ark., 1992).

Yapısal olarak, endoglin, hücre dışı bölgelerinde yaklaşık 260 aminoasit kalıntısı taşıyan ve Zona pellucida ailesine ait ZP alanını paylaşan bir proteindir. Endoglinin hücre dışı alanının üç boyutlu yapısı elektron mikroskobu ile aydınlatılmıştır. Endoglin, bir ucunda bir oyuğu çevreleyen antiparallel odaklı monomerlerden yapılmış bir kubbe şeklindedir. Her bir altbirim juksta membran bölgede bir ZP alanı içermektedir. NH<sub>2</sub>-terminal bölgesi başka herhangi bir protein ailesine/alanına önemli bir homoloji göstermediği için "yetim" olarak adlandırılmıştır. Bu yetim alan, ligand (BMP9) bağlanmasından sorumlu bir monomerik yapıdır (Şekil 1.5). Her iki izoform, yapısal olarak aktif olan TGF- $\beta$  reseptörü tip II (TGF- $\beta$ R2) sayesinde fosforile edilmektedir (Guerrero-Esteo ve ark., 2002; Lastres ve ark., 1994). Endoglinin fosforilasyon durumu, subsellüler lokalizasyonu ve hücrel göçü etkileyebilmektedir. Endoglinin sitoplazmik alanı, karboksil terminalinde, endoglin etkileşimine aracılık eden ve distal treonin kalıntılarının endoglin fosforilasyonunu yönlendiren bir bağlayıcı motif (PDZ motifi) içermektedir. (Şekil 1.5.) (Jose ve Carmelo, 2010).



**Şekil 1.5.** Endoglinin Yapısı. Sitoplazmik alan Zyxin, ZRP-1,  $\beta$ -arrestin ve Tctex2b proteinleri ile etkileşime girmektedir. Bu sitozolik etkileşimler, F-aktin dinamikleri, fokal adezyon bileşimi ve endositik veziküller yoluyla protein taşımını dahil olmak üzere aşağı akış fonksiyonlarına aracılık etmektedir (López-Novoa ve Bernabeu, 2010).

Sağlıklı bireylerin ve kanser hastalarının serumlarında çözünür bir endoglin formu da tanımlanmıştır (Wang ve ark., 1994). Metastatik melanom gibi hastalıkları olan ve metastaz riski taşıyan meme kanseri hastalarının serumlarında artmış çözünür endoglin seviyeleri kaydedilmiştir (Fonsatti ve ark., 2001; Li ve ark., 2000a).

Endoglin, dinlenme halinde endotel hücrelerinde düşük seviyelerde eksprese edilmekte iken, tümör damarlanmaları, enflamasyonlu dokular, iyileşen yaralar, psöriatik cilt, sinovyal artrit, vasküler hasar ve embriyogenez gibi aktif anjiyogenezin olduğu vasküler endotel hücrelerinde ise yüksek oranda eksprese edilmektedir (Botella ve ark., 2002; Burrows ve ark., 1995).

Kardiyovasküler sistemin gelişimi sırasında, endoglin, insan embriyolarının vasküler endotelinde 4 haftalık ilerleyen dönemler boyunca görülmektedir ve kalp

septasyonu sırasında geçici olarak upregüle edilmektedir (Qu ve ark., 1998). Ayrıca, kan damarlarının, endoglin eksprese eden fare embriyolarında normal olarak gelişirken, endoglin knockout farelerde gelişemediği ve bu durumun intrauterin ölümle sonuçlandığı bildirilmiştir (Şekil 1.6) (Tracon Pharma, 2016).



**Şekil.1.6.** Kan damarları ve endoglin ilişkisi. Endoglin eksprese eden fare embriyolarında normal olarak gelişirken, endoglin knockout farelerinde gelişememekte ve bu durum, intrauterin ölümle sonuçlanmaktadır (Tracon Pharma, 2016).

Endoglin, normal dokudaki mikrovasküler endotelde TGF- $\beta$ R kompleksinin bir diğer bileşeni olan  $\beta$ -glikan ile birlikte eksprese edilmektedir (Wong ve ark., 2000). Endoglin sinsitiyotrofoblastlarda yüksek oranda, stromal hücrelerde, fibroblastlarda ve hematopoetik progenitor hücrelerde daha zayıf oranda eksprese edilmektedir (Cho ve ark., 2001; Gougos ve ark., 1992; Lastres ve ark., 1992; Rokhlin ve ark., 1995). Katı malignitelerde endoglin, peri- ve intratumoral endotel hücrelerde ve bazen de tümörün stromasında yüksek oranda eksprese edilmektedir. (Burrows ve ark., 1995; Fonsatti ve ark., 2001; Takase ve ark., 2010; Wang ve ark., 1993).

Ayrıca endoglinin, böbrekler, bacağın arka bölümü ve kalpteki endotel hücrelerinde iskemi ve reperfüzyon sonrasında aşırı eksprese edildiği bildirilmiştir (Gougos ve Letarte, 1990; Graulich ve ark., 1999).

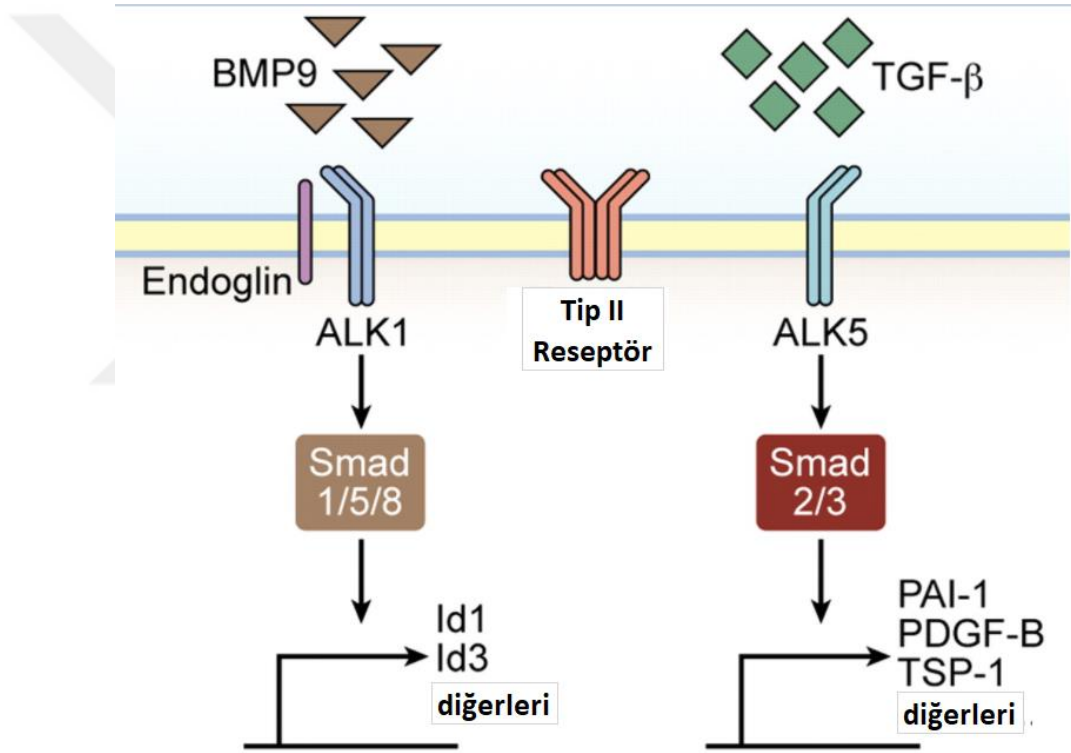
### 1.4.2. Fonksiyonu

Endoglin, hücresel proliferasyonu, farklılaşmayı, göçü ve adezyonu düzenleyen pleiotropik bir sitokin olan TGF- $\beta$  için bir yardımcı reseptördür (Govinden ve Bhoola, 2003; Wong ve ark., 2000). Bu ailenin bireysel üyeleri, gelişme, hücresel proliferasyon, ekstrasellüler matriks sentezi, anjiyogenez ya da immün yanıtlar gibi farklı fizyolojik süreçlerde önemli rol oynamakta ve serbestleşmesi tümör gelişimine neden olabilmektedir. TGF- $\beta$ , kanserde çift yönlü ve paradoksal bir rol oynamaktadır. Bir taraftan, karsinogenezin premalign fazında tümör süpresör olarak görev yapmakta, hücre büyümesini inhibe etmekte ve apoptoz ya da farklılaşmayı indüklemekte iken (Massagué, 2000; Schmierer ve Hill; 2007), diğer taraftan, kontrolsüz proliferasyon olan kanser hücreleri, TGF- $\beta$ 'nin hücre invazyonu, anjiyogenez, immün regülasyon ve tümör hücreleri arasındaki etkileşimleri ve onları daha malign yapan mikro ortamları modüle etme kabiliyeti gibi süreçleri kullanmaktadır. TGF- $\beta$ , heterodimerik serin/treonin kinazlar üzerinden TGF- $\beta$  reseptör tip 1 (TGF- $\beta$ R1) ve TGF- $\beta$ R2'nin sinyalizasyonunu kontrol etmektedir. TGF- $\beta$ 1'in bir tümör baskılayıcı olarak işlev gördüğü gösterilmiştir ve ayrıca in vivo olarak enflamasyon ve anjiyogenik faktörlerin enflamasyonlu hücrelerden salgılanmasına neden olmaktadır (Hata ve ark., 1998).

Endoglin, yapısal olarak aktif TGF- $\beta$ 2 ile birleşerek TGF- $\beta$ 1 ve TGF- $\beta$ 3'ü yüksek afinite ile bağlamaktadır (Barbara ve ark., 1999; Cheifetz ve ark., 1992). Bu durum, TGF- $\beta$ 2'nin sitoplazmik kinaz aktivitesini uyarmakta ve SMAD protein ailesi gibi sinyal molekülleri ile etkileşime giren TGF- $\beta$ R1'in fosforilasyonu ile sonuçlanmaktadır (Massague ve Wotton, 2000). Birbiri ile rekabet eden iki TGF- $\beta$ R1 yolağı bulunmaktadır. Birincisi, TGF- $\beta$ 'ya karşı hücresel yanıtları inhibe eden ALK-5 tarafından indüklenen SMAD2/3 fosforilasyonudur. İkincisi, TGF- $\beta$ 'ya karşı hücresel yanıtları aktive eden ALK-1 tarafından indüklenen SMAD1/5 fosforilasyonudur (Guerrero-Esteo ve ark., 2002; Lebrin ve ark., 2004). Bazı çalışmalar, endoglinin sadece ALK-1 yolağı için gerekli olduğunu bildirmekte iken

(Goumans ve ark., 2009; Lebrin ve ark., 2004), diğer çalışmalar endoglinin sitoplazmik alanının, 646 ve 649. pozisyonundaki serin aminoasitlerinden ALK-5 fosforilasyonu ile düzenlendiğini göstermektedir (Ray ve ark., 2010). (Şekil 1.7.)

Yapılan çalışmalarda, endoglin inhibisyonunun, TGF- $\beta$ 1 kaynaklı büyümeyi ve migrasyonun inhibisyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Li ve ark., 2000b). Elde edilen veriler, endoglinin, TGF- $\beta$ R kompleksinin bir parçası olarak TGF- $\beta$ 1'in etkilerini düzenlediğini göstermektedir.



Şekil 1.7. Endoglin ve ALK1, ALK5 sinyal yolları.

Endoglinin, ayrıca, endotelial nitrik oksit sentaz ekspresyonunu ve aktivitesini düzenlediği ve COX-2 aktivitesini modüle ettiği bildirilmiştir (Jerkic ve ark., 2004; Jerkic ve ark., 2006)



### 1.4.3. Endoglin ve Anjiyogenez

Önceden var olan mikrodamarlardan kan damarlarının yeniden oluşumu şeklinde tanımlanan anjiyogenez, hücre beslenmesi, kanser ve iskemik hastalık ilerlemesi gibi sayısız fizyolojik ve patolojik süreç için esastır. Bu karmaşık süreç, ekstrasellüler matriksin yeniden şekillenmesini ve endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü içermektedir (Griffioen ve Molema, 2000). Tümör büyümesi ve metastazı için vaskülarizasyon gereklidir (Folkman ve ark., 1989). Yetersiz kanlanma durumunda tümör hücrelerinde apoptoz / nekroz gerçekleşir. Farklı doku dağılımı ve TGF- $\beta$  sistemi ile fonksiyonel entegrasyonu göz önüne alındığında, endoglinin anjiyogenezde yer alması şaşırtıcı değildir.

İnsan umbilikal ven endotel hücrelerindeki (HUVEC) yüksek endoglin seviyeleri ile HUVEC hücrelerinin proliferasyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Burrows ve ark., 1995; Fonsatti ve ark., 2001). Endoglin seviyeleri ve siklin-A, Ki-67 gibi hücre proliferasyon belirteçleri arasında anlamlı bir korelasyon olduğu da bildirilmiştir (Miller ve ark., 1999). HUVEC hücrelerinde endoglin ekspresyonunun baskılanması, in vitro anjiyogenezin inhibisyonu ile sonuçlanmıştır (Li ve ark., 2000b). Hipoksik koşulların anjiyogeneze neden olduğu gerçeği (Maier ve ark., 1997) ile tutarlı olarak, endoglinin mRNA ve protein seviyelerinin, hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 (HIF-1) tarafından up-regüle edildiği gösterilmiştir (Sanchez-Elsner ve ark., 2002).

Yürütülen çalışmanın amacı, kolorektal kanser tanısı konmuş hasta gönüllü ve sağlıklı gönüllülerden toplanan kan örneklerinden elde edilen plazma ve RNA örneklerinde endoglin düzeylerinin ölçülerek ve enflamatuvar mikroçevre bileşenlerinden olan NF $\kappa$ B, TGF- $\beta$ 1, cPLA<sub>2</sub>, sPLA<sub>2</sub> düzeyleri ile karşılaştırılmasıdır.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışması kapsamında, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda tedavi gören kolorektal kanser tanısı konmuş 50 gönüllü hasta grubunu oluşturmaktadır. Kontrol grubu olarak da 50 sağlıklı gönüllüden toplanmış olan kan örnekleri kullanılmıştır. Çalışma kapsamında yapılan analizlerde, gönüllülerden toplanan kan örneklerinden elde edilen plazma ve RNA örnekleri kullanılmıştır. Söz konusu örneklerin kullanılmasına ilişkin Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu'nun 04-225-18 no'lu kararı ekte sunulmuştur.

Bu tez çalışmasında kolorektal kanser tanısı almış olan hastalar ile sağlıklı gönüllülerin kan plazma örneklerinde, yaygın olarak bilinen enflamasyon belirteçlerinden olan sPLA<sub>2</sub>, cPLA<sub>2</sub>, Nf-kB, TGF-Beta düzeyleri ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi ile ölçülmüş ve elde edilen bulgular, plazma Endoglin düzeyleri ile karşılaştırılmıştır.

Tez çalışması kapsamında ayrıca, hasta ve kontrol gönüllülerden alınan kan örneklerinden RNA izole edilmiş olup, söz konusu materyal ile, endoglin ve PLA<sub>2</sub> mRNA ekspresyon düzeylerinin analizleri Real-Time PCR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Araştırmaya dahil olma kriterleri:

- ✓ Kolorektal kanser tanısı almış olmak
- ✓ Antikoagülan ilaç kullanmayan, vasküler hastalık hikayesi ya da tromboembolik veya hemorajik hastalık hikayesi olmayan hastalar

- ✓ Erişkin yaşta olmak (20 yaş ve üzeri)
- ✓ Kadın / erkek hastalar
- ✓ Bireyler arasında akrabalık ilişkisinin bulunmaması gereklidir.

Araştırmaya dahil olmama kriterleri:

Gönüllülerden aralarında akrabalık ilişkisi bulunanlar, antikoagölan ilaç kullanan, vasküler hastalık hikayesi ya da tromboembolik, hemorajik ya da inflamatuvar hastalık hikayesi olan olgular araştırma kapsamı dışında tutulacaktır.

Bu araştırma kapsamında herhangi bir ilaç kullanılmamıştır.

## **2.1. Kullanılan cihazlar**

- ✓ Hassas Terazî (Shimadzu)
- ✓ Vorteks (Heidolph)
- ✓ Derin Dondurucu (- 80°C) (Sanyo)
- ✓ Soğutmalı Santrifüj (Sigma)
- ✓ İnkübatörlü çalkalayıcı (Thermo)
- ✓ Mikroplak okuyuculu spektrofotometre (Thermo Scientific)
- ✓ Real-Time PCR cihazı (Qiagen)
- ✓ Su banyosu (Termal)

## 2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- ✓ İnsan plazması
- ✓ RNA örnekleri
- ✓ Human Cytosolic Phospholipase A2 ELISA Kit (BTLab)
- ✓ Human Secreted Phospholipase A2 ELISA Kit (BTLab)
- ✓ Human Endoglin ELISA Kit (BTLab)
- ✓ Human Nuclear Factor – kappa B ELISA Kit (BTLab)
- ✓ Human Transforming Growth Factor Beta 1 ELISA Kit (BTLab)
- ✓ RT2 First Strand Kit (Qiagen)
- ✓ Sybr green (Qiagen)
- ✓ Human ENG primer (Qiagen)
- ✓ Human PLA2 primer (Qiagen)

## 2.3. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizleri, GraphPad Prism Version 6.0. programı ile Mann Wtihney-U testi kullanılarak gerçekleştirilmiş, parametreler arasındaki değişimler pearson korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir.

## 2.4. ELISA Ölçümleri

### 2.4.1. İnsan Plazma Endoglin Düzeyi Tayini

Bu amaçla, Human Endoglin (ENG) Elisa Kiti kullanılmıştır..

#### Yöntemin prensibi

İnsan ENG plazma düzeyini belirlemek amacı ile Sandwich-ELISA yöntemi kullanılmaktadır. Bu kit içeriğinde mevcut olan mikropak, insan ENG'ye özgü monoklonal antikor ile önceden kaplanmıştır. Standart çözeltiler ve plazma örnekleri, kuyucuklara ilave edilir ve örneklerde bulunan ENG'nin kuyucuklardaki spesifik antikor ile birleşmesi sağlanır. Daha sonra, biyotinillenmiş insan ENG antikoruna eklenir ve örnekteki ENG'ye bağlanması sağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP solusyonu eklenerek biyotinillenmiş ENG antikoruna bağlanması için inkübe edilir. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkama işlemi sırasında uzaklaştırılır Her kuyucuğa substrat çözeltisi eklenir. Bu işlemin sonucunda, yalnızca insan ENG, biyotinlenmiş deteksiyon antikoruna ve Streptavidin-HRP konjugatı içeren kuyular mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, asidik stop çözeltisi ilave edilerek sonlandırılır ve renk sarıya döner. Absorbans 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Bu değer, insan ENG konsantrasyonuyla orantılıdır.

