

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**KOLOREKTAL KANSERLİ HASTALARDA SİKLİN BAĞIMLI
KİNAZ İNHİBİTÖR AİLESİNDEN CDKN1A VE CDKN1B GEN
POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ**

CANAN CACINA

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. İLHAN YAYLIM ERALTAN**

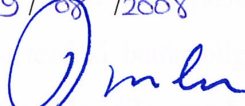
**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI / MOLEKÜLER
TIP PROGRAMI**

İSTANBUL-2008

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

19 / 08 / 2008


 Prof. Dr. Emine Kökoğlu
 Enstitü Müdürü


Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
 Program Adı : MOLEKÜLER TIP
 Programın seviyesi : Yüksek Lisans Doktora
 Anabilim Dalı : MOLEKÜLER TIP
 Tez Sahibi : CANAN CACINA
 Tez Başlığı : KOLOREKTAL KANSERLİ HASTALARDA SIKLİN BAĞIMLI
 KİNAZ İNHİBİTÖR AİLESİNDEN CDKN1A VE CDKN1B GEN
 POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ
 Sınav Yeri : MOLEKÜLER TIP
 Sınav Tarihi : 18 / 08 / 2008


Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1. Prof. Dr. Turgay İsbir, (İ.Ü. DETAE Moleküler Tıp AD) 

2. Prof. Dr. Nesrin Emekli, (M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Biyokimya AD) 

3. Prof. Dr. Makbule Aydın (İ.Ü. DETAE Sinir Bilim AD) 

4. Doç. Dr. İlhan Yaylım Eraltan (İ.Ü. DETAE Moleküler Tıp AD) 

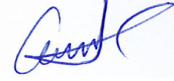
5. Doç. Dr. Fatma Oğuz (İ.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD) 

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Canan Cacına

(İmza)



İTHAF

Bu tezi, kanseri yaşıyan ve onunla mücadele eden tüm insanlara özellikle çocuklara bütün kalbimle iyileşmelerini dileyerek ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince deneysel çalışmalarımı yapabilmem için gerekli olan tüm laboratuvar olanaklarının ve tezim için gerekli hasta örneklerinin toplanmasındaki katkılarından dolayı, bilimsel kimlikleri kadar insani vasıflarında ödüllendirilmeye layık olan, bize güzel bir çalışma ortamı hazırlayan ve her konuda yardımcı olan başta çok değerli hocam İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü(DETAE)Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Turgay İsbir'e,

Yüksek lisans eğitimim süresince danışmanlığımı üstlenen ve benden desteğini iyi niyetini hiçbir zaman esirgemeyen çok kıymetli hocam İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. İlhan Yaylım Eraltan ve tüm Moleküler Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve çalışanlarına,

Tezim için gerekli hastaların seçimi, örneklerin sağlanması ile klinik değerlendirmelerindeki destek ve katkılarından dolayı Doç. Dr. Soykan Arıkan ve Doç. Dr. Esra Kaytan Sağlam'a,

Attığım her adımda bana destek ve yardımcı olan, varlıklarıyla hayatıma en değerli anlamları katan, beni hep mutlu eden başta canım annem ve canım babam olmak üzere tüm aileme yürekten teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:1746

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	Vİ
TABLolar LİSTESİ	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	Xİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. KOLOREKTAL KANSER RİSK FAKTÖRLERİ	3
2.1.1. Yaş	3
2.1.2. Kalıtsal Faktörler	3
2.1.3. Ailede Kolorektal Kanser Hikayesi	4
2.1.4. Bireysel Polip veya Kolorektal Kanser Hikayesi	4
2.1.5. İnflamasyon.....	4
2.1.6. Diyet:	4
2.1.7. İrk:.....	4
2.1.8 Fiziksel Aktivite:	5
2.1.9. Obezite:	5
2.1.10. Sigara:	5
2.1.11. Aşırı Alkol Tüketimi:.....	5
2.2. HÜCRE DÖNGÜSÜ VE KANSER.....	9
2.3. HÜCRE DÖNGÜSÜNÜN DÜZENLENMESİ	10
2.4. CDKN1A (p21)	16
2.5. CDKN1B (p27)	18
2.5.1. CDKN1B VE HÜCRE ADEZYONU	19
2.5.2. İNSAN KANSERLERİNDE p27 PROTEOLİZ AKTİVASYONU	19

2.6. CDKN1A ve CDKN1B GEN POLİMORFİZMLERİ.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. SEÇİLEN ÖRNEKLERİN TANIMI.....	21
3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER	21
3.3. KULLANILAN GEREÇLER	22
3.4. ÇÖZELTİLER.....	22
3.4.1. DNA İZOLASYONUNDA KULLANILAN ÇÖZELTİLER	22
3.4.1.1. Eritrosit Parçalama Tamponu (Lysis Buffer).....	22
3.4.1.2. 0.5 M Disodyumetilendiaminteraasetat (EDTA) (pH 8.0).....	22
3.4.1.3. 4 M Sodyum Klorür (NaCl)	23
3.4.1.4. Lökositleri Parçalama Tamponu (White Blood Cell Buffer-WBL)	23
3.4.1.5.1 M Tris Tamponu (Stok)	23
3.4.1.6. 9.5 M Amonyum Asetat.....	23
3.4.1.7. %10'luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS).....	23
3.4.1.8. Proteinaz K (20 mg/ml).....	24
3.4.2. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİNDE KULLANILAN ÇÖZELTİLER.....	24
3.4.2.1. Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5X).....	24
3.4.2.2. Etidyum Bromür (10 mg/ml).....	24
3.4.2.3. 5X Tris-Borik Asit-Etilendiamintetraasetat (TBE)	24
3.5. KULLANILAN YÖNTEMLER	25
3.5.1. PERİFERİK KANDAN DNA İZOLASYONU	25
3.5.1.1. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini	25
3.5.2. CDKN1A GEN POLİMORFİZMLERİNİN TESPİT EDİLMESİ	26
3.5.2.1. CDKN1A Ser31Arg (C>A) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Primer Dizileri	26
3.5.2.2. CDKN1A C+20T Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Primer Dizileri.....	26
3.5.3. CDKN1B GEN POLİMORFİZMLERİNİN TESPİT EDİLMESİ.....	27
3.5.3.1. CDKN1B C-79T Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Primer Dizileri.....	27
3.5.3.2. CDKN1B Val109Gly (T>G) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Primer Dizileri.....	27
3.5.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction-PCR)'da Kullanılan Kimyasal Maddeler ve PCR'ın Hazırlanışı	27
3.5.4.1. PCR Karışımının Hazırlanışı.....	28

3.5.5. PCR Şartları.....	29
3.5.6. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİNDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE GEREÇLER.....	30
3.5.6.1. PCR Ürünlerinin %2'lik Jele Yüklenmesi:.....	30
3.5.6.2. PCR Ürünlerinin Kontrolü:	31
3.5.7. CDKN1A GEN POLİMORFİZMLERİNDE ENZİM KESİMİ	31
3.5.7.1. CDKN1A (Ser31Arg (C>A) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler.....	31
3.5.7.2. CDKN1A C+20T Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler	32
3.5.7.3. CDKN1B C-79T Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler	33
3.5.7.4. CDKN1B Val109Gly (T>G) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler.....	34
3.5.8. CDKN1A Ser31Arg,C+20T ve CDKN1B C-79T, Val109Gly Gen Polimorfizmlerinin Değerlendirilmesi ve Kontrolü	34
3.5.8.1. CDKN1A Ser31Arg Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi	35
3.5.8.2. CDKN1A C+20T Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi	36
3.5.8.3. CDKN1B C-79TGen Polimorfizminin Değerlendirilmesi	37
3.5.8.4. CDKN1B Val109Gly (T>G) Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi	38
4. BULGULAR.....	39
4.1. PCR ÜRÜNLERİNİN KONTROLÜNE AİT BULGULAR.....	39
4.1.1. CDKN1A (Ser31Arg) ve C+20T Pcr Ürünlerine Ait Bulgular.....	39
4.1.2. CDKN1B C-79T, Val109Gly Pcr Ürünlerine Ait Bulgular.....	40
4.2. KESİM ÜRÜNLERİNİN KONTROLÜNE AİT BULGULAR	41
4.2.1. CDKN1A (Ser31Arg) ve C+20T Kesim Ürünlerine Ait Bulgular.....	41
4.2.2. CDKN1B C-79T, Val109Gly Kesim Ürünlerine Ait Bulgular.....	42
4.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONRASINDA ELDE EDİLEN BULGULAR.....	44
KONTROL	45
5. TARTIŞMA	64
KAYNAKLAR	73
HAM VERİLER.....	86
FORMLAR	103