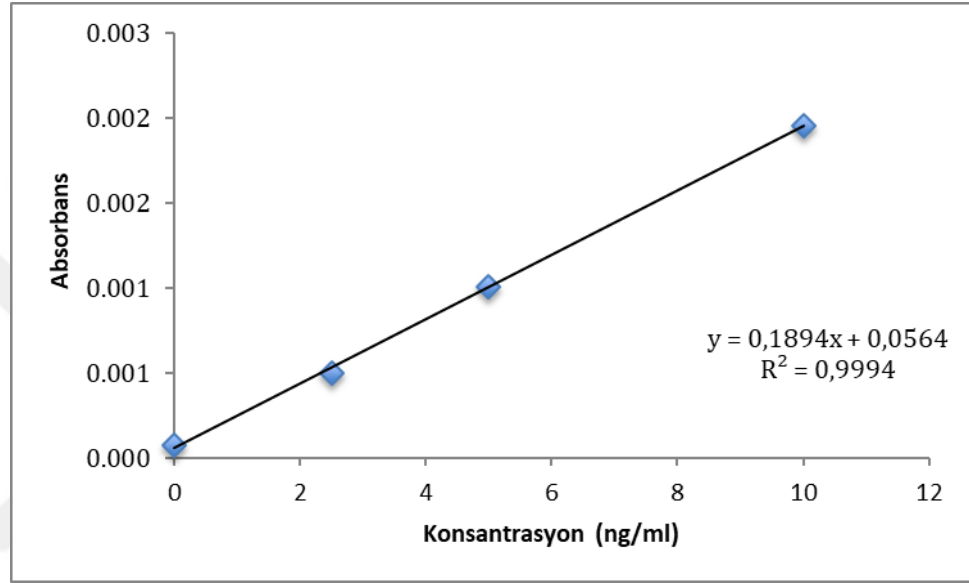
## Yöntemin protokolü

### Standart çözeltilerin hazırlanması

40 ng/ml	Standart No. 5	120 µl Orjinal standart + 120 µl Standart solüsyon
20 ng/ml	Standart No. 4	120 µl Standart No.5 + 120 µl Standart Solüsyon
10 ng/ml	Standart No. 3	120 µl Standart No.4 + 120 µl Standart Solüsyon
5 ng/ml	Standart No. 2	120 µl Standart No.3 + 120 µl Standart Solüsyon
2.5 ng/ml	Standart No. 1	120 µl Standart No.2 + 120 µl Standart Solüsyon

- ✓ Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi.
- ✓ Test için gerekli olan şerit sayısı belirlendi. Şeritler kullanmak üzere çerçevelere yerleştirildi.
- ✓ Standart ve örnekler için gerekli kuyucuk sayısı belirlendi.
- ✓ Standart kuyucuklara 50 µl standart çözelti eklendi.
- ✓ Örnek kuyucuklarına 40 µl plazma ve daha sonra 10 µl anti-cPLA<sub>2</sub> antikorunu eklendi.
- ✓ Daha sonra standart ve örnek kuyucuklarına 50 µl Streptavidin-HRP eklenerek karıştırıldı.
- ✓ Plagın üzeri kapatılarak, 60 dk. boyunca 37°C'de inkübe edildi.
- ✓ İnkübasyon sonrasında plak 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı.
- ✓ Her kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi A ve 50 µl substrat çözeltisi B eklendi.
- ✓ Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca tekrar inkübe edildi.
- ✓ Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi, mavi rengin hemen sarıya döndüğü gözlemlendi.

- ✓ Stop çözeltisi eklendikten sonra, 10 dakika içinde mikropalak okuyuculu spektrofotometre kullanarak 450 nm’de her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) okundu ve grafiğı hazırlandı.
- ✓ Kör olarak kullanılan kuyucuklara sadece kromojen A, B ve stop solüsyonu eklendi.



Şekil 2.1. Endoglin ELISA yöntemi kalibrasyon eğrisi

#### 2.4.2. İnsan Plazma NF-κB Düzeyi Tayini

Bu amaçla, insan Nükleer faktör-kappa B (NF-κB) Elisa Kiti kullanılmıştır.

## Yöntemin prensibi

İnsan NF-κB plazma düzeyini belirlemek amacı ile Sandwich-ELISA yöntemi kullanılmaktadır. Bu kit içeriğinde mevcut olan mikropalak, insan NF-κB 'ye özgü monoklonal antikor ile önceden kaplanmıştır. Standart çözeltiler ve plazma örnekleri, kuyucuklara ilave edilir ve örneklerde bulunan NF-κB'nin kuyucuklardaki spesifik antikor ile birleşmesi sağlanır. Daha sonra, biyotinillenmiş insan NF-κB antikoruna eklenir ve örnekteki NF-κB ye bağlanması sağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP solusyonu eklenerek biyotinillenmiş NF-κB antikoruna bağlanması için inkübe edilir. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkama işlemi sırasında uzaklaştırılır Her kuyucuğa substrat çözeltisi eklenir. Bu işlemin sonucunda, yalnızca insan NF-κB, biyotinlenmiş deteksiyon antikoruna ve Streptavidin-HRP konjugatı içeren kuyular mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, asidik stop çözeltisi ilave edilerek sonlandırılır ve renk sarıya döner. Absorbans 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Bu değer, insan NF-κB konsantrasyonuyla orantılıdır.

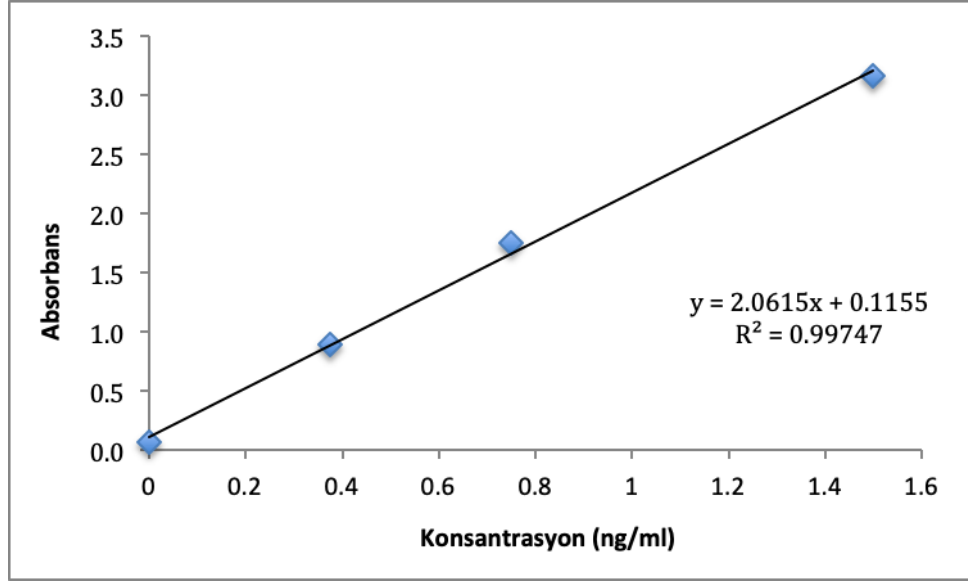
## Yöntemin protokolü

### Standart çözeltilerin hazırlanması

6 ng/ml	Standart No. 5	120 µl Orjinal standart + 120 µl Standart solüsyon
3 ng/ml	Standart No. 4	120 µl Standart No.5 + 120 µl Standart Solüsyon
1.5 ng/ml	Standart No. 3	120 µl Standart No.4 + 120 µl Standart Solüsyon
0.75 ng/ml	Standart No. 2	120 µl Standart No.3 + 120 µl Standart Solüsyon
0.375 ng/ml	Standart No. 1	120 µl Standart No.2 + 120 µl Standart Solüsyon



- ✓ Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi.
- ✓ Test için gerekli olan şerit sayısı belirlendi. Şeritler kullanmak üzere çerçevelere yerleştirildi.
- ✓ Standart ve örnekler için gerekli kuyucuk sayısı belirlendi.
- ✓ Standart kuyucuklara 50 µl standart çözelti eklendi.
- ✓ Örnek kuyucuklarına 40 µl plazma ve daha sonra 10 µl anti-cPLA<sub>2</sub> antikoru eklendi.
- ✓ Daha sonra standart ve örnek kuyucuklarına 50 µl Streptavidin-HRP eklenerek karıştırıldı.
- ✓ Plâğin üzeri kapatılarak, 60 dk. boyunca 37°C'de inkübe edildi.
- ✓ İnkübasyon sonrasında plak 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı.
- ✓ Her kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi A ve 50 µl substrat çözeltisi B eklendi.
- ✓ Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca tekrar inkübe edildi.
- ✓ Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi, mavi rengin hemen sarıya döndüğü gözlemlendi.
- ✓ Stop çözeltisi eklendikten sonra, 10 dakika içinde mikropalak okuyuculu spektrofotometre kullanarak 450 nm'de her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) okundu ve grafiği hazırlandı.
- ✓ Kör olarak kullanılan kuyucuklara sadece kromojen A, B ve stop solüsyonu eklendi.



Şekil 2.2. NfKb ELISA yöntemi kalibrasyon eğrisi

### 2.4.3. İnsan Plazma TGF-β1Düzeyi Tayini

Bu amaçla, insan Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta (TGF-β1) Elisa Kiti kullanılmıştır.

#### Yöntemin prensibi

İnsan TGF-β1 plazma düzeyini belirlemek amacı ile Sandwich-ELISA yöntemi kullanılmaktadır. Bu kit içeriğinde mevcut olan mikropalak, insan TGF-β1'ye özgü monoklonal antikor ile önceden kaplanmıştır. Standart çözeltiler ve plazma örnekleri, kuyucuklara ilave edilir ve örneklerde bulunan TGF-β1'nin kuyucuklardaki spesifik antikor ile birleşmesi sağlanır. Daha sonra, biyotinillenmiş insan TGF-β1 antikoruna eklenir ve örnekteki TGF-β1'ye bağlanması sağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP solusyonu eklenerek biyotinillenmiş TGF-β1 antikoruna

bağlanması için inkübe edilir. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkama işlemi sırasında uzaklaştırılır Her kuyucuğa substrat çözeltisi eklenir. Bu işlemin sonucunda, yalnızca insan TGF- $\beta$ 1, biyotinlenmiş deteksiyon antikoru ve Streptavidin-HRP konjugatı içeren kuyular mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, asidik stop çözeltisi ilave edilerek sonlandırılır ve renk sarıya döner. Absorbans 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Bu değer, insan TGF- $\beta$ 1 konsantrasyonuyla orantılıdır.

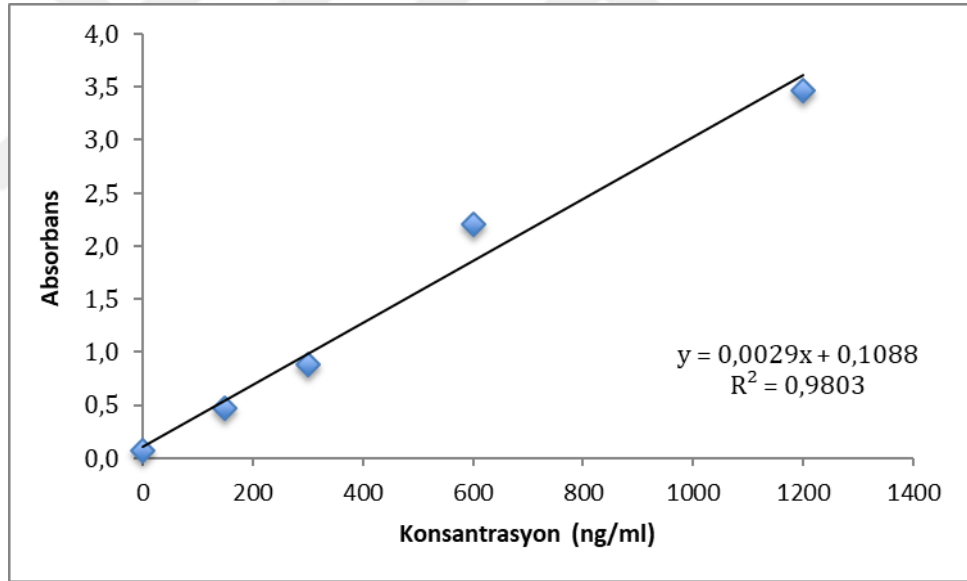
### Yöntemin protokolü

#### Standart çözeltilerin hazırlanması

2400 ng/L	Standart No. 5	120 $\mu$ l Orjinal standart + 120 $\mu$ l Standart solüsyon
1200 ng/L	Standart No. 4	120 $\mu$ l Standart No.5 + 120 $\mu$ l Standart Solüsyon
600 ng/L	Standart No. 3	120 $\mu$ l Standart No.4 + 120 $\mu$ l Standart Solüsyon
300 ng/L	Standart No. 2	120 $\mu$ l Standart No.3 + 120 $\mu$ l Standart Solüsyon
150 ng/L	Standart No. 1	120 $\mu$ l Standart No.2 + 120 $\mu$ l Standart Solüsyon

- ✓ Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi.
- ✓ Test için gerekli olan şerit sayısı belirlendi. Şeritler kullanmak üzere çerçevelere yerleştirildi.
- ✓ Standart ve örnekler için gerekli kuyucuk sayısı belirlendi.
- ✓ Standart kuyucuklara 50  $\mu$ l standart çözelti eklendi.
- ✓ Örnek kuyucuklarına 40  $\mu$ l plazma ve daha sonra 10  $\mu$ l anti-cPLA<sub>2</sub> antikoru eklendi.
- ✓ Daha sonra standart ve örnek kuyucuklarına 50  $\mu$ l Streptavidin-HRP eklenerek karıştırıldı.

- ✓ Plağın üzeri kapatılarak, 60 dk. boyunca 37°C'de inkübe edildi.
- ✓ İnkübasyon sonrasında plak 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı.
- ✓ Her kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi A ve 50 µl substrat çözeltisi B eklendi.
- ✓ Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca tekrar inkübe edildi.
- ✓ Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi, mavi rengin hemen sarıya döndüğü gözlemlendi.
- ✓ Stop çözeltisi eklendikten sonra, 10 dakika içinde mikropalak okuyuculu spektrofotometre kullanarak 450 nm'de her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) okundu ve grafiği hazırlandı.
- ✓ Kör olarak kullanılan kuyucuklara sadece kromojen A, B ve stop solüsyonu eklendi.



Şekil 2.3. TGF-β1 ELISA yöntemi kalibrasyon eğrisi

#### **2.4.4. İnsan Plazma Sitozolik Fosfolipaz A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>) Düzeyi Tayini**

Bu amaçla, Human Cytosolic Phospholipase A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>) Elisa Kiti kullanılmıştır.

##### **Yöntemin prensibi**

İnsan cPLA<sub>2</sub> plazma düzeyini belirlemek amacı ile Sandwich-ELISA yöntemi kullanılmaktadır. Bu kit içeriğinde mevcut olan mikroplak, insan cPLA<sub>2</sub>'ye özgü monoklonal antikor ile önceden kaplanmıştır. Standart çözeltiler ve plazma örnekleri, kuyucuklara ilave edilir ve örneklerde bulunan cPLA<sub>2</sub>'nin kuyucuklardaki spesifik antikor ile birleşmesi sağlanır. Daha sonra, biyotinillenmiş insan cPLA<sub>2</sub> antikoru eklenir ve örnekteki cPLA<sub>2</sub>'ye bağlanması sağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP solusyonu eklenerek biyotinillenmiş cPLA<sub>2</sub> antikoruna bağlanması için inkübe edilir. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkama işlemi sırasında uzaklaştırılır Her kuyucuğa substrat çözeltisi eklenir. Bu işlemin sonucunda, yalnızca insan cPLA<sub>2</sub>, biyotinlenmiş deteksiyon antikoru ve Streptavidin-HRP konjugatı içeren kuyular mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, asidik stop çözeltisi ilave edilerek sonlandırılır ve renk sarıya döner. Absorbans 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Bu değer, insan cPLA<sub>2</sub> konsantrasyonuyla orantılıdır.

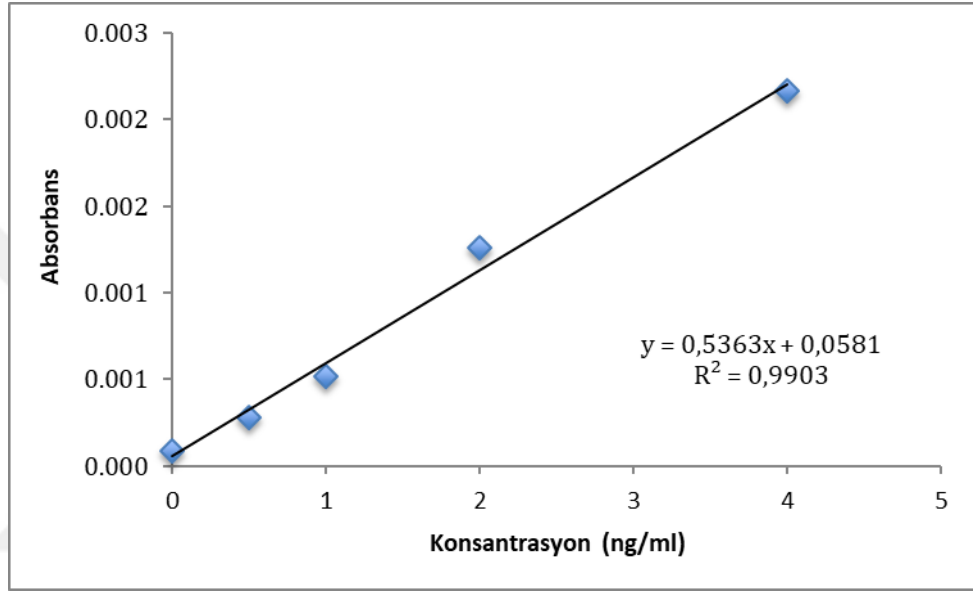
## Yöntemin protokolü

### Standart çözeltilerin hazırlanması

8 ng/ml	Standart No. 5	120 µl Orjinal standart + 120 µl Standart solüsyon
4 ng/ml	Standart No. 4	120 µl Standart No.5 + 120 µl Standart Solüsyon
2 ng/ml	Standart No. 3	120 µl Standart No.4 + 120 µl Standart Solüsyon
1 ng/ml	Standart No. 2	120 µl Standart No.3 + 120 µl Standart Solüsyon
0.5 ng/ml	Standart No. 1	120 µl Standart No.2 + 120 µl Standart Solüsyon

- ✓ Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi.
- ✓ Test için gerekli olan şerit sayısı belirlendi. Şeritler kullanmak üzere çerçevelere yerleştirildi.
- ✓ Standart ve örnekler için gerekli kuyucuk sayısı belirlendi.
- ✓ Standart kuyucuklara 50 µl standart çözelti eklendi.
- ✓ Örnek kuyucuklarına 40 µl plazma ve daha sonra 10 µl anti-cPLA<sub>2</sub> antikoru eklendi.
- ✓ Daha sonra standart ve örnek kuyucuklarına 50 µl Streptavidin-HRP eklenerek karıştırıldı.
- ✓ Plağın üzeri kapatılarak, 60 dk. boyunca 37°C'de inkübe edildi.
- ✓ İnkübasyon sonrasında plak 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı.
- ✓ Her kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi A ve 50 µl substrat çözeltisi B eklendi.
- ✓ Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca tekrar inkübe edildi.
- ✓ Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi, mavi rengin hemen sarıya döndüğü gözlemlendi.

- ✓ Stop çözeltisi eklendikten sonra, 10 dakika içinde mikropalak okuyuculu spektrofotometre kullanarak 450 nm’de her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) okundu ve grafiği hazırlandı.
- ✓ Kör olarak kullanılan kuyucuklara sadece kromojen A, B ve stop solüsyonu eklendi.



Şekil 2.4. cPLA<sub>2</sub> ELISA yöntemi kalibrasyon eğrisi

#### 2.4.5. İnsan Plazma Sekretuar Fosfolipaz A<sub>2</sub> (sPLA<sub>2</sub>) Düzeyi Tayini

Bu amaçla, Human Secreted Phospholipase A<sub>2</sub> (SPLA<sub>2</sub>) Elisa Kiti kullanılmıştır.

## Yöntemin prensibi

İnsan sPLA<sub>2</sub> plazma düzeyini belirlemek amacı ile Sandwich-ELISA yöntemi kullanılmaktadır. Bu kit içeriğinde mevcut olan mikroplak, insan sPLA<sub>2</sub>'ye özgü monoklonal antikor ile önceden kaplanmıştır. Standart çözeltiler ve plazma örnekleri, kuyucuklara ilave edilir ve örneklerde bulunan sPLA<sub>2</sub>'nin kuyucuklardaki spesifik antikor ile birleşmesi sağlanır. Daha sonra, biyotinillenmiş insan sPLA<sub>2</sub> antikoruna eklenir ve örnekteki sPLA<sub>2</sub>'ye bağlanması sağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP solusyonu eklenerek biyotinillenmiş sPLA<sub>2</sub> antikoruna bağlanması için inkübe edilir. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkama işlemi sırasında uzaklaştırılır Her kuyucuğa substrat çözeltisi eklenir. Bu işlemin sonucunda, yalnızca insan sPLA<sub>2</sub>, biyotinlenmiş deteksiyon antikoruna ve Streptavidin-HRP konjugatı içeren kuyular mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, asidik stop çözeltisi ilave edilerek sonlandırılır ve renk sarıya döner. Absorbans 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Bu değer, insan sPLA<sub>2</sub> konsantrasyonuyla orantılıdır.

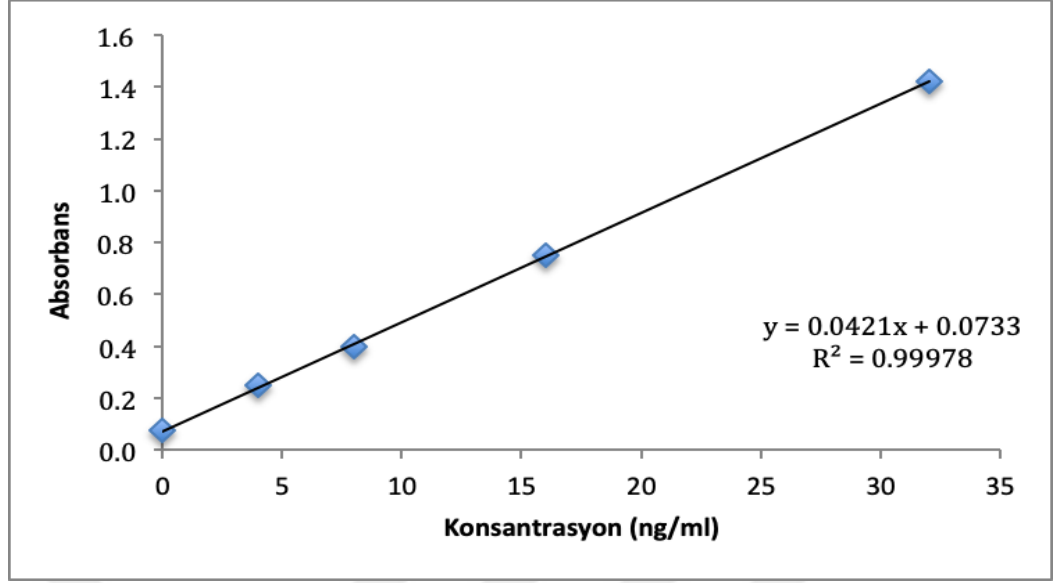
## Yöntemin protokolü

### Standart çözeltilerin hazırlanması

64 ng/ml	Standart No. 5	120 µl Orjinal standart + 120 µl Standart solüsyon
32 ng/ml	Standart No. 4	120 µl Standart No.5 + 120 µl Standart Solüsyon
16 ng/ml	Standart No. 3	120 µl Standart No.4 + 120 µl Standart Solüsyon
8 ng/ml	Standart No. 2	120 µl Standart No.3 + 120 µl Standart Solüsyon
4 ng/ml	Standart No. 1	120 µl Standart No.2 + 120 µl Standart Solüsyon



- ✓ Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi.
- ✓ Test için gerekli olan şerit sayısı belirlendi. Şeritler kullanmak üzere çerçevelere yerleştirildi.
- ✓ Standart ve örnekler için gerekli kuyucuk sayısı belirlendi.
- ✓ Standart kuyucuklara 50 µl standart çözelti eklendi.
- ✓ Örnek kuyucuklarına 40 µl plazma ve daha sonra 10 µl anti-cPLA<sub>2</sub> antikoru eklendi.
- ✓ Daha sonra standart ve örnek kuyucuklarına 50 µl Streptavidin-HRP eklenerek karıştırıldı.
- ✓ Plâğin üzeri kapatılarak, 60 dk. boyunca 37°C'de inkübe edildi.
- ✓ İnkübasyon sonrasında plak 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı.
- ✓ Her kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi A ve 50 µl substrat çözeltisi B eklendi.
- ✓ Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca tekrar inkübe edildi.
- ✓ Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi, mavi rengin hemen sarıya döndüğü gözlemlendi.
- ✓ Stop çözeltisi eklendikten sonra, 10 dakika içinde mikropalak okuyuculu spektrofotometre kullanarak 450 nm'de her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) okundu ve grafiği hazırlandı.
- ✓ Kör olarak kullanılan kuyucuklara sadece kromojen A, B ve stop solüsyonu eklendi.



Şekil 2.5. sPLA<sub>2</sub> ELISA yöntemi kalibrasyon eğrisi

## 2.5. PCR Ölçümleri

Çalışma kapsamında yapılan analizlerde, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu'nun 04-225-18 no'lu etik kurul kararı ile daha önce gönüllülerden toplanan kan örneklerinden izole edilmiş olan RNA örnekleri kullanılmıştır.

### 2.5.1. cDNA Sentezi

Transcriptor high Fidelity cDNA Synthesis Kit (Roche) kullanıldı. Total RNA (100 ng), 6 ul genomik DNA eliminatör ile 37 C'lik su banyosunda 5 dk bekletildi. Üzerine 6 ul reverse transkriptaz enzimi eklendi ve PCR cihazına yerleştirildi. Örnekler, 42 °C'de 1 saat inkübe edilerek cDNA sentezlendi. Elde edilen cDNA örnekleri ilgili analiz yapılana kadar -80°C'lik derin dondurucuya kaldırıldı.

## 2.5.2. Gen Ekspresyon Düzeylerinin Saptanması

Gen ekspresyon düzeylerinin saptanması amacıyla RT-PCR yöntemi kullanıldı.

### Yöntemin Prensibi

Elde edilen cDNA örneklerinde, Endoglin ve PLA<sub>2</sub> ekspresyon düzeyleri  $\beta$ -aktin housekeeping gen kullanılarak karşılaştırıldı.

Çalışmada kullanılan forward ve reverse primer dizileri:

Endoglin için; 5'-CTGTGTCCACTTCTCCTGACC-3' (ileri), 5'-  
ACACTGCTGTTACTGAGG-3'(geri)

PLA<sub>2</sub> için; 5'-G TTCAGGAGTGGGTGTGGAG-3' (ileri), 5'-  
CTTAGAGGGTAGGCGATGGG-3' (geri)

Real-Time PCR çalışması için, örnek başına 10  $\mu$ l Sybr green, 1  $\mu$ l ROX, 5.5  $\mu$ l distile su, 1.5  $\mu$ l primer (ileri+geri) ve 2  $\mu$ l cDNA örneği (toplam 20  $\mu$ l) PCR tüplerine eklendi ve 95°C'de 10 dk (hold), 95 °C'de 15 sn, 60 °C'de 40 sn (siklus) olacak şekilde Real-Time PCR cihazında ekspresyon düzeyleri ölçüldü. PCR eğrileri kullanılarak oluşan pikler için Ct (threshold cycle) değerleri belirlendi ve housekeeping genin Ct değerleri ile oranlanarak normalize edildi.

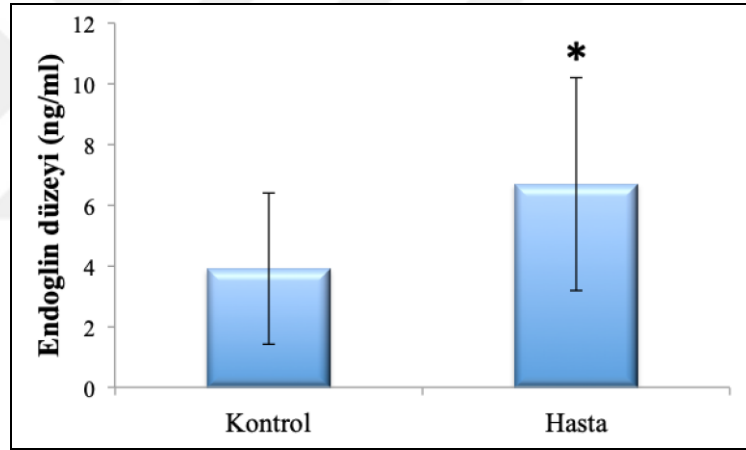
### 3. BULGULAR

Yürütülen proje çalışmasında, kolorektal kanser tanısı konmuş 50 gönüllü hasta ve kontrol grubunu oluşturan sağlıklı 50 gönüllü ile analizler gerçekleştirilmiştir.

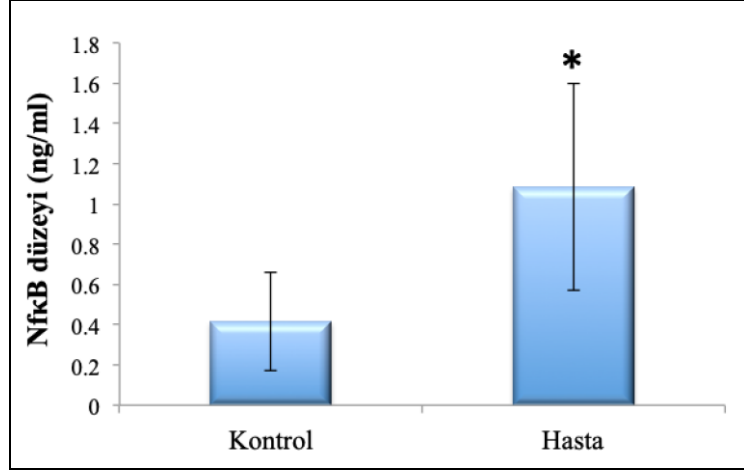
**Çizelge 3.1.** Kolorektal kanser ve kontrol grubuna ait demografik veriler

	Kontrol (n=50)	Hasta (n=50)	p değeri
<b>Değişkenler</b>			
Yaş, ort±SD	34.20±13.59	61.05±8.83	<0.0001
Erkek, %	45.83	46.67	0.857
<b>Bölge</b>			
Sol kolon, %	-	10.52	
Sağ kolon, %	-	31.57	
Sigmoid, %	-	47.36	
Rektum, %	-	10.55	
Teşhiste kemik perforasyonu, %	-	ND	
Teşhiste kemik obstrüksiyonu, %	-	ND	
Adenokarsinom, %	-	78.95	
Musinöz adenokarsinom, %	-	21.05	
Histolojik diferansiyasyon	-	ND	
Evre 2, %	-	76.92	
Evre 3, %	-	23.08	
CEA	-	16.44±41.73 (0.94-183.36)	

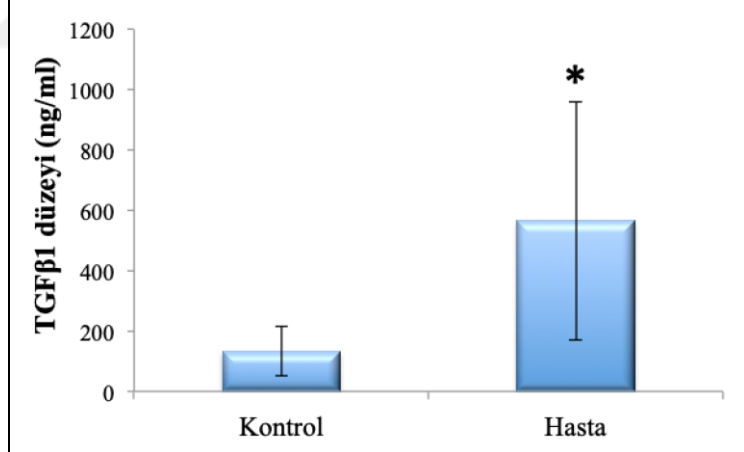
Çalışmamızda kolorektal kanser grubu plazma endoglin düzeylerinin ( $6,71 \pm 3,51$  ng/ml), kontrol grubuna göre ( $3,90 \pm 2,48$  ng/ml) anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır (Çizelge 3.2., Şekil 3.3.,  $p < 0.05$ ). Benzer şekilde kolorektal kanser grubu plazma NfκB düzeyleri ( $1,08 \pm 0,51$  ng/ml), kontrol grubuna göre ( $0,41 \pm 0,24$  ng/ml) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Çizelge 3.2, Şekil 3.4.,  $p < 0.05$ ). Kolorektal kanser grubu plazma TGF-β1 düzeyleri ( $565,03 \pm 395,14$  ng/ml), kontrol grubuna göre ( $132,61 \pm 82,73$  ng/ml) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Çizelge 3.2., Şekil 3.5.,  $p < 0.05$ ). cPLA<sub>2</sub> ve sPLA<sub>2</sub> düzeyleri incelendiğinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. (Çizelge 3.2., Şekil 3.1., Şekil 3.2.).



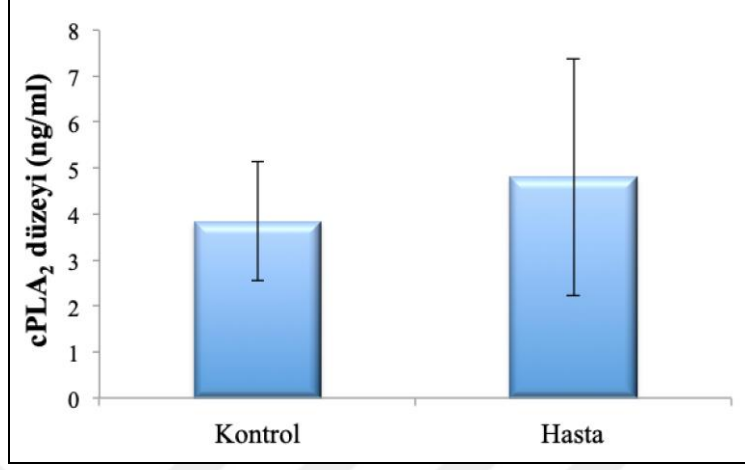
**Şekil 3.1.** Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait plazma endoglin düzeyleri (ng/ml) \* $p = 0,0081$



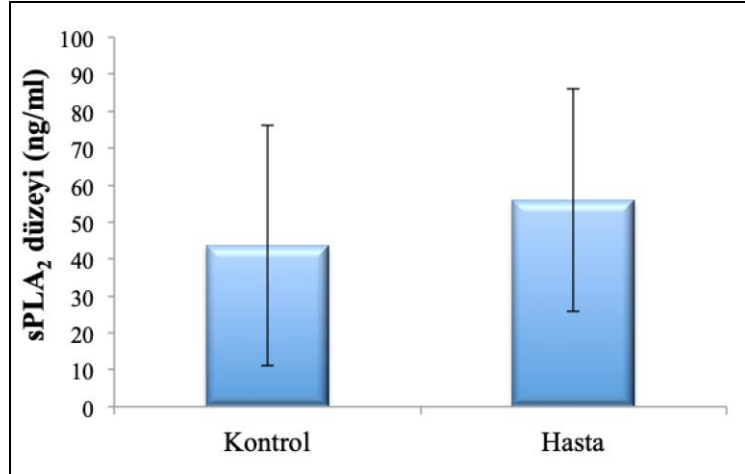
**Şekil 3.2.** Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait plazma NFκB düzeyleri (ng/ml) \*p < 0,0001.



**Şekil 3.3.** Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait plazma TGF-β1 düzeyleri (ng/ml) \*p < 0,0001.



Şekil 3.4. Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait plazma cPLA<sub>2</sub> düzeyleri (ng/ml)

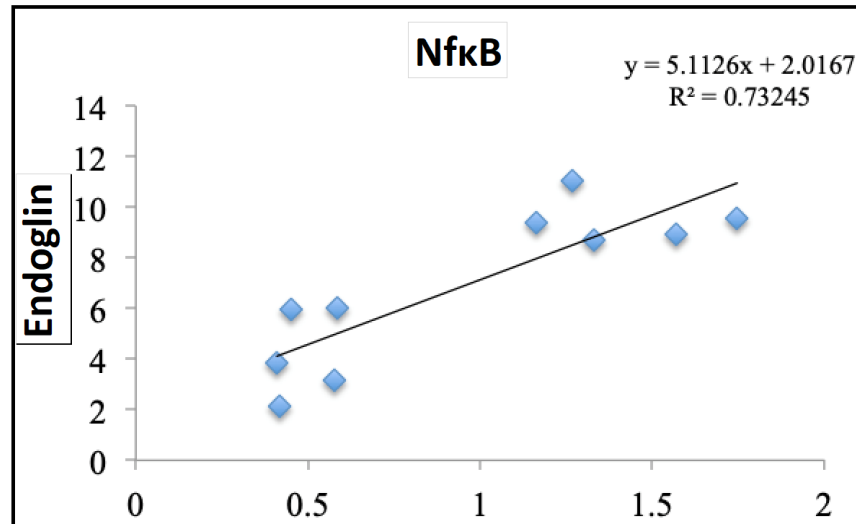


Şekil 3.5. Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait plazma sPLA<sub>2</sub> düzeyleri (ng/ml)

**Çizelge 3.2.** Kolorektal kanser ve kontrol grubu plazma endoglin, NFκB, TGF-β1, cPLA<sub>2</sub>, sPLA<sub>2</sub> düzeyleri.

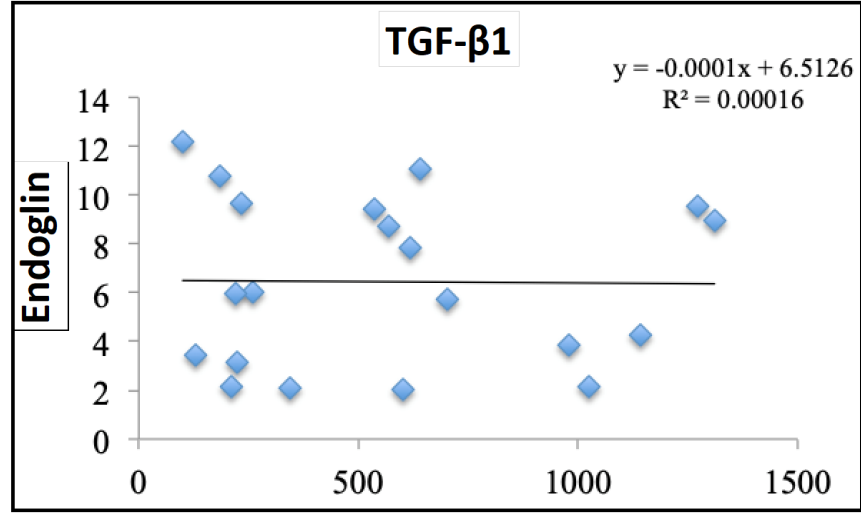
	Kontrol	Hasta	p değeri
Endoglin (ng/ml)	3,90±2,48	6,71±3,51	0,0081
NfkB (ng/ml)	0,41±0,24	1,08±0,51	<0,0001
TGF-β1 (ng/ml)	132,61±82,73	565,03±395,14	<0,0001
cPLA <sub>2</sub> (ng/ml)	3,84±1,28	4,80±2,57	0,3211
sPLA <sub>2</sub> (ng/ml)	43,59±32,50	55,94±30,13	0,3270

Kolorektal kanser grubuna ait plazma endoglin düzeyleri ile plazma TGF-β1, cPLA<sub>2</sub>, sPLA<sub>2</sub> düzeyleri arasındaki korelasyon incelendiğinde; bu parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunamazken (Şekil 3.7., Şekil 3.8., Şekil 3.9., Çizelge 3.3.); kolorektal kanser grubuna ait endoglin plazma düzeylerinin, plazma NFκB ile karşılaştırılması sonucunda, iki parametre arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır (Şekil 3.6, Çizelge 3.3.).