ETİK KURUL KARARI.....	104
PATENT HAKKI İZİNİ.....	105
TELİF HAKKI İZİNİ.....	106
ÖZGEÇMİŞ.....	107

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: Prognostik önem taşıyan moleküler belirteçler

Tablo 3-1: PCR karışımının hazırlanması

Tablo 3-2 : Ser31Arg (C>A) ve C+20T Gen Polimorfizmleri PCR Koşulları

Tablo 3-3 : C-79T ve Val109Gly (T>G) Gen Polimorfizmleri PCR Koşulları

Tablo 3-4 : CDKN1A (Ser31Arg (C>A) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

Tablo 3-5 : CDKN1A C+20T Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

Tablo 3-6 : CDKN1B C-79T Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

Tablo 3-7 : CDKN1B Val109Gly (T>G) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

Tablo 4-1: Çalışma Gruplarına Ait Bilgiler

Tablo 4-2: CDKN1A Ser31Arg ve C+20T Gen Polimorfizmleri Genotip ve Allel Dağılımı

Tablo 4-3: CDKN1B C-79T ve Val109Gly Gen Polimorfizmleri Genotip ve Allel Dağılımı

Tablo 4-4 : CDKN1A(Ser31Arg ,C+20T) ve CDKN1B (C-79T ,Val109Gly) Varyant Allel Taşıma Kombinasyonu

Tablo 4-5: CDKN1A (C+20T) Allel Dağılımları İle Hastaların Klinik, Prognostik Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Tablo 4-6: CDKN1A (Ser/Arg) Allel Dağılımları İle Hastaların Klinik, Prognostik Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Tablo 4- 7: CDKN1B (Val109Gly) Allel Dağılımları İle Hastaların Klinik, Prognostik Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Tablo 4-8: CDKN1B (C-79T) Allel Dağılımları ile Hastaların Klinik ,Prognostik Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Tablo 4-9: CDKN1A (C+20T,Ser/Arg) CDKN1B (Val109Gly,C-79T) Genotip Kombinasyonu

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1:Normal Epitel Dokudan Karsinomaya Dönüşüm

Şekil 2.2:Hücre Döngüsü Fazları

Şekil 2.3: Hücre Döngüsünde Siklin Bağımlı Kinaz ve Siklin Kompleksleri

Şekil 2.4: Siklin Bağımlı Kinazların Fosforilasyon Durumları

Şekil 2-5: Retinoblastoma Proteini ve E2F Faktörü

Şekil 2-6:G1'den S Fazına Geçişteki Düzenleyici Moleküler Mekanizmalar

Şekil 2-7: CDKN1A (p21) Gen, mRNA, Protein

Şekil 3-1 : CDKN1A Ser31Arg Gen Polimorfiziminin Şematik Jel Görüntüsü

Şekil 3-2: CDKN1A C+20T Gen Polimorfiziminin Şematik Jel Görüntüsü

Şekil 3-3 : CDKN1B C-79T Gen Polimorfizimi Şematik Jel Görüntüsü

Şekil 3-4 : CDKN1B Val109Gly Gen Polimorfizimi Şematik Jel Görüntüsü

Şekil 4-1: CDKN1A (Ser31Arg)PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü

Şekil:4-2: CDKN1A (C+20T) PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü

Şekil 4-3: CDKN1B (C-79T) PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü

Şekil 4-4: CDKN1B (Val109Gly) PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü

Şekil 4-5: CDKN1A (Ser31Arg) Kesim Ürünlerine Ait Bulgular

Şekil 4-6: CDKN1A (C+20T) Kesim Ürünlerine Ait Bulgular

Şekil 4-7: CDKN1B (C-79T) Kesim Ürünlerine Ait Bulgular

Şekil 4-8: CDKN1B (Val109Gly) Kesim Ürünlerine Ait Bulgular

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

CDKI: Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitör

CDK: Siklin Bağımlı Kinaz

PCNA: Prolifere hücre nükleer antijeni

OR: Risk katsayısı

CI: Güvenilirlik aralığı

3'UTR: 3'kodlanmayan bölge

5'UTR:5' kodlanmayan bölge

Rb: Retinoblastoma

APC: Adenomatöz

FAP: Ailesel adenomatöz polip (FAP)

HNPCC: Kalıtsal polipoz olmayan kolon kanseri

HPCC: Kalıtsal polipoz kolorektal kanserler (HPCC);

TGF : Tümör Büyüme Faktörü

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ÖZET

Cacina C. Kolorektal Kanserli Hastalarda Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitör Ailesinden CDKN1A ve CDKN1B Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Yüksek Lisans/ İstanbul. 2008.