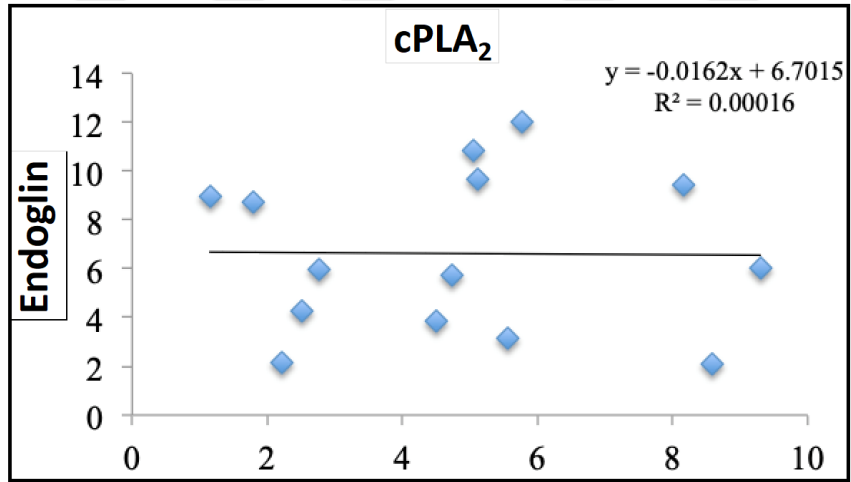


**Şekil 3.6.** Kolorektal kanser grubuna ait ve endoglin düzeyi korelasyon eğrisi. Örnekler için pearson korelasyon analizi uygulanmıştır ve  $p = 0,004$  bulunmuştur.

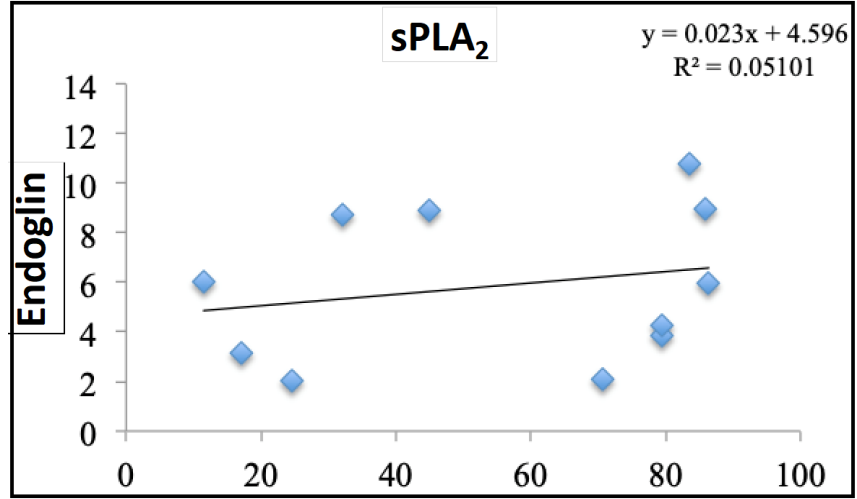




Şekil 3.7. .Kolorektal kanser grubuna ait TGF-β1 ve endoglin düzeyi korelasyon eğrisi. Örnekler için pearson korelasyon analizi uygulanmıştır ve  $p = 0,84$  bulunmuştur.



Şekil 3.8. .Kolorektal kanser grubuna ait cPLA<sub>2</sub> ve endoglin düzeyi korelasyon eğrisi. Örnekler için pearson korelasyon analizi uygulanmıştır ve  $p = 0,762$  bulunmuştur.

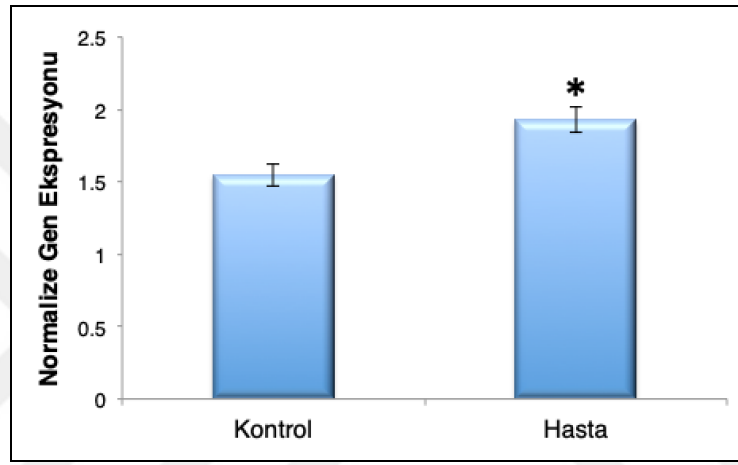


**Şekil 3.9.** Kolorektal kanser grubuna ait sPLA<sub>2</sub> ve endoglin düzeyi korelasyon eğrisi. Örnekler için pearson korelasyon analizi uygulanmıştır ve p = 0,261 bulunmuştur.

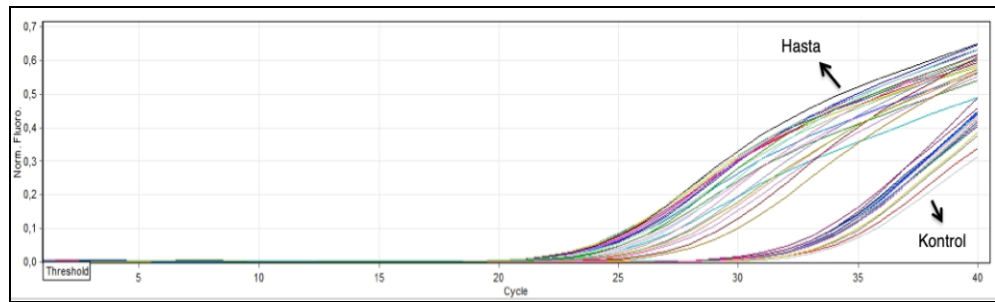
**Çizelge 3.3.** Kolorektal kanser grubu korelasyon analiz sonuçları.

	Endoglin	
	r <sup>2</sup>	p değeri
NfκB	0.732	0.004
TGF-β1	0.00016	0.84
cPLA <sub>2</sub>	0.00016	0.762
sPLA <sub>2</sub>	0.0501	0.261

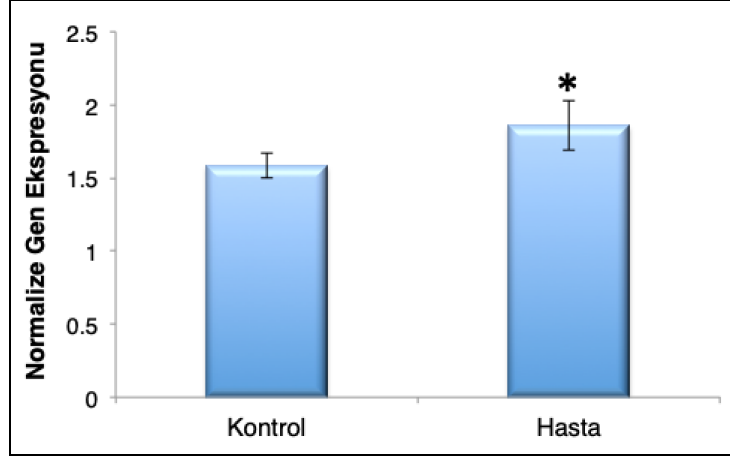
Çalışmamızda kolorektal kanser grubu endoglin mRNA ekspresyonu düzeylerinin ( $1,86 \pm 0,17$ ), kontrol grubuna göre ( $1,58 \pm 0,08$ ) istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır (Çizelge 3.4., Şekil 3.12., Şekil 3.13.,  $p < 0.05$ ). Benzer şekilde kolorektal kanser grubu PLA<sub>2</sub> mRNA ekspresyonu düzeyleri ( $1,92 \pm 0,08$ ), kontrol grubuna göre ( $1,54 \pm 0,07$ ) istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (Çizelge 3.4, Şekil 3.10., Şekil 3.11.,  $p < 0.05$ ).



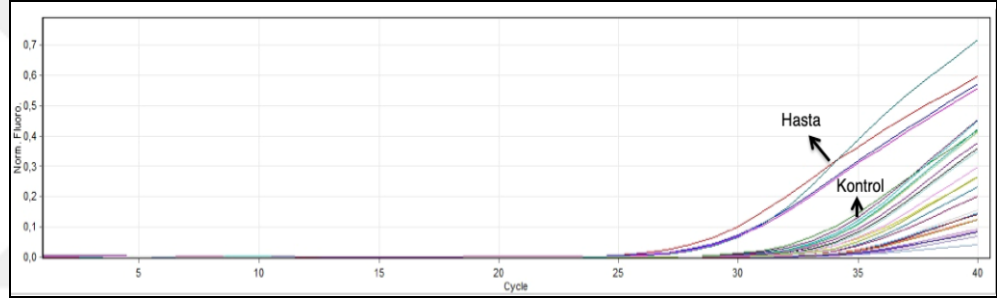
Şekil 3.10. Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait PLA<sub>2</sub> mRNA ekspresyonu düzeyleri. \* $p < 0,0001$ .



Şekil 3.11. Kolorektal kanser hasta ve kontrol grubu örneklerine ait PLA<sub>2</sub> PCR gen eğrisi



**Şekil 3.12.** Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait endoglin mRNA ekspresyonu düzeyleri. \* $p < 0,0001$ .



**Şekil 3.13.** Kolorektal kanser hasta ve kontrol grubu örneklerine ait endoglin PCR gen eğrisi

**Çizelge 3.4.** Kolorektal kanser ve kontrol gruplarına ait endoglin ve PLA<sub>2</sub> mRNA ekspresyonu düzeyleri.

mRNA Ekspresyon Düzeyi	Kontrol	Hasta	p değeri
Endoglin	1,58±0,08	1,86±0,17	<0.0001
PLA <sub>2</sub>	1,54±0,07	1,92±0,08	<0.0001

#### 4. TARTIŞMA

Kolorektal kanser, günümüzde, dünyada en sık rastlanan gastrointestinal kanserlerden biridir ve kanserle ilişkili ölüm nedeni olarak ön sıralarda yer almaktadır (Boyle ve Leon, 2002; Larsson ve ark., 2005; Yang ve ark., 2011). Enflamasyon ve kanser arasındaki fonksiyonel ilişki de uzun süredir bilinmektedir. Bu ilişki, tümörlerin kronik enflamasyon bölgelerinde ortaya çıkmaları, tümörlerde enflamatuvar hücrelerin, kemokinler ve sitokinlerin bulunması, sitokinler ve kemokinlerin aşırı ekspresyonlarının kanseri indükleyebilmesi, enflamasyon ve karsinogenez prosesinde aynı moleküler hedefler ya da benzer yolların aktive ya da inhibe olması şeklindeki gözlemlere dayandırılmaktadır (Mantovani ve ark., 2008).

Epidemiyolojik ve deneysel verilere (Grivennikov ve Karin, 2010; Grivennikov ve ark., 2010) dayanarak ileri sürülen enflamasyon ve kanser arasındaki ilişki, anti-enflamatuvar tedavinin kanserin önlenmesi ve tedavisinde etkinlik göstermesi ile doğrulanmıştır (Gonda ve ark., 2009).

Enflamatuvar hücreler, AA metabolitleri, sitokinler, kemokinler gibi enflamatuvar hücreleri hasar bölgelerine yönlendiren çözünür aracı moleküller üretmektedir. Bu aracı moleküller, NF $\kappa$ B, STAT3, HIF-1 $\alpha$ , NFAT, Nrfl gibi transkripsiyon faktörlerindeki değişiklikleri indükleyebildikleri gibi, sinyal transdüksiyon yollarını da aktive edebilmektedirler (Hussain ve Harris, 2007).

Bağırsak epitel hücreleri, çeşitli bağırsak mikroorganizmaları ve diğer lümen bileşenleri ile sürekli etkileşime girmektedir. NF $\kappa$ B, bariyer sağlamak ve enflamatuvar yanıtı düzenlemek yolu ile, dış tehlikeye karşı bağışıklık sistemi savunmasını

koordine etmektedir. Bu tür bir homeostazın regülasyonunun bozulması, enflamatuvar bağırsak hastalığına ve kolorektal kansere karşı yatkınlığa neden olmaktadır (Pasparakis, 2012). Hem sporadik kolorektal kanser, hem de kolit ile ilişkili kanser, Wnt/ $\beta$ -katenin, Ras ve p53 gibi onkojenik ve tümör baskılayıcı yollardaki genetik/epigenetik değişiklikler ile karakterize çok aşamalı işlemlerdir (Grivennikov, 2013; Vaiopoulos ve ark., 2010). Enflamatuvar hücreler, miyofibroblastlar, diğer hücre tipleri ve hücre dışı bileşenlerden oluşan bir tümörojenik oluşum, malignitelerin sürdürülmesi için gereklidir ve tümörün başlatılmasını, ilerlemesini ve tümör hücrelerinin hayatta kalmasını kolaylaştırmaktadır (Grivennikov ve ark., 2010; Vaiopoulos ve ark., 2012). Kolorektal kanser hastalarında sitokinlerin plazma seviyelerinin sıklıkla yüksek çıktığı bildirilmiştir (Klampfer, 2011).

NF- $\kappa$ B sinyal yolağı, enflamasyonun ana düzenleyicisidir ve kanser gelişimi ile ilişkilendirilmektedir (Merga ve ark., 2016). Bu sinyal yolağı, IL-1 ve TNF, T-hücre reseptörleri (TCR) veya B-hücre reseptörleri (BCR) gibi sitokinler tarafından aktive edilmektedir (Merga ve ark., 2016). Spesifik olarak kolon kanserinde, intestinal epitelyal hücrelerde NF $\kappa$ B aktivasyonu ve buna karşılık gerçekleşen enflamasyonun, tümör oluşumunda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Fitzpatrick ve Slattery, 2009). NF $\kappa$ B aktivasyonunun, özellikle akut enflamatuvar yanıtta, immün savunmada yer alabildiği, aynı zamanda, pro-tümörojenik fonksiyonlarda rol oynayan pro-enflamatuvar özellik gösterdiği bildirilmiştir (Hoesel ve Schmid 2013).

NF- $\kappa$ B sinyal yolağı, bağışıklık sistemi ile ilgili genlerin düzenlenmesinde rol oynadığı için karsinojenik süreçte önemlidir. Bu nedenle, kolorektal kanser de dahil olmak üzere birçok hastalığı potansiyel olarak etkileyebilmektedir. Çalışmamızda NF- $\kappa$ B plazma düzeylerinin kolorektal kanser hasta grubunda kontrole göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0.0001$ ).

Çalışmalar, benign adenoma ve kanserli olmayan dokuya kıyasla, kolorektal kanserde TGF- $\beta$ 1 ekspresyonunun arttığını göstermiştir (Buckhaults ve ark., 2001). Yüksek TGF- $\beta$  seviyeleri primer tümör dokusunda ve kolorektal kanser hastalarından alınan plazmada gözlenmiş olup, metastaz ve kötü prognoz ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Friedman ve ark., 1995; Tsushima ve ark., 1996). TGF- $\beta$ , kolorektal kansere bağlı karaciğer metastazlarının merkez bölgelerinde ağırlıklı olarak saptanmıştır (Turtoi ve ark., 2014). TGF- $\beta$ 'nın orta derecede farklılaşan kolon kanserlerinde tümör büyümesinin durmasına neden olduğu; ancak, daha agresif tümörlerde proliferasyonu desteklediği gösterilmiştir (Schroy ve ark.,1990).

Yapılan bazı çalışmalarda, bizim bulgularımız ile uyumlu olarak, dolaşımdaki TGF- $\beta$  seviyelerinin, hematolojik maligniteler ve solid tümör hastalarında kontrole göre yüksek olduğu bildirilmiştir (Hong ve ark., 2014; Lee ve ark., 2004). Patolojik TGF- $\beta$  seviyelerinin, kanser hastalarının hem doğal, hem de adaptif hücrel bağışıklıklarını bozduğu gösterilmiştir (Bellone ve ark., 1995; Chretien ve ark., 2014; Dasgupta ve ark., 2005).

Son yıllarda, COX enzimlerinin, tümör gelişimi ve ilerlemesindeki rolleri üzerine dikkat çekilmektedir (Williams ve ark., 1999). COX enzimlerinden COX-2'nin pek çok kanser türünde yapısal olarak eksprese olduğu bildirilmektedir (Yoo ve ark., 2011). Ayrıca, yapılan çalışmalarda, AA metabolizmasında anahtar düzenleyici bir rol oynayan PLA<sub>2</sub> enziminin de kanserde düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Bulgularımıza göre, kolorektal kanser hasta grubu ile kontrol grubu arasında, cPLA<sub>2</sub> ve sPLA<sub>2</sub> plazma düzeyleri açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Genetik değişikliklerin birkaç anahtar gende (APC, K-ras, DCC ve p53) birikimi, tümör gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (Fearon ve Vogelstein, 1990). Özellikle, Wnt/ $\beta$ -katenin/Tcf-4 yolağının aktivasyonunun, kolon tümör oluşumunda kilit bir rol oynadığı ve c-myc, siklin D1, MMP-7, ITF-2, Il-8, gastrin, uPAR ve

EPR-1 genleri de dahil olmak üzere çok sayıda hedef genin aşırı ekspresyonuna yol açtığı bilinmektedir (Kolligs ve ark., 2002; Levy ve ark., 2002). Ayrıca, tümör modifiye edici genlerin kalıtımı, bireysel genetik yatkınlıklara temel oluşturan patogeneze de katkıda bulunabilmektedir (Wiesner ve ark., 2003; Yan ve ark., 2004; Rakoff-Nahoum ve Medzhitov, 2007). Bu tür tümör değiştirici genlerin kapsamlı karakterizasyonu, kanserin evresini ve tümörün kalın bağırsaktaki yerinin, "sağ" veya "sol" kolon olarak, belirlenmesini sağlamaktadır. Bu bilginin, kolorektal kanserde rol oynayan moleküler olayların daha iyi anlaşılmasını sağlayabileceği ve hasta tedavi sonuçlarını iyileştirmek için yeni terapötik hedeflerin geliştirilmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Williams ve ark., 2003; Barrier ve ark., 2005). Erken tanı ve prognoz amacı ile, insan kolorektal kanserlerinin yeni biyobelirteçlerini tanımlamak için bu tür genlerin ekspresyonunu araştırmanın da önemli olduğu araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (Williams ve ark., 2003; Barrier ve ark., 2005).

Morioka ve arkadaşları (2000), PLA<sub>2</sub>GX'in, kültüre edilmiş insan kolon karsinomu hücre hatlarından AA salgıladığını ve bunun da COX-2'ye bağımlı PGE<sub>2</sub> oluşumuna yol açtığını göstermiştir. Normal kolon epitelini ile karşılaştırıldığında adenokarsinom hücrelerinde artmış PLA<sub>2</sub>GX ekspresyonu olduğu gösterilmiştir. Ayrıca PLA<sub>2</sub>'nin kolon kanseri hücrelerinin çoğalmasını uyardığı da bildirilmiştir (Sarel ve ark., 2009). Bu verilerden, PLA<sub>2</sub>'nin kolorektal karsinogenez üzerinde rolü olduğu tahmin edilmektedir. Aslında, önceki çalışmalar da, insan kolon kanseri dokusunda PLA<sub>2</sub>'nin ekspresyonunu, mRNA (Mounier ve ark., 2008) ve protein (Tribler ve ark., 2007) seviyelerinde göstermektedir. Ayrıca, diğer sPLA<sub>2</sub> izoformlarının da (GIIA, GIII ve GXIIA) kolorektal kanser dokusunda yüksek oranda eksprese edildiği doğrulanmıştır (Mounier ve ark., 2008; Murakami ve ark., 2005; Tribler ve ark., 2007). Bununla birlikte, kolon kanseri dokularında PLA<sub>2</sub>GX'in kesin ekspresyonu ve dağılım şekilleri karakterize edilmeye devam etmektedir.



Kolonik tümörlerin serbest AA salgıladığı ve genellikle normal mukoza dokusu ile karşılaştırıldığında daha fazla PG ürettiği öne sürülmüştür (Bennett ve ark., 1987). cPLA<sub>2</sub>, PG'ler için anahtar bir enzimdir ve cPLA<sub>2</sub>'nin intestinal tümör oluşumuna dahil olduğu gösterilmiştir. İlk defa, Soydan ve ark. (1996), insan kolon tümörlerinin ve bunlarla ilişkili normal mukoza ve submukozanın yüksek molekül ağırlıklı cPLA<sub>2</sub> içerdiğini göstermiştir. Diğer çalışmalar cPLA<sub>2</sub>'nin, kolorektal kanserlerin % 35 ile % 50'sinde aşırı eksprese edildiğini bildirmiştir (Panel ve ark., 2006; Wendum ve ark., 2003). Young Sun ve ark. (2011), cPLA<sub>2</sub>'nin test edilen kolorektal kanser doku numunesinin % 54.5'inde aşırı eksprese edildiğini, ancak cPLA<sub>2</sub> ekspresyonunun VEGF ekspresyonu hariç diğer klinikopatolojik parametrelerle ilişkili olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada, VEGF ekspresyonu, cPLA<sub>2</sub> ekspresyonu ile istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon göstermiştir (p = 0.016). Bu sonuçlar, cPLA<sub>2</sub>'nin, tümör gelişiminde ve kolorektal kanserde metastaz gelişiminde önemli bir rol oynadığını güçlü şekilde ortaya koymaktadır.

Hayvan modellerinde yapılan araştırmalarda, cPLA<sub>2</sub> ekspresyonunun pro-tümorojenik olduğu öne sürülmüştür. Farelerde cPLA<sub>2</sub> geninin homojen olarak silinmesinin, ince bağırsakta polip gelişimini dramatik olarak azalttığı; ancak, kolonik polip gelişimini azaltmadığı bulunmuştur. Bu durum da cPLA<sub>2</sub>'nin tümör gelişiminde rol oynadığını göstermiştir (Hong ve ark., 2001; Takaku ve ark., 2000). Ayrıca, cPLA<sub>2</sub> knock-out farelerde, tümör gelişiminin arttığı ve cPLA<sub>2</sub> ekspresyonunun pro-apoptotik bir rol oynadığı öne sürülmüştür (Ilsley ve ark., 2005). Hayvan modellerinde gösterildiği gibi, insan kolorektal kanserlerinde de cPLA<sub>2</sub> ekspresyonu konusunda oldukça değişken sonuçlar bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda cPLA<sub>2</sub>'nin kolorektal kanserde aşırı ekprese edildiği bildirilmekte iken (Soydan ve ark., 1996; Wendum ve ark., 2003; Wendum ve ark., 2005; Osterström ve ark., 2002), bazı çalışmalar ise bunun tersine sonuçladığını (Dong ve ark., 2005) bildirmişlerdir. Ayrıca, bir başka çalışmada araştırmacılar, cPLA<sub>2</sub>'nin rolünün PG'lerin oluşumunda hız sınırlayıcı bir adım gibi görünmediğini ve cPLA<sub>2</sub>'nin insan kolorektal karsinogenezinde küçük bir rol oynadığını ya da hiçbir rolü olmadığını bildirmiştir (Dimberg ve ark., 1998).

Panel ve ark. (1996), kolorektal kanserli 65 hastanın immünohistokimya sonuçlarında ve birkaç kolorektal kanser hücre hattı üzerinde yapılan western blot analizleri sonrasında, cPLA<sub>2</sub>'nin, vakaların yaklaşık yarısında aşırı eksprese edildiğini ve cPLA<sub>2</sub> ekspresyonunun, COX-2 ekspresyonu ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu bildirmiştir. Bu durum, cPLA<sub>2</sub>'nin, kolorektal kanserde tümör gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir; ancak, diğer çalışmalar, cPLA<sub>2</sub>'nin insan kolon kanseri hücrelerinde TNF- $\alpha$  ile indüklenen apoptoziste önemli bir rol oynadığını ve hücre içi AA seviyelerinin cPLA<sub>2</sub>'nin inhibisyonu ile baskılandığında kolon kanseri büyümesinin tercih edildiğini göstermiştir (Dong ve ark., 2005).

Young Sun ve ark. (2011), hasta sağkalımı ve cPLA<sub>2</sub> ekspresyonu ile ilgili olarak yaptıkları araştırmada, kolorektal kanserde cPLA<sub>2</sub> ekspresyonunun, hastanın sağkalımı ile ilişkili olmadığını göstermişlerdir. Bu çalışma, kolorektal kanserde hastaların sağkalımlarının cPLA<sub>2</sub> ekspresyonuna göre değerlendirildiği ilk araştırmadır. Daha öncesinde, cPLA<sub>2</sub>'nin değil; fakat, Grup IIA PLA<sub>2</sub>'nin ekspresyonunun 2. evre kolorektal kanserde değerli prognostik bilgi sağladığı bildirilmiştir (Buhmeida ve ark., 2009).

Tez çalışmamızda gerçekleştirilen gen ekspresyon analizlerinde, PLA<sub>2</sub> mRNA ekspresyon düzeyinin kolorektal kanser hasta grubunda, kontrole göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). Elde ettiğimiz veriler, literatür bulgusu ile uyumlu bulunmuştur.

Endoglin, ilk olarak insanlarda lösemi ile ilişkili antijen olarak tanımlanan ve daha sonra, çoğalan endotel hücrelerin yüzeyinde yoğun olarak eksprese olduğu bulunan bir homodimerik hücre membran glikoproteinidir (Li ve ark., 1999). Endoglin, bir TGF- $\beta$  ko-reseptörü olup, anjiyogenez için gerekli olduğu (Dallas ve ark., 2008), proliferen olan vaskülatürde yoğun eksprese olduğu (Burrows ve ark.,

1995; Paauwe ve ark., 2013) ve hipoksi ile up-regüle olduğu gösterilmiştir (She ve ark., 2004). Endoglinin, akciğer, meme, kolorektal, gastrik, karaciğer, endometrial, böbrek hücresi, baş ve boyun ve over kanserlerinde tümör damarlarının proliferen olan endotel hücrelerinin plazma membranlarında yüksek düzeyde eksprese olduğu bildirilmiştir (Paauwe ve ark., 2013). Yetişkin insan dokularında endoglin ekspresyonu, proliferen olan endotel hücreler, aktive monositler ve eritrositlerin prekürsörü olan proeritroblastlar tarafından sınırlandırılmaktadır (Rokhlin ve ark., 1995).

Metastatik meme ve kolorektal tümörlü hastalar kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek serum endoglin seviyeleri sergilemiştir (Li ve ark., 2000; Takahashi ve ark., 2001). Serum endoglin düzeylerinin de kemoterapi ile azaldığı gösterilmiştir (Takahashi ve ark., 2001). Birlikte ele alındığında, bu sonuçlar serum endoglin düzeylerinin ileri hastalığı olan hastaları ve metastaz gelişme riski taşıyan hastaları sınıflandırmak için kullanılabileceğini göstermektedir. Endoglinin ayrıca, kemoterapi sonrası kanser hastalarında nüksü izlemek için kullanılabileceği de bildirilmiştir (Marioni ve ark., 2010). Fujita ve ark. (2009), idrar ve serumdaki endoglin düzeylerinin prostat kanserinin saptanması ve takibinde yardımcı olabileceğini bildirmiştir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kolorektal kanser, günümüzde giderek yaygınlaşan kanser türleri arasında ön sıralarda yer almaktadır ve her yıl dünya çapında birçok yeni kolorektal kanser teşhisi konulmaktadır. Kolorektal kanser, dünya genelinde morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biri olarak görülmektedir. Premalign fazda ya da erken dönemde fark edildiğinde tedavi edilebilir bir hastalık olması nedeni ile öncelikli olarak hastalıktan korunma, sonrasında erken teşhis büyük önem taşımaktadır. Bu aşamalarda Klinik Eczacılara önemli görevler düşmektedir.

Yürütülen çalışma kapsamında, kolorektal kanser tanısı konmuş hasta gönüllü ve sağlıklı gönüllülerden toplanan kan örneklerinden elde edilen plazma ve RNA örneklerinde endoglin düzeyleri ölçülmüş ve enflamatuvar mikroçevre bileşenlerinden olan NFκB, TGF-β1, cPLA<sub>2</sub>, sPLA<sub>2</sub> düzeyleri ile karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızda kolorektal kanser grubu endoglin mRNA ekspresyonu ve PLA<sub>2</sub> mRNA ekspresyonu düzeylerinin, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, kolorektal kanser grubu plazma endoglin, NfκB, TGF-β1 düzeylerinin, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanırken, cPLA<sub>2</sub> ve sPLA<sub>2</sub> düzeyleri incelendiğinde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Kolorektal kanser grubuna ait plazma endoglin düzeyleri ile TGF-β1, cPLA<sub>2</sub>, sPLA<sub>2</sub> düzeyleri arasındaki korelasyon incelendiğinde; bu parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunamamışken, plazma NFκB düzeyi ile karşılaştırılması sonucunda, iki parametre arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. NFκB, doğuştan gelen immünite ve enflamasyonun anahtar bir düzenleyicisidir ve tümör hücreleri ile enflamatuvar

hücreler arasında potansiyel bir moleküler köprü olduğu kabul edilmektedir. NFκB, enflamatuvar yanıtların entegrasyon noktasında olduğu için, enflamasyon ve kanser arasındaki ilişkide önemli bir işlev görmektedir. NFκB ve endoglin arasındaki korelasyon, kolorektal kanserde hem plazma düzeyleri hem de gen ekspresyon düzeyleri ile ölçülen endoglin artışının enflamasyonla bağlantılı olabileceğini, dolayısıyla enflamasyon varlığının anjiyogenez ve neovaskülarizasyonu desteklediğini düşündürmektedir.

Kanserlerde antikor bazlı terapötik stratejilere yönelik son çalışmalar ile, çeşitli potansiyel antijenlerin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. CD105 olarak da bilinen endoglin, bu kapsamda tanımlanmış ve son yıllarda yaygın popülarlik kazanmış bir antijendir. Endoglin, tümörle ilişkili anjiyogenez ve neovaskülarizasyon için uygun bir belirteç olarak önerilmektedir. Bu nedenle klinikte tanı almış hastaların prognoz, tanı ve tedavisinin takibinde endoglinin uygun bir takip kriteri olarak belirlenebileceği, rutin laboratuvar testleri arasına eklenerek Klinik Eczacılar ve hekimlere yol göstereceği düşünülmektedir.

## ÖZET

### **Kolorektal Kanser Hastalarında Endoglin Düzeyleri ile Enflamatuvar Mikroçevre İlişkisinin Araştırılması**

Kolorektal kanser (CRC) dünya çapında en yaygın görülen kanserlerden biridir ve kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenlerindedir. Tümörlerin sıklıkla kronik enflamasyon ortamında geliştiği ve tümör biyopsi örneklerinde enflamatuvar hücrelerin mevcut olduğu gözlemine dayanarak, enflamasyon ve kanser arasındaki nedensel bağlantı öne sürülmüştür. Epidemiyolojik çalışmalar, kronik enflamasyonun farklı kanser türlerine zemin hazırladığını ortaya çıkarmıştır. Kronik enflamasyonun kanser gelişimini destekleyebildiğini ve tümör kaynaklı enflamasyonun kartopu etkisi yaratarak tümör progresyonunu sürdürdüğünü gösteren çok sayıda kanıt bulunmaktadır.

Bu tez çalışmasında kolorektal kanser tanısı almış olan hastalar ile sağlıklı gönüllülerin kan plazma örneklerinde, yaygın olarak bilinen enflamasyon belirteçlerinden olan sPLA<sub>2</sub>, cPLA<sub>2</sub>, NFκB, TGF-β1 düzeyleri ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi ile ölçülmüş ve elde edilen bulgular, plazma Endoglin düzeyleri ile karşılaştırılmıştır. Tez çalışması kapsamında ayrıca, hasta ve kontrol gönüllülerden alınan kan örneklerinden daha önceki çalışmalarda izole edilmiş olan RNA örnekleri kullanılmış olup, söz konusu materyal ile endoglin ve PLA<sub>2</sub> mRNA ekspresyon düzeylerinin analizleri Real-Time PCR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda kolorektal kanser grubu endoglin mRNA ekspresyonu ve PLA<sub>2</sub> mRNA ekspresyonu düzeylerinin, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, kolorektal kanser grubu plazma endoglin, NFκB, TGF-β1 düzeylerinin, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanırken, cPLA<sub>2</sub> ve sPLA<sub>2</sub> düzeyleri incelendiğinde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Kolorektal kanser grubuna ait plazma endoglin düzeyleri ile TGF-β1, cPLA<sub>2</sub>, sPLA<sub>2</sub> düzeyleri arasındaki korelasyon incelendiğinde; bu parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunamamışken, plazma NFκB ile karşılaştırılması sonucunda, iki parametre arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır.

Çalışmanın sonuçları kolorektal kanserde hem plazma düzeyleri hem de gen ekspresyon düzeyleri ile ölçülen endoglin artışının enflamasyonla bağlantılı olabileceğini, dolayısıyla enflamasyon varlığının anjiyogenez ve neovaskülarizasyonu desteklediğini düşündürmektedir.

**Anahtar sözcükler:** Endoglin, Kolorektal Kanser, NFκB, PLA<sub>2</sub>, TGF-β1

## SUMMARY

### **The Relationship Between Endoglin Levels and Inflammatory Microenvironment in Colorectal Cancer Patients**

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common cancers worldwide and is one of the leading causes of cancer-related deaths. The causal link between inflammation and cancer has been proposed based on the observation that tumors often develop in a chronic inflammatory environment and that inflammatory cells are present in tumor biopsy specimens. Epidemiological studies have revealed that chronic inflammation provides a basis for different types of cancer. There is a great deal of evidence to suggest that chronic inflammation can support cancer development and that tumor-induced inflammation maintains tumor progression by creating a snowball effect.

In this study, sPLA<sub>2</sub>, cPLA<sub>2</sub>, NfκB, TGF-β1 levels were measured by ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) in blood plasma samples of patients with colorectal cancer and healthy volunteers and the results were compared with plasma endoglin levels. In addition, RNA samples isolated in the previous studies from blood samples of patient and control volunteers were used, and endoglin and PLA<sub>2</sub> mRNA expression levels were analyzed by Real-Time PCR.

In this study, endoglin mRNA expression and PLA<sub>2</sub> mRNA expression levels in colorectal cancer group were found significantly higher than in the control group. According to the results of the study, plasma endoglin, NfκB, TGF-β1 levels were found significantly higher in colorectal cancer group compared to control group, while there was no statistically significant difference in plasma cPLA<sub>2</sub> and sPLA<sub>2</sub> levels between colorectal cancer and control groups. There was no statistically significant correlation between endoglin plasma levels and TGF-β1, cPLA<sub>2</sub>, sPLA<sub>2</sub> plasma levels of colorectal cancer patients group, while plasma NFκB levels was found statistically significant positive correlation with endoglin plasma levels.

The results of the study suggest that the increase of endoglin determined by both plasma levels and gene expression levels in colorectal cancer may be associated with inflammation, and therefore the presence of inflammation promotes angiogenesis and neovascularization.

**Key words:** Colorectal cancer, Endoglin, NFκB, PLA<sub>2</sub>, TGF-β1

## KAYNAKLAR

- ADELSTEIN P, BALDWIN JA, FEDRICH J (1979). Cancers of the large bowel: Associated disorders in individuals. *Cancer*, **43**: 2553–2557.
- AFONSO V, CHAMPY R, MITROVIC D, COLLIN P, LOMRI A (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Joint Bone Spine*, **74(4)**: 324–329.
- AGGARWAL A, GUO DL, HOSHIDA Y, YUEN ST, CHU KM, SO S, BOUSSIOUTAS A, CHEN X, BOWTELL D, ABURATANI H, LEUNG SY, TAN P (2006). Topological and functional discovery in a gene coexpression meta-network of gastric cancer. *Cancer Res.*, **66**: 232–241.
- AGGARWAL BB, SUNG B (2011). NF-kappaB in cancer: a matter of life and death. *Cancer Discov* **1**: 469–471.
- AKDİS M, AAB A, ALTUNBULAKLI C, AZKUR K, COSTA RA, CRAMERİ R, DUAN S, EİWEGGER T, ELJASZEWICZ A, FERSTL R, FREİ R, GARBANI M, GLOBİNSKA A, HESS L, HUİTEMA C, KUBO T, KOMLOSI Z, KONİECZNA P, KOVACS N, KUCUKSEZER UC, MEYER N, MORİTA H, OLZHAUSEN J, O'MAHONY L, PEZER M, PRATI M, REBANE A, RHYNER C, RİNALDI A, SOKOLOWSKA M, STANIĆ B, SUGİTA K, TREİS A, VAN DE VEEN W, WANKE K, WAWRZYŃIAK M, WAWRZYŃIAK P, WİRZ OF, ZAKZUK JS, AKDİS CA (2016). Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor b, and TNF-  $\alpha$ : Receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol*, **138(4)**: 984-1010.
- AL MURRI AM, BARTLETT JM, CANNEY PA, DOUGHTY JC, WILSON C, MCMILLAN DC (2006). Evaluation of an inflammation-based prognostic score (gps) in patients with metastatic breast cancer. *Br J Cancer*, **94**: 227–230.
- ALAM M, KHAN M, VELEDAR E, PONGPRUTTHIPAN M, FLORES A, DUBINA M, NODZENSKI M, YOO SS (2016). Correlation of inflammation in frozen sections with site of nonmelanoma skin cancer. *JAMA Dermatol*, **152**: 173–176.
- ALDERTON GK (2012). Inflammation: the gut takes a toll on liver cancer. *Nat Rev Cancer*, **12**: 379.
- AP, CERRADA E AND YOLDI MJR (2017). Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. **18(1)**: pii: E197.
- ARNOLD M, SIERRA MS, LAVERSANNE M, SOERJOMATARAM I, JEMAL A, BRAY F (2017). Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut*, **66**: 683-691.
- BALKWILL F (2009). Tumour necrosis factor and cancer. *Nat Rev Cancer*, **9**: 361-371.
- BALKWILL F, CHARLES KA, MANTOVANI A (2005). Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer Cell*, **7**: 211-217.



- BALKWILL F, MANTOVANI A (2001). Inflammation and cancer: Back to Virchow? *Lancet*, **357**: 539-545.
- BALSINDE J, BALBOA MA, INSEL PA, DENNIS EA (1999). Regulation and inhibition of phospholipase A2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, **39**: 175-189.
- BARASH H, GROSS RE, EDREI Y, ELLA E, ISRAEL A, COHEN I, CORCHIA N, BEN-MOSHE T, PAPPO O, PIKARSKY E (2010). Accelerated carcinogenesis following liver regeneration is associated with chronic inflammation-induced double-strand DNA breaks. *Proc Natl Acad Sci USA*, **107**: 2207-2212.
- BARBARA NP, WRANA JL A, LETARTE M (1999). Endoglin is an accessory protein that interacts with the signaling receptor complex of multiple members of the transforming growth factor-beta superfamily. *J Biol Chem*, **274**: 584-594.
- BEATTY J (2014). Viral causes of feline lymphoma: Retroviruses and beyond. *The Veterinary Journal*, **201**: 174-180.
- BELLON T, CORBI A, LASTRES P, CALES C, CEBRIAN M, VERA S, CHEIFETZ S, MASSAGUE J, LETARTE M, BERNABEU C (1993). Identification and expression of two forms of the human transforming growth factor-beta-binding protein endoglin with distinct cytoplasmic regions. *Eur J Immunol*, **23**: 2340-2345.
- BEN-NERIAH Y, KARIN M (2011) Inflammation meets cancer, with NF-kappaB as the matchmaker. *Nat Immunol*, **12**: 715-723.
- BENNETT A, CIVIER A, HENSBY CN, MELHUIH PB, STAMFORD IF (1987). Measurement of arachidonate and its metabolites extracted from human normal and malignant gastrointestinal tissues. *Gut*, **28**: 315-318.
- BIAN Y, HALL B, SUN ZJ, MOLINOLO A, CHEN W, GUTKIND JS, WAES CV, KULKARNI AB (2012). Loss of TGF- $\beta$  signaling and PTEN promotes head and neck squamous cell carcinoma through cellular senescence evasion and cancer-related inflammation. *Oncogene*, **31**: 3322-3332.
- BOLAND CR, GOEL A (2010). Microsatellite instability in colorectal cancer (Review). *Gastroenterology*, **138**: 2073-2087.
- BONOMI M, PATSIAS A, POSNER M, SIKORA A (2014). The role of inflammation in head and neck cancer. *Adv Exp Med Biol*, **816**: 107-127.
- BORNSTEIN S, WHITE R, MALKOSKI S, OKA M, HAN G, CLEAVER T, REH D, ANDERSEN P, GROSS N, OLSON S (2009). Smad4 loss in mice causes spontaneous head and neck cancer with increased genomic instability and inflammation. *J Clin Invest*, **119**: 3408-3419.
- BORRELLO MG, ALBERTI L, FISCHER A, DEGL'INNOCENTI D, FERRARIO C, GARIBOLDI M, MARCHESI F, ALLAVENA P, GRECO A, COLLINI P, PILOTTI S, CASSINELLI G, BRESSAN P, FUGAZZOLA L, MANTOVANI A, PIEROTTI MA. (2005). Induction of a proinflammatory program in normal human thyrocytes by the RET/PTC1 oncogene. *Proc Natl Acad Sci USA*, **102**: 14825-14830.
- BOTELLA LM, SANCHEZ-ELSNER T, SANZ-RODRIGUEZ F, KOJIMA S, SHIMADA J, GUERRERO-ESTEO M, COOREMAN MP, RATZIU V, LANGA C, VARY CP, RAMIREZ JR, FRIEDMAN S, BERNABEU C (2002). Transcriptional activation of endoglin and

transforming growth factor-beta signaling components by cooperative interaction between Sp1 and KLF6: their potential role in the response to vascular injury. *Blood*, **100**: 4001-4010.

BOYLE P, LEON ME (2002). Epidemiology of colorectal cancer. *Br Med Bull* **64**: 1-25.

BROMBERG J, WANG TC (2009). Inflammation and cancer: IL6 and STAT3 complete the link. *Cancer Cell*, **15**: 79–80.

BURROWS FJ, DERBYSHIRE EJ, TAZZARI PL, AMLOT P, GAZDAR AF, KING SW, LETARTE M, VITETTA ES AND THORPE PE (1995). Up-regulation of endoglin on vascular endothelial cells in human solid tumors: implications for diagnosis and therapy. *Clin Cancer Res*, **1**: 1623-1634.

BURT RW (2000). Colon cancer screening. *Gastroenterology*, **119**: 837–853.

CALLE EE, KAAKS R (2004). Overweight, obesity and cancer: Epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nature Reviews. Cancer*, **4**: 579–591.

CALVA AM, ACEVEDO TIRADO MT (2009). Revisión y actualización general en cancer colorrectal. *Revista de Radiología México*, **1**: 99-115.

CARMÍ Y, VORONOV E, DOTAN S, LAHAT N, RAHAT MA, FOGEL M, HUSZAR M, WHITE MR, DINARELLO CA, APTE RN (2009). The role of macrophage-derived IL-1 in induction and maintenance of angiogenesis. *J Immunol*, **183**: 4705-4714.

CASEY SC, VACCARI M, AL-MULLA F, AL-TEMAIMI R, AMEDEI A, BARCELLOS-HOFF MH, BROWN DG, CHAPPELLIER M, CHRISTOPHER J, CURRAN CS, FORTE S, HAMID RA, HENEBERG P, KOCH DC1, KRISHNAKUMAR PK, LACONI E, MAGUER-SATTA V, MARONGIU F, MEMEO L, MONDELLO C, RAJU J ROMAN J, ROY R, RYAN EP, RYEOM S, SALEM HK, SCOVASSI AI, SINGH N, SOUCEK L, VERMEULEN L, WHITFIELD JR, WOODRICK J, COLACCI A, BISSON WH, FELSHER DW (2015). The effect of environmental chemicals on the tumor microenvironment. *Carcinogenesis*, **36(1)**: 160–183.

CHARLES KA, KULBE H, SOPER R, ESCORCIO-CORREIA M, LAWRENCE T, SCHULTHEIS A, CHAKRAVARTY P, THOMPSON RG, KOLLIAS G, SMYTH JF, BALKWILL FR, HAGEMANN T (2009). The tumor-promoting actions of TNF-alpha involve TNFR1 and IL-17 in ovarian cancer in mice and humans. *J Clin Invest*, **119**: 3011-3023.

CHATURVEDI MM, SUNG B, YADAV VR, KANNAPPAN R, AGGARWAL BB (2011) NF-kappaB addiction and its role in cancer: 'one size does not fit all'. *Oncogene*, **30**:1615–1630.

CHEIFETZ S, BELLON T, CALES C, VERA S, BERNABEU C, MASSAGUE J AND LETARTE M (1992). Endoglin is a component of the transforming growth factor-beta receptor system in human endothelial cells. *J Biol Chem*, **267**: 19027-19030.

CHERTOV O, YANG D, HOWARD O, OPPENHEIM JJ (2000). Leukocyte granule proteins mobilize innate host defenses and adaptive immune responses. *Immunol Rev*, **177**: 68–78.

CHO E, LEE JE, RIMM EB, FUCHS CS, GIOVANNUCCI EL (2012). Alcohol consumption and the risk of colon cancer by family history of colorectal cancer. *Am J Clin Nutr*, **95(2)**: 413-419

- CHO SK, BOURDEAU A, LETARTE M AND ZUNIGA-PFLUCKER JC (2001). Expression and function of CD105 during the onset of hematopoiesis from Flk1(+) precursors. *Blood*, **98**: 3635-3642.
- COHEN AJ, POPE CA (1995). Lung cancer and air pollution. *Environmental Health Perspectives*, **103**: 219-224.
- COHEN EN, GAO H, ANFOSSI S, MEGO M, REDDY NG, DEBEB B, GIORDANO A, TIN S, WU Q, GARZA RJ, CRISTOFANILLI M, MANI SA, CROIX DA, UENO NT, WOODWARD WA, LUTHRA R, KRISHNAMURTHY S, REUBEN JM (2015). Inflammation mediated metastasis: immune induced epithelial-to-mesenchymal transition in inflammatory breast cancer cells. *PLoS One*, **10(7)**: e0132710.
- COLUSSI D, BRANDI G, BAZZOLI F, RICCIARDIELLO L (2013). Molecular pathways involved in colorectal cancer: implications for disease behavior and prevention. *Int J Mol Sci*, **14**: 16365-16385.
- CONDEELIS J, POLLARD JW (2006). Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis. *Cell*, **124**: 263-266.
- CORMIER RT, HONG KH, HALBERG RB, HAWKINS TL, RICHARDSON P, MULHERKAR R, DOVE WF, LANDER ES (1997). Secretory phospholipase Pla2g2a confers resistance to intestinal tumorigenesis. *Nat Genet*, **17**: 88-91.
- COUSSENS LM, WERB Z (2002). Inflammation and cancer. *Nature*, **420**: 860-867.
- CUMMINGS BS (2007). Phospholipase A2 as targets for anti-cancer drugs. *Biochem Pharmacol*, **74**: 949-959.
- DALLAS NA, SAMUEL S, XIA L, FAN F, GRAY MJ, LIM SJ, ELLIS LM. (2008). Endoglin (CD105): a marker of tumor vasculature and potential target for therapy. *Clin Cancer Res*, **14**: 1931-1937.
- DEL PRETE A, ALLAVENA P, SANTORO G, FUMARULO R, CORSI MM, MANTOVANI A (2011). Molecular pathways in cancer-related inflammation. *Biochem Med (Zagreb)*, **21(3)**: 264-275.
- DENEKAMP J (1990). Vascular attack as a therapeutic strategy for cancer. *Cancer Metastasis Rev*, **9**: 267-282.
- DINARELLO CA (2006) The paradox of pro-inflammatory cytokines in cancer. *Cancer Metastasis Rev*, **25**: 307-313.
- DINEEN SP, LYNN KD, HOLLOWAY SE, MILLER AF, SULLIVAN JP, SHAMES DS, BECK AW, BARNETT CC, FLEMING JB, BREKKEN RA (2008). Vascular endothelial growth factor receptor 2 mediates macrophage infiltration into orthotopic pancreatic tumors in mice. *Cancer Res*, **68**: 4340-4346.
- DOBRE M, DINU DE, PANAITESCU E, BÎRLĂ RD, IOSIF CI, BOERIU M, CONSTANTINOIU S, IVAN RN, ARDELEANU CM, COSTACHE M (2015). KRAS gene mutations prognostic factor in colorectal cancer? *Rom J Morphol Embryol*, **56**: 671-678.

- DONG M, GUDA K, NAMBIAR PR, REZAIIE A, BELINSKY GS, LAMBEAU G, GIARDINA C, ROSENBERG DW (2003). Inverse association between phospholipase A2 and COX-2 expression during mouse colon tumorigenesis. *Carcinogenesis* **24**(2): 307–315.
- DU R, LU KV, PETRITSCH C, LIU P, GANSS R, PASSEGUE E, SONG H, VANDENBERG S, JOHNSON RS, WERB Z, BERGERS G (2008). HIF1alpha induces the recruitment of bone marrow-derived vascular modulatory cells to regulate tumor angiogenesis and invasion. *Cancer Cell*, **13**: 206-220.
- DULUC D, DELNESTE Y, TAN F, MOLES MP, GRIMAUD L, LENOIR J, PREISSER L, ANEGON I, CATALA L, IFRAH N, DESCAMPS P, GAMELIN E, GASCAN H, HEBBAR M, JEANNIN P (2007). Tumor-associated leukemia inhibitory factor and IL-6 skew monocyte differentiation into tumor-associated macrophage-like cells. *Blood*, **110**: 4319-4330.
- DURATURO F, LICCARDO R, CAVALLO A, DE ROSA M, GROSSO M, IZZO P (2011). Association of low-risk MSH3 and MSH2 variant alleles with Lynch syndrome: Probability of synergistic effects. *Int J Cancer*, **129**: 643–1650.
- ENGELS EA, WU X, GU J, DONG Q, LIU J, SPITZ MR (2007). Systematic evaluation of genetic variants in the inflammation pathway and risk of lung cancer. *Cancer Res*, **67**: 6520–6527.
- EWING I, HURLEY JJ, JOSEPHIDES E, MILLAR A (2014). The molecular genetics of colorectal cancer. *Frontline Gastroenterol*, **5**: 26–30.
- FAZIO C, PIAZZI G, VITAGLIONE P, FOGLIANO V, MUNARINI A, PROSSOMARITI A, MILAZZO M, D'ANGELO L, NAPOLITANO M, CHIECO P, BELLUZZI A, BAZZOLI F, RICIARDIELLO L (2016). Inflammation increases NOTCH1 activity via MMP9 and is counteracted by eicosapentaenoic acid-free fatty acid in colon cancer cells. *Sci Rep*, **6**: 20670.
- FEARON ER, VOGELSTEIN B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990, **61**: 759–767.
- FERRONE C, DRANOFF G (2010). Dual roles for immunity in gastrointestinal cancers. *J Clin Oncol*, **28**: 4045-4051.
- FIDLER MM, SOERJOMATARAM I, BRAY F (2016). A global view on cancer incidence and national levels of the human development. *Int J Cancer*, **139**: 2436-2446.
- FOLKMAN J, WATSON K, INGBER D AND HANAHAN D (1989). Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature*, **339**: 58-61.
- FONSATTI E, ALTOMONTE M, NICOTRA MR, NATALI PG AND MAIO M (2003). Endoglin (CD105): a powerful therapeutic target on tumor-associated angiogenetic blood vessels. *Oncogene* **22**: 6557-6563.
- FONSATTI E, DEL VECCHIO L, ALTOMONTE M, SIGALOTTI L, NICOTRA MR, CORAL S, NATALI PG AND MAIO M (2001). Endoglin: An accessory component of the TGF-beta-binding receptor complex with diagnostic, prognostic, and bioimmunotherapeutic potential in human malignancies. *J Cell Physiol*, **188**: 1-7.
- FONSATTI E, JEKUNEN AP, KAIREMO KJ, CORAL S, SNELLMAN M, NICOTRA MR, NATALI PG, ALTOMONTE M AND MAIO M (2000): Endoglin is a suitable target for efficient imaging of solid tumors: in vivo evidence in a canine mammary carcinoma model. *Clin Cancer Res*, **6**: 2037-2043.

- FRANCESCONI R, HOU V, GRIVENNIKOV SI (2015). Cytokines IBD, and colitis-associated cancer. *Inflammatory Bowel Disease*, **21**: 409–418.
- FUJITA K, EWING CM, CHAN DYS, MANGOLD LA, PARTIN AW, ISAACS WB, PAVLOVICH CP (2009) Endoglin (CD105) as a Urinary and Serum Marker of Prostate Cancer *Int J Cancer*, **124(3)**: 664–669.
- Global Cancer Observatory (2018). Cancer Today. Erişim Adresi: <https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie>. Erişim Tarihi: 11/07/2019.
- GOEL A, NAGASAKA T, ARNOLD CN, INOUE T, HAMILTON C, NIEDZWIECKI D, COMPTON C, MAYER RJ, GOLDBERG R, BERTAGNOLLI MM, BOLAND CR (2007). The CPG island methylator phenotype and chromosomal instability are inversely correlated in sporadic colorectal cancer. *Gastroenterology*, **132**: 127–138.
- GONDA TA, TU S, WANG TC (2009). Chronic inflammation, the tumor microenvironment and carcinogenesis. *Cell Cycle*, **8**: 2005–2013.
- GOROVETZ M, BAEKELANDT M, BERNER A, TROPE CG, DAVIDSON B, REICH R (2006). The clinical role of phospholipase A2 isoforms in advanced-stage ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*, **103**: 831–840.
- GOUGOS A, LETARTE M (1988). Identification of a human endothelial cell antigen with monoclonal antibody 44G4 produced against a pre-B leukemic cell line. *J Immunol*, **141**: 1925–1933.
- GOUGOS A, LETARTE M (1990). Primary structure of endoglin, an RGD-containing glycoprotein of human endothelial cells. *J Biol Chem*, **265**: 8361–8364.
- GOUGOS A, ST JACQUES S, GREAVES A, O'CONNELL PJ, D'APICE AJ, BUHRING HJ, BERNABEU C, VAN MOURIK JA, LETARTE M (1992). Identification of distinct epitopes of endoglin, an RGDcontaining glycoprotein of endothelial cells, leukemic cells, and syncytiotrophoblasts. *Int Immunol*, **4**: 83–92.
- GOUMANS MJ, LIU Z AND TEN DIJKE P (2009). TGF-beta signaling in vascular biology and dysfunction. *Cell Res*, **19**: 116–127.
- GOVINDEN R AND BHOOLA KD (2003). Genealogy, expression, and cellular function of transforming growth factor-beta. *Pharmacol Ther*, **98**: 257–265.
- GRAFF JR, KONICEK BW, DEDDENS JA, CHEDID M, HURST BM, COLLIGAN B, NEUBAUER BL, CARTER HW, CARTER JH (2001). Expression of group IIa secretory phospholipase A2 increases with prostate tumor grade. *Clin Cancer Res*, **7**: 3857–3861.
- GRAULICH W, NETTELBECK DM, FISCHER D, KISSEL T, MULLER R (1999). Cell type specificity of the human endoglin promoter. *Gene*, **227**: 55–62.
- GRIFFIOEN AW, MOLEMA G (2000). Angiogenesis: potentials for pharmacologic intervention in the treatment of cancer, cardiovascular diseases, and chronic inflammation. *Pharmacol Rev*, **52**: 237–268.
- GRIVENNIKOV SI (2013). Inflammation and colorectal cancer: colitis-associated neoplasia. *Semin Immunopathol*, **35**: 229–244.

- GRIVENNIKOV SI, GRETEN FR, KARIN M (2010). Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*, **140(6)**: 883-899.
- GRIVENNIKOV SI, KARIN M (2010). Inflammation and oncogenesis: a vicious connection. *Curr Opin Genet Dev*, **20(1)**: 65-71.
- GUERRA C, SCHUHMACHER AJ, CAÑAMERO M, GRIPPO PJ, VERDAGUER L, PÉREZ-GALLEGO L, GUERRA C, SCHUHMACHER AJ, CANAMERO M, GRIPPO PJ, VERDAGUER L, PEREZ-GALLEGO L, DUBUS P, SANDGREN EP, BARBACID M (2007). Chronic pancreatitis is essential for induction of pancreatic ductal adenocarcinoma by K-Ras oncogenes in adult mice. *Cancer Cell*, **11**: 291-302.
- GUERRERO-ESTEO M, SANCHEZ-ELSNER T, LETAMENDIA A AND BERNABEU C (2002): Extracellular and cytoplasmic domains of endoglin interact with the transforming growth factor-beta receptors I and II. *J Biol Chem*, **277**: 29197-29209.
- HAGEMANN T, WILSON J, KULBE H, LI NF, LEINSTER DA, CHARLES K, , KLEMM F, PUKROP T, BINDER C, BALKWILL FR (2005). Macrophages induce invasiveness of epithelial cancer cells via NF-kappa B and JNK. *J Immunol*, **175**:1197-1205.
- HAKKIM A, FUCHS TA, MARTINEZ NE, HESS S, PRINZ H, ZYCHLINSKY A, WALDMANN H (2011). Activation of the Raf-MEK-ERK pathway is required for neutrophil extracellular trap formation. *Nat Chem Biol*, **7**: 75-77.
- HARRISON ML, OBERMUELLER E, MAISEY NR, HOARE S, EDMONDS K, LI NF, CHAO D, HALL K, LEE C, TIMOTHEADOU E, CHARLES K, AHERN R, KING DM, EISEN T, CORRINGHAM R, DEWITTE M, BALKWILL F, GORE M (2007). Tumor necrosis factor alpha as a new target for renal cell carcinoma: two sequential phase II trials of infliximab at standard and high dose. *J Clin Oncol*, **25**: 4542-4549.
- HATA A, SHI Y AND MASSAGUE J (1998). TGF-beta signaling and cancer: structural and functional consequences of mutations in Smads. *Mol Med Today*, **4**: 257-262.
- HE G, KARIN M (2011). NF-κB and STAT3 - key players in liver inflammation and cancer. *Cell Res*, **21**: 159-168.
- HENDERSON WR, JR, CHI EY, BOLLINGER JG, TIEN YT, YE X, CASTELLI L, RUBTSOV YP, SINGER AG, CHIANG GK, NEVALAINEN T, RUDENSKY AY, GELB MH (2007). Importance of group X-secreted phospholipase A2 in allergen-induced airway inflammation and remodeling in a mouse asthma model. *J Exp Med*, **204**: 865-877.
- HU SC, YU HS, YEN FL, LIN CL, CHEN GS, LAN CC (2016). Neutrophil extracellular trap formation is increased in psoriasis and induces human β-defensin-2 production in epidermal keratinocytes. *Sci Rep*, **6**: 31119.
- HUANG Y, SNUDERL M, JAIN RK (2011). Polarization of tumor-associated macrophages: a novel strategy for vascular normalization and antitumor immunity. *Cancer Cell*, **19**: 1-2.
- HUNG RJ, ULRICH CM, GOODE EL, BRHANE Y, MUIR K, CHAN AT, MARCHAND LL, SCHILDKRAUT J, WITTE JS, EELES R, BOFFETTA P, SPITZ MR, POIRIER JG, RIDER DN, FRIDLEY BL, CHEN Z, HAIMAN C, SCHUMACHER F, EASTON DF, LANDI MT, BRENNAN P, HOULSTON R, CHRISTIANI DC, FIELD JK, BICKEBÖLLER H, RISCH A, KOTE-JARAI Z, WIKLUND F, GRÖNBERG H, CHANOCK S, BERNDT SI, KRAFT P, LINDSTRÖM S, AL OLAMA AA, SONG H, PHELAN C, WENTZENSEN N, PETERS U,

- SLATTERY ML, (2015). Cross cancer genomic investigation of inflammation pathway for five common cancers: lung, ovary, prostate, breast, and colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst*, **107(11)**: djv246.
- HUSSAIN SP, HARRIS CC (2007). Inflammation and cancer: an ancient link with novel potentials. *Int J Cancer*, **121**: 2373–2380.
- IDRISS HT, NAISMITH JH (2000). TNF- $\alpha$  and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s). *Microscopy Research And Technique*, **50**: 184–195.
- JASPERSON KW, TUOHY TM, NEKLASON DW, BURT RW (2010). Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology*, **138**: 2044–2058.
- JERKIC M, RIVAS-ELENA JV, PRIETO M, CARRON R, SANZ-RODRIGUEZ F, PEREZ-BARRIOCANAL F, RODRIGUEZ-BARBERO A, BERNABEU C AND LOPEZ-NOVOA JM (2004). Endoglin regulates nitric oxide-dependent vasodilatation. *FASEB J*, **18**: 609-611.
- JERKIC M, RODRIGUEZ-BARBERO A, PRIETO M, TOPORSIAN M, PERICACHO M, RIVAS-ELENA JV, OBREO J, WANG A, PEREZBARRIOCANAL F, AREVALO M, BERNABEU C, LETARTE M, LOPEZNOVOA JM (2006). Reduced angiogenic responses in adult Endoglin heterozygous mice. *Cardiovasc Res*, **69**: 845-854.
- KAMP DW, SHACTER E, WEITZMAN SA (2011). Chronic inflammation and cancer: the role of the mitochondria. *Oncology (Williston Park)*, **25**: 400-413.
- KARIN M (2006). Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. *Nature*, **441**: 431-436.
- KELSEN D, DALY J, KERN S, LEVIN B, TEPPER J, VAN CUTSEM E (2008). Principles and Practice of Gastrointestinal Oncology. 2nd Editon. Lippincott Williams and Wilkins. p: 360-366.
- KHATAMI M (2014). Chronic inflammation: synergistic interactions of recruiting macrophages (TAMs) and eosinophils (Eos) with host mast cells (MCs) and tumorigenesis in CALTs. M-CSF, suitable biomarker for cancer diagnosis!. *Cancers (Basel)*, **6**: 297–322.
- KLINTRUP K, MAKINEN JM, KAUPPILA S, VARE PO, MELKKO J, TUOMINEN H, TUPPURAINEN K, MAKELA J, KARTTUNEN TJ, MAKINEN MJ (2005). Inflammation and prognosis in colorectal cancer. *Eur J Cancer*, **41**: 2645–2654.
- KOLEVA RI, CONLEY BA, ROMERO D, RILEY KS, MARTO JA, LUX A AND VARY CP (2006). Endoglin structure and function: Determinants of endoglin phosphorylation by transforming growth factor-beta receptors. *J Biol Chem*, **281**: 25110-25123.
- KULBE H, THOMPSON R, WILSON JL, ROBINSON S, HAGEMANN T, FATAH R, GOULD D, AYHAN A, BALKWILL F (2007). The inflammatory cytokine tumor necrosis factor-alpha generates an autocrine tumor-promoting network in epithelial ovarian cancer cells. *Cancer Res*, **67**: 585-592.
- KUMAR S, GHELLAL A, LI C, BYRNE G, HABOUBI N, WANG JM AND BUNDRED N (1999). Breast carcinoma: vascular density determined using CD105 antibody correlates with tumor prognosis. *Cancer Res*, **59**: 856-861.

- KUSMARTSEV S, ERUSLANOV E, KUBLER H, TSENG T, SAKAI Y, SU Z, KALIBEROV S, HEISER A, ROSSER C, DAHM P, SIEMANN D, VIEWEG J (2008). Oxidative stress regulates expression of VEGFR1 in myeloid cells: link to tumor-induced immune suppression in renal cell carcinoma. *J Immunol*, **181**: 346-353.
- LAMBEAU G, GELB MH (2008). Biochemistry and physiology of mammalian secreted phospholipases A2. *Annu Rev Biochem*, **77**: 495-520.
- LANGOWSKI JL, ZHANG X, WU L, MATTSON JD, CHEN T, SMITH K, BASHAM B, MCCLANAHAN T, KASTELEIN RA, OFT M (2006). IL-23 promotes tumour incidence and growth. *Nature*, **442**: 461-465.
- LARSSON SC, ORSINI N, WOLK A (2005). Diabetes mellitus and risk of colorectal cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*, **97**: 1679-1687.
- LASTRES P, BELLON T, CABANAS C, SANCHEZ-MADRID F, ACEVEDO A, GOUGOS A, LETARTE M AND BERNABEU C (1992). Regulated expression on human macrophages of endoglin, an Arg-Gly-Asp-containing surface antigen. *Eur J Immunol*, **22**: 393-397.
- LASTRES P, MARTIN-PEREZ J, LANGA C, BERNABEU C (1994). Phosphorylation of the human-transforming growth factor beta-binding protein endoglin. *Biochem J*, **301(Pt 3)**: 765-768.
- LAURA CIACCIA (2011). Fundamentals of Inflammation. *Yale J Biol Med*, **84(1)**: 64-65.
- LAYE JP, GILL JH (2003). Phospholipase A2 expression in tumours: a target for therapeutic intervention. *Drug Discov Today*, **8**: 710-716.
- LEBRIN F, GOUMANS MJ, JONKER L, CARVALHO RL, VALDIMARSDOTTIR G, THORIKAY M, MUMMERY C, ARTHUR HM, TEN DIJKE P (2004). Endoglin promotes endothelial cell proliferation and TGF-beta/ALK1 signal transduction. *EMBO J*, **23**: 4018-4028.
- LESLIE CC (1997). Properties and regulation of cytosolic phospholipase A2. *J Biol Chem*, **272**: 16709-16712.
- LEUNG SY, CHEN X, CHU KM, YUEN ST, MATHY J, JI J, CHAN AS, LI R, LAW S, TROYANSKAYA OG, TU IP, WONG J, SO S, BOTSTEIN D, BROWN PO (2002). Phospholipase A2 group IIA expression in gastric adenocarcinoma is associated with prolonged survival and less frequent metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, **99**: 16203-16208.
- LI C, GUO B, DING S, RIUS C, LANGA C, KUMAR P, BERNABEU C, KUMAR S (2003). TNF alpha down regulates CD105 expression in vascular endothelial cells: a comparative study with TGF beta 1. *Anticancer Res*, **23**: 1189-1196.
- LI C, GUO B, WILSON PB, STEWART A, BYRNE G, BUNDRED N, KUMAR S (2000a) Plasma levels of soluble CD105 correlate with metastasis in patients with breast cancer. *Int J Cancer*, **89**: 122-126.
- LI C, HAMPSON IN, HAMPSON L, KUMAR P, BERNABEU C, KUMAR S (2000b) CD105 antagonizes the inhibitory signaling of transforming growth factor beta1 on human vascular endothelial cells. *FASEB J*, **14**: 55-64.



- LI DY, SORENSEN LK, BROOKE BS, URNESS LD, DAVIS EC, TAYLOR DG, BOAK BB, WENDEL DP (1999). Defective angiogenesis in mice lacking endoglin. *Science*, **284**: 1534–1537.
- LI J, ZHANG YP, KIRSNER RS (2003). Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix. *Microsc Res Tech*, **60**: 107–114.
- LIANG J, NAGAHASHI M, KIM EY, HARIKUMAR KB, YAMADA A, HUANG WC, HAIT NC, ALLEGOOD JC, PRICE MM, AVNI D, TAKABE K, KORDULA T, MILSTIEN S, SPIEGEL S (2013). Sphingosine-1-phosphate links persistent STAT3 activation, chronic intestinal inflammation, and development of colitis-associated cancer. *Cancer Cell*, **23**: 107–120.
- LIM SC, CHO H, LEE TB, CHOI CH, MIN YD, KIM SS, KIM KJ (2010). Impacts of cytosolic phospholipase A2, 15-prostaglandin dehydrogenase, and cyclooxygenase-2 expressions on tumor progression in colorectal cancer. *Yonsei Med J*, **51**: 692–699.
- LIN WW, KARIN M (2007). A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest*, **117**: 1175–1183.
- LIU T, ZHANG L, JOO D, SUN SC (2017). NF- $\kappa$ B signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **2**: e17023.
- LOFTUS EV JR (2006). Epidemiology and risk factors for colorectal dysplasia and cancer in ulcerative colitis. *Gastroenterol Clin North Am*, **35**: 517–531.
- LOPEZ-NOVOA JM, BERNABEU C (2010). The physiological role of endoglin in the cardiovascular. *AJP Heart and Circulatory Physiology*, **299(4)**: H959-974.
- LUND AW, MEDLER TR, LEACHMAN SA, COUSSENS LM (2016). Lymphatic vessels, inflammation, and immunity in skin cancer. *Cancer Discov*, **6**: 22–35.
- LYNCH HT, DE LA CHAPELLE A (2003). Hereditary colorectal cancer. *N.Engl. J.Med.*, **348**: 919–932.
- MACPHEE M, CHEPENIK PK, LIDDEL AR, NELSON KK, SIRACUSA DL, BUCHBERG MA (1995). The secretory phospholipase A2 gene is a candidate for the mom1 locus, a major modifier of Apc<sup>min</sup>-induced intestinal neoplasia. *Cell*, **81**: 957–966.
- MAIER JA, DELIA D, THORPE PE, GASPARINI G (1997). In vitro inhibition of endothelial cell growth by the antiangiogenic drug AGM-1470 (TNP-470) and the anti-endoglin antibody TEC-11. *Anticancer Drugs*, **8**: 238-244.
- MALLAT Z, STEG PG, BENESSIANO J, TANGUY ML, FOX KA, COLLET JP, DABBOUS OH, HENRY P, CARRUTHERS KF, DAUPHIN A, ARGUELLES CS, MASLIAH J, HUGEL B, MONTALESCOT G, FREYSSINET JM, ASSELAIN B, TEDGUI A (2005). Circulating secretory phospholipase A2 activity predicts recurrent events in patients with severe acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*, **46**: 1249–1257.
- MANTOVANI A, ALLAVENA P, SICA A, BALKWILL F (2008). Cancer-related inflammation. *Nature*, **454**: 436-444.
- MANTOVANI A, GARLANDA C, ALLAVENA P (2010). Molecular pathways and targets in cancer-related inflammation. *Ann Med*, **42**: 161-170.

- MANTOVANI A, SCHIOPPA T, PORTA C, ALLAVENA P, SICA A (2006). Role of tumor-associated macrophages in tumor progression and invasion. *Cancer Metastasis Rev*, **25**: 315-322.
- MANTOVANI A, SOZZANI S, LOCATI M, ALLAVENA P, SICA A (2002). Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol*, **23**: 549-555.
- MARKOWITZ SD, BERTAGNOLLI MM (2009). Molecular Origins of cancer: molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med*, **361**: 2449–2460.
- MASIH-KHAN E, TRUDEL S, HEISE C, LI Z, PATERSON J, NADEEM V, WEI E, ROODMAN D, CLAUDIO JO, BERGSAGEL PL, STEWART AK (2006). MIP-1alpha (CCL3) is a downstream target of FGFR3 and RAS-MAPK signaling in multiple myeloma. *Blood*, **108**: 3465-3471.
- MASSAGUE J, WOTTON D (2000). Transcriptional control by the TGFbeta/Smad signaling system. *EMBO J*, **19**: 1745-1754.
- MASSAGUÉ J (2000). How cells read TGF-beta signals. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **1**(3): 169-178.
- MASUDA S, MURAKAMI M, MITSUISHI M, KOMIYAMA K, ISHIKAWA Y, ISHII T, KUDO I (2005). Expression of secretory phospholipase A2 enzymes in lungs of humans with pneumonia and their potential prostaglandin-synthetic function in human lung-derived cells. *Biochem J*, **387**: 27–38.
- MILLER DW, GRAULICH W, KARGES B, STAHL S, ERNST M, RAMASWAMY A, SEDLACEK HH, MULLER R AND ADAMKIEWICZ J (1999). Elevated expression of endoglin, a component of the TGF-beta receptor complex, correlates with proliferation of tumor endothelial cells. *Int J Cancer*, **81**: 568-572.
- MOORE RJ, OWENS DM, STAMP G, ARNOTT C, BURKE F, EAST N, HOLDSWORTH H, TURNER L, ROLLINS B, PASPARAKIS M, KOLLIAS G, BALKWILL F (1999). Mice deficient in tumor necrosis factor-alpha are resistant to skin carcinogenesis. *Nat Med*, **5**: 828-831.
- MUNN L (2017). Cancer and inflammation. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, **9**(2) .
- MURAKAMI M, MASUDA S, SHIMBARA S, ISHIKAWA Y, ISHII T, KUDO I (2005). Cellular distribution, post-translational modification, and tumorigenic potential of human group III secreted phospholipase A(2). *J Biol Chem*, **280**: 24987-24998.
- MURAKAMI M, TAKETOMI Y, SATO H, YAMAMOTO K (2011). Secreted phospholipase A2 revisited. *J Biochem*, **150**: 233–255.
- NAIK E, DIXIT VM (2011). Mitochondrial reactive oxygen species drive proinflammatory cytokine production. *J Exp Med*, **208**: 417-420.
- NALDINI A, FILIPPI I, MIGLIETTA D, MOSCHETTA M, GIAVAZZI R, CARRARO F (2010). Interleukin-1beta regulates the migratory potential of MDAMB231 breast cancer cells through the hypoxia-inducible factor-1alpha. *Eur J Cancer*, **46**: 3400-3408.
- National Cancer Institute (2015). Types of Cancer. Erişim Adresi: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>. Erişim Tarihi: 10/07/2019.

- NELSON WG, DE MARZO AM, DEWEESE TL ISAACS WB (2004). The role of inflammation in the pathogenesis of prostate cancer. *J Urol*, **172**: 6–11.
- OGUMA K, OSHIMA H, AOKI M, UCHIO R, NAKA K, NAKAMURA S, HIRAO A, SAYA H, TAKETO MM, OSHIMA M (2008). Activated macrophages promote Wnt signalling through tumour necrosis factor-alpha in gastric tumour cells. *EMBO J*, **27**: 1671-1681.
- PAAUWE M, TEN DIJKE P, HAWINKELS LJ (2013). Endoglin for tumor imaging and targeted cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets*, **17**: 421–435.
- PANCIONE M, REMO A, COLANTUONI V (2012). Genetic and epigenetic events generate multiple pathways in colorectal cancer progression. *Pathol Res Int*, **2012**: 509348.
- PANEL V, BOËLLE PY, AYALA-SANMARTIN J, JOUNIAUX AM, HAMELIN R, MASLIAH J, TRUGNAN G, FLÉJOU JF, WENDUM D (2006). Cytoplasmic phospholipase A2 expression in human colon adenocarcinoma is correlated with cyclooxygenase-2 expression and contributes to prostaglandin E2 production. *Cancer Lett*, **243**: 255–263.
- PEREZ-MORENO M, SONG W, PASOLLI HA, WILLIAMS SE, FUCHS E (2008). Loss of p120 catenin and links to mitotic alterations, inflammation, and skin cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, **105**: 15399–15404.
- PERKINS ND (2012) The diverse and complex roles of NF-kappaB subunits in cancer. *Nat Rev Cancer*, **12**: 121–132.
- PIKARSKY E, PORAT RM, STEIN I, ABRAMOVITCH R, AMIT S, KASEM S, GUTKOVICH-PYEST E, URIELI-SHOVAL S, GALUN E, BEN-NERIAH (2004). NF-kappaB functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer. *Nature*, **431**: 461-466.
- PINO MS, CHUNG DC (2010). The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology*, **138**: 2059–2072.
- PÖLD M, ZHU LX, SHARMA S, BURDICK MD, LIN Y, LEE PP, PÖLD A, LUO J, KRYSAN K, DOHADWALA M, MAO JT, BATRA RK, STRIETER RM, DUBINETT SM (2004). Cyclooxygenase-2-dependent expression of angiogenic CXC chemokines ENA-78/CXC Ligand (CXCL) 5 and interleukin-8/CXCL8 in human nonsmall cell lung cancer. *Cancer Res*, **64**: 1853–1860.
- POPIVANOVA BK, KITAMURA K, WU Y, KONDO T, KAGAYA T, KANEKO S, OSHIMA M, FUJII C, MUKAIDA N (2008). Blocking TNF-alpha in mice reduces colorectal carcinogenesis associated with chronic colitis. *J Clin Invest*, **118**: 560-570.
- PRASAD S, RAVINDRAN J, AGGARWAL BB (2010). NF-kappaB and cancer: how intimate is this relationship. *Mol Cell Biochem*, **336**: 25–37.
- QU R, SILVER MM, LETARTE M (1998). Distribution of endoglin in early human development reveals high levels on endocardial cushion tissue mesenchyme during valve formation. *Cell Tissue Res*, **292**: 333-343.
- RAY BN, LEE NY, HOW T, BLOBE GC (2010). ALK5 phosphorylation of the endoglin cytoplasmic domain regulates Smad1/5/8 signaling and endothelial cell migration. *Carcinogenesis*, **31**: 435-441.

- ROBINSON-SMITH TM, ISAACSOHN I, MERCER CA, ZHOU M, VAN ROOIJEN N, HUSSEINZADEH N, MCFARLAND-MANCINI MM, DREW AF (2007). Macrophages mediate inflammation-enhanced metastasis of ovarian tumors in mice. *Cancer Res*, **67**: 5708-5716.
- ROKHLIN OW, COHEN MB, KUBAGAWA H, LETARTE M, COOPER MD (1995). Differential expression of endoglin on fetal and adult hematopoietic cells in human bone marrow. *J Immunol*, **154**: 4456-4465.
- ROSENBLATT KA, WICKLUND KG, STANFORD JL (2001). Sexual factors and the risk of prostate cancer. *Am J Epidemiol*, **153**: 1152–1158.
- ROTHMAN I, STANFORD JL, KUNIYUKI A, BERGER RE (2004). Self-report of prostatitis and its risk factors in a random sample of middle-aged men. *Urology*, **64**: 876-879.
- ROUAULT M, BOLLINGER JG, LAZDUNSKI M, GELB MH, LAMBEAU G (2003). Novel mammalian group XII secreted phospholipase A2 lacking enzymatic activity. *Biochemistry*, **42**: 11494–11503.
- RUSSELL JP, SHINOHARA S, MELILLO RM, CASTELLONE MD, SANTORO M, ROTHSTEIN JL (2003). Tyrosine kinase oncoprotein, RET/PTC3, induces the secretion of myeloid growth and chemotactic factors. *Oncogene*, **22**: 4569-4577.
- RUSTGI AK (2007). The genetics of hereditary colon cancer (Review). *Genes Dev*, **21**: 2525–2538.
- SAKURAI T, HE G, MATSUZAWA A, YU GY, MAEDA S, HARDIMAN G, KARIN M (2008). Hepatocyte necrosis induced by oxidative stress and IL-1 alpha release mediate carcinogen-induced compensatory proliferation and liver tumorigenesis. *Cancer Cell*, **14**: 156-165.
- SANCHEZ-ELSNER T, BOTELLA LM, VELASCO B, LANGA C AND BERNABEU C (2002). Endoglin expression is regulated by transcriptional cooperation between the hypoxia and transforming growth factor-beta pathways. *J Biol Chem*, **277**: 43799-43808.
- SCHENK BI, PETERSEN F, FLAD HD, BRANDT E (2002). Platelet-derived chemokines CXC chemokine ligand (CXCL) 7, connective tissue-activating peptide III, and CXCL4 differentially affect and cross-regulate neutrophil adhesion and transendothelial migration. *J Immunol*, **169**: 2602–2610.
- SCHMIERER B, HILL CS (2007). TGFbeta-smad signal transduction: molecular specificity and functional flexibility. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **8(12)**: 970-982.
- SCHREUDERS EH, RUCO A, RABENECK L, SCHOEN RE, SUNG JJ, YOUNG GP, KUIPERS EJ (2015). Colorectal cancer screening: a global overview of existing programmes. *Gut*, **64**: 1637-1649.
- SHAN Q, DWYER M, RAHMAN S, GADJEVA M (2014). Distinct susceptibilities of corneal *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates to neutrophil extracellular trap-mediated immunity. *Infect Immun*, **82**: 4135–4143.
- SHE X, MATSUNO F, HARADA N, TSAI H, SEON BK (2004). Synergy between anti-endoglin (CD105) monoclonal antibodies and TGF-beta in suppression of growth of human endo-thelial cells. *Int J Cancer*, **108(2)**: 251–257.

- SICA A, ALLAVENA P, MANTOVANI A (2008). Cancer related inflammation: the macrophage connection. *Cancer Lett*, **267**: 204–215.
- SICA A, SCHIOPPA T, MANTOVANI A, ALLAVENA A (2006). Tumour-associated macrophages are a distinct M2 polarised population promoting tumour progression: potential targets of anti-cancer therapy. *Eur J Cancer*, **42**: 717-727.
- SIDERIS M, PAPAGRIGORIADIS S (2014). Molecular biomarkers and classification models in the evaluation of the prognosis of colorectal cancer (Review). *Anticancer Res*, **34**: 2061–2068.
- SIEGEL RL, MILLER K, JEMAL A (2015). Cancer Statistics. *CA Cancer J Clin*, **65**: 5-29.
- SMITH MW, YUE ZN, GEISS GK, SADOVNIKOVA NY, CARTER VS, BOIX L, LAZARO CA, ROSENBERG GB, BUMGARNER RE, FAUSTO N, BRUIX J, KATZE MG (2003). Identification of novel tumor markers in hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*, **63**: 859–864.
- SOUCEK L, LAWLOR ER, SOTO D, SHCHORS K, SWIGART LB, EVAN GI (2007). Mast cells are required for angiogenesis and macroscopic expansion of Myc-induced pancreatic islet tumors. *Nat Med*, **13**: 1211-1218.
- SPITZ MR, GORLOV IP, AMOS CI, DONG Q, CHEN W, ETZEL CJ, GORLOVA OY, CHANG DW, PU X, ZHANG D, WANG L, CUNNINGHAM JM, YANG P, WU X (2011). Variants in inflammation genes are implicated in risk of lung cancer in never smokers exposed to second-hand smoke. *Cancer Discov*, **1**: 420–429.
- STEARMAN RS, DWYER-NIELD L, GRADY MC, MALKINSON AM, GERACI MW (2008). A macrophage gene expression signature defines a field effect in the lung tumor microenvironment. *Cancer Res*, **68**: 34-43.
- STOFFEL EM, KASTRINOS F (2014). Familial colorectal cancer, beyond lynch syndrome. *Clin. Gastroenterol. Hepatol*, **12**: 1059–1068.
- STRATTON MS, ALBERTS DS (2002). Current application of selective COX-2 inhibitors in cancer prevention and treatment. *Oncology (Williston Park)*, **16(5 Suppl 4)**: 37-51.
- SUMIMOTO H, IMABAYASHI F, IWATA T, KAWAKAMI Y (2006). The BRAF-MAPK signaling pathway is essential for cancer-immune evasion in human melanoma cells. *J Exp Med*, **203**: 1651-1656.
- SVED P, SCOTT KF, MCLEOD D, KING NJ, SINGH J, TSATRALIS T, NIKOLOV B, BOULAS J, NALLAN L, GELB MH, SAJINOVIC M, GRAHAM GG, RUSSELL PJ, DONG Q (2004). Oncogenic action of secreted phospholipase A2 in prostate cancer. *Cancer Res*, **64**: 6934–6940.
- TAKASE Y, KAI K, MASUDA M, AKASHI M, TOKUNAGA O (2010). Endoglin (CD105) expression and angiogenesis status in small cell lung cancer. *Pathol Res Pract*, **206**: 725-730.
- TAMAROZZI F, TURNER JD, PIONNIER N, MIDGLEY A, GUIMARAES AF, JOHNSTON KL, EDWARDS SW, TAYLOR MJ (2016). Wolbachia endosymbionts induce neutrophil extracellular trap formation in human onchocerciasis. *Sci Rep*, **6**: 35559.
- TENESA A, DUNLOP MG (2009). New insights into the aetiology of colorectal cancer from genome-wide association studies. *Nat Rev Genet*, **10(6)**: 353-358.


- Tracon Pharma (2016). Endoglin: Essential non-VEGF angiogenic target. Erişim Adresi: <http://blogs.shu.edu/cancer/files/2016/05/Endoglin-staining.png>. Erişim Tarihi: 21/07/2019.
- TSOI KK, PAU CY, WU WK, CHAN FK, GRIFFITHS S, SUNG JJ (2009). Cigarette smoking and the risk of colorectal cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*, **(6)**: 682-688.
- UMARA, BOLAND CR, TERDIMAN JP, SYNGAL S, DE LA CHAPELLE A, RUSCHOFF J, FISHEL R, LINDOR NM, BURGART LJ, HAMELIN, R (2004). Revised Bethesda guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (lynch syndrome) and microsatellite instability. *J.Natl. CancerInst*, **96**: 261–268.
- VANNUCCI L, STEPANKOVA R, GROBAROVA V, KOZAKOVA H, ROSSMANN P, KLIMESOVA K, BENSON V, SIMA P, FISEROVA A, TLASKALOVA-HOGENOVA H (2009). Colorectal carcinoma: Importance of colonic environment for anti-cancer response and systemic immunity. *J Immunotoxicol*, **6**: 217-226.
- VOGELSTEIN B, FEARON ER, HAMILTON SR, KERN SE, PREISINGER AC, LEPPERT M, NAKAMURA Y, WHITE R, SMITS AM, BOS JL (1988). Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med*, **319**: 525–532.
- VORONOV E, SHOUVAL DS, KRELIN Y, CAGNANO E, BENHARROCH D, IWAKURA Y, DINARELLO CA, APTE RN (2003). IL-1 is required for tumor invasiveness and angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, **100**: 2645-2650.
- WANG D, WANG H, BROWN J, DAIKOKU T, NING W, SHI Q, RICHMOND A, STRIETER R, DEY SK, DUBOIS RN (2006). CXCL1 induced by prostaglandin E2 promotes angiogenesis in colorectal cancer. *J Exp Med*, **203**: 941-951.
- WANG JM, KUMAR S, PYE D, HABOUBI N AND AL-NAKIB L (1994): Breast carcinoma: comparative study of tumor vasculature using two endothelial cell markers. *J Natl Cancer Inst*, **86**: 386-388.
- WANG JM, KUMAR S, PYE D, VAN AGTHOVEN AJ, KRUPINSKI J AND HUNTER RD (1993). A monoclonal antibody detects heterogeneity in vascular endothelium of tumours and normal tissues. *Int J Cancer*, **54**: 363-370.
- WANG K, KARIN M (2015). Tumor-elicited inflammation and colorectal cancer. *Adv Cancer*, **128**: 173–196.
- WANG TC, GOLDENRING JR (2002). Inflammation intersection: gp130 balances gut irritation and stomach cancer. *Nat Med*, **8**: 1080–1082.
- WEINBERG F, HAMANAKA R, WHEATON WW, WEINBERG S, JOSEPH J, LOPEZ M, KALYANARAMAN B, MUTLU GM, BUDINGER GR, CHANDEL NS (2010). Mitochondrial metabolism and ROS generation are essential for Kras-mediated tumorigenicity. *Proc Natl Acad Sci USA*, **107**: 8788-8793.
- WESTBROOK AM, SZAKMARY A, SCHIESTL RH (2010). Mechanisms of intestinal inflammation and development of associated cancers: lessons learned from mouse models. *Mutat Res*, **705**: 40–59.

- WIKSTROM P, LISSBRANT IF, STATTIN P, EGEVAD L, BERGH A (2002): Endoglin (CD105) is expressed on immature blood vessels and is a marker for survival in prostate cancer. *Prostate*, **51**: 268-275.
- WILLIAMS CS, MANN M, DUBOIS RN (1999). The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. *Oncogene*, **18**: 7908–7916.
- WOJDASIEWICZ P, PONIATOWSKI LA, SZUKIEWICZ D (2014). The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediators Inflamm*, **2014**: 561459.
- WONG SH, HAMEL L, CHEVALIER S AND PHILIP A (2000): Endoglin expression on human microvascular endothelial cells association with betaglycan and formation of higher order complexes with TGF-beta signalling receptors. *Eur J Biochem*, **267**: 5550-5560.
- WOOTTON PT, ARORA NL, DRENOS F, THOMPSON SR, COOPER JA, STEPHENS JW, HUREL SJ, HURT-CAMEJO E, WIKLUND O, HUMPHRIES SE, TALMUD PJ (2007). Tagging SNP haplotype analysis of the secretory PLA2-V gene, PLA2G5, shows strong association with LDL and oxLDL levels, suggesting functional distinction from sPLA<sub>2</sub>-IIA: results from the UDACS study. *Hum Mol Genet*, **16**: 1437–1444.
- WYCKOFF JB, WANG Y, LIN EY, LI JF, GOSWAMI S, STANLEY ER, SEGALL JE, POLLARD JW, CONDEELIS J (2007). Direct visualization of macrophage-assisted tumor cell intravasation in mammary tumors. *Cancer Res*, **67**: 2649-2656.
- XIAO G, FU J (2011). NF-kappaB and cancer: a paradigm of Yin-Yang. *Am J Cancer Res* **1**: 192–221.
- YANARU-FUJISAWA R, MATSUMOTO T, KUKITA Y, NAKAMURA S, YAO T, HAYASHI K, IIDA M (2007). Impact of phospholipase A2 group IIa gene polymorphism on phenotypic features of patients with familial adenomatous polyposis. *Dis Colon Rectum*, **50**: 223–231.
- YANG J, PENG JY, CHEN W (2011). Synchronous Colorectal Cancers: A Review of Clinical Features, Diagnosis, Treatment, and Prognosis. *Digestive Surgery* **28**: 379-385.
- YAO H, RAHMAN I (2009). Current concepts on the role of inflammation in COPD and lung cancer. *Curr Opin Pharmacol*, **9**: 375-383.
- YOO YS, LIM SC, KIM KY (2011). Prognostic significance of cytosolic phospholipase A2 expression in patients with colorectal cancer. *J Korean Surg Soc*, **80**: 397-403.
- YU H, PARDOLL D, JOVE R (2009). STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. *Nat Rev Cancer*, **9**: 798-809.
- ZHANG J, CHEN L, XIAO M, WANG C, QIN Z (2011). FSP1+ fibroblasts promote skin carcinogenesis by maintaining MCP-1-mediated macrophage infiltration and chronic inflammation. *Am J Pathol*, **178**: 382–390.
- ZHENG D, BODE AM, ZHAO Q, CHO YY, ZHU F, MA WY, DONG Z (2008). The cannabinoid receptors are required for ultraviolet-induced inflammation and skin cancer development. *Cancer Res*, **68**: 3992–3998.
- ZHOU R, YAZDI AS, MENU P, TSCHOPP J (2011). A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature*, **469**: 221-225.

## EKLER

### Ek-1 Etik Raporu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU					
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Kolonrektal Kansere Hastalarında Endoglin Düzeyi ile Enflamatuvar Mikroçevre İlişkisinin Araştırılması			
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU					
ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu			
	AÇIK ADRESİ:	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası 06100 Sıhhiye/ANKARA			
	TELEFON	0312 595 82 27			
	FAKS	0312 310 63 70			
	E-POSTA	etik@medicine.ankara.edu.tr			
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd.Doç.Dr.Filiz BAKAR ATEŞ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma	<input type="checkbox"/>				
Diger ise belirtiniz:	Laboratuvar Araştırması				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ	<input checked="" type="checkbox"/>	COK MERKEZLI	<input type="checkbox"/>	
	ULUSAL	<input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI	<input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Mehmet MELLİ  
İmza: 

Aslı BOZER ÇİFTÇİ  
AÜ.T.F. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu  
Aslı Çiftçi

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmaktadır.



KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kolorektal Kanseri Hastalarında Endoglin Düzeyi ile Enflamatuvar Mikroçevre İlişkisinin Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası 06100 Sıhhiye/ANKARA
	TELEFON	0312 595 82 27
	FAKS	0312 310 63 70
	E-POSTA	etik@medicine.ankara.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd.Doç.Dr.Filiz BAKAR ATEŞ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input type="checkbox"/>			
DİĞER İSE BELİRTİNİZ:	Laboratuvar Araştırması				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ	<input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ	<input type="checkbox"/>	
	ULUSAL	<input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI	<input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Mehmet MELLİ  
İmza:

Aslı BOZER ÇİFTÇİ  
A.Ü.T.F. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu  
Aslı Çiftçi

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kolorektal Kanser Hastalarında Endoglin Düzeyi ile Enflamatuvar Mikroçevre İlişkinin Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ				Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU				Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU				Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ				Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Açıklama		
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>			
	BIYOLOJİK MATERİYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>			
	İLAN	<input type="checkbox"/>			
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>			
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>			
DİĞER:	<input type="checkbox"/>				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:04-225-18	Tarih:26 Subat 2018			
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmacının/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmacının/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.				

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI/ADI / SOYADI:	Prof.Dr.Mehmet MELLİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr. Mehmet MELLİ	Farmakoloji	A.Ü.Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. İrfan SOYKAN	Gastroenteroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Serdar ÖZTÜRK	Tıbbi Biyokimya	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Levent YAZICIOĞLU	Kalp ve Damar Cerrahisi	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Şule ŞENGÜL	Nefroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. İnci İLHAN	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Serap SIVRI	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	H.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Zarife ŞENOCAK	Hukuk	A.Ü Hukuk Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Banu ÇAKIR	Halk Sağlığı	H.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr. Derya GÖKMEN	Biyoistatistik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr. Selami Koçak TOPRAK	Hematoloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Nuket KUTLAY	Tıbbi Genetik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Ali Doğan DURSUN	Fizyoloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Önder İLGİLİ	Tıp Tarihi ve Etik	H.Ü.Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
İffet BERKTAS	Matematik Mühendisliği	Türkiye Kömür İşletmeleri Genel Müdürlüğü	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr.Mehmet MELLİ  
İmza:

**Aslı BOZER ÇİFTÇİ**  
A.Ü.T.F. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu  
Aslı Gibidir

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

## ÖZGEÇMİŞ

### I- Bireysel Bilgiler

Adı	Gizem
Soyadı	Özşener
Doğum Yeri ve Tarihi	Ankara, 03/09/1987
Uyruğu	T.C.
Medeni Durumu	Bekar
İletişim Adresi	g_ozsene@yahoo.com.tr
Cep Telefonu	0 530 047 03 09

### II- Eğitimi

2011–..... Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Disiplinlerarası  
Klinik Eczacılık Bilim Dalı (Yüksek Lisans)

2005–2010 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (Lisans) (2,96/4)

2001–2004 Ankara Atatürk Anadolu Lisesi (4,69 / 5,00)

### III- Ünvanları

Eczacı

### IV-Mesleki Deneyimi

2019 –.....	Gen İlaç ve Sağlık Ürünleri A.Ş. (SMA Birimi / Bilim Servis Uzmanı)
05.2013 – 06.2019	Acıbadem Sağlık Grubu Aldığı görev: Sorumlu Eczacı
08.2012 – 05.2013	Acıbadem Sağlık Grubu Aldığı görev: Eczacı
06.2010 - 12.2011	Özşener Eczanesi Aldığı görev: Yardımcı Eczacı

### V-Bilimsel Etkinlikleri

08.03.2018	Yüksek Lisans Seminer Sunumu Endoglin (CD105): Yapısı ve Tümör Gelişimindeki Roller
------------	---

## **Sözlü Bildiriler**

Gizem Özşener, Sevgi Şar. Türkiye’de ve Avrupa Birliği Üyelerinde Eczacılık Eğitimi. TEB 10. Türkiye Eczacılık Kongresi. 30.09.2010 – 03.10.2010, Ankara, Türkiye.