Kolorektal kanser gelişen ülkelerde görülen önemli bir sağlık sorunudur. Kolorektal kanserlerin çoğu sporadik olup, genetik ve çevresel faktörler büyük önem taşımaktadır. Siklin bağımlı kinaz ailesi siklin proteinleri ile hücre çoğalması sırasında aktivite gösteren bir grup protein ailesidir. Fakat siklin bağımlı kinaz ailesinin bu rolü siklin bağımlı kinaz inhibitörleri olarak adlandırılan (CDKI) tarafından inhibe edilmekte ve hücre döngüsünün ilerleyişi engellenmektedir. p21Cip1 (CDKN1A) ve p27Kip1 (CDKN1B) Cip/Kip ailesine ait CDK inhibitörleridir. Çalışmamızda CDKN1A Ser/Arg, C+20T, CDKN1B C-79T, Val109Gly polimorfizmleri sporadik kolorektal kanserlerde tümör risk ve prognostik faktörü olarak incelenmiştir. Çalışmaya 50 kolorektal kanserli hasta ve 60 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. CDKN1A Ser31Arg genotiplerinin dağılımı kolorektal kanserli hasta ile kontrol grubumuz arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık göstermiştir. ($p=0.036$). Ancak, CDKN1A C+20T and CDKN1B Val109Gly, C-79T polimorfizimlerinde genotip dağılımı ve hastalığa yakınlık açısından anlamlılık bulunamamıştır. Kolorektal kanserli hastalarda CDKN1B Val109Gly G allelini taşımanın 50 ve 50 den küçük yaştaki hastalarda 50 yaşından büyük olanlara göre daha yüksek olduğu gözlenmiş ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.05$; OR:8, %95CI: 0.874;-73.266). Val109Gly G alleli taşımanın azalmış tumor differansiyasyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır ($p=0.037$, OR:2.57, %95CI: 1.441-4.589). Bu bulguların, kolorektal kanserde genetik risk faktörlerinin belirlenmesine klinik anlamda yardımcı olabileceği ve hastalığın moleküler mekanizmasının çözümlenmesine katkı sağlayacak çalışmalara yeni bir bakış açısı getirebileceği düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler : Kolorektal Kanser , Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitörleri, Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Genler, Polimorfizm

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 1746

ABSTRACT

Cacina C. (2008). Investigating CDKN1A and CDKN1B from cyclin dependent kinase family gene polymorphisms in colorectal cancer patients. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp A.B.D. Yüksek Lisans/ İstanbul. 2008.

Colorectal cancer is important health problem in developed countries. Most cases of colorectal cancer are sporadic, and genetic and environmental factors play important roles. Cyclin Dependent Kinases form complexes with cyclins to modulate cell proliferation through cell-cycle control, whereas CDK inhibitors inhibit the kinase activities of the complexes and block cell-cycle transitions. p21Cip1 (CDKN1A) and p27Kip1 (CDKN1B) proteins belong to the Cip/Kip family are two putative tumor suppressors and CDK inhibitors. We have examined CDKN1A Ser/Arg, C+20T and CDKN1B C-79T, Val109Gly polymorphisms as a marker of tumour risk and progression in sporadic colorectal cancer. 50 colorectal cancer cases and 60 healthy controls were enrolled in this study. The distribution of CDKN1A Ser31Arg genotypes were different between colorectal cancer patients and controls ($p=0.036$). There were no association between CDKN1A C+20T and CDKN1B Val109Gly, C-79T genotypes and susceptibility to colorectal cancer. Patients with Val109Gly G allele were more commonly associated with decreased tumour differentiation ($p=0.037$, OR:2.57, %95CI: 1.441-4.589). In the analyses stratified by the age we have observed the the frequency of G allele had 8-fold increased risk of $50 \geq$ patients with colorectal cancer compared to $50 <$ patients ($p=0.05$; OR:8, %95CI :0.874;-73.266).

This findings if confirmed would have a clinical value in helping to assess the genetic risk for colorectal cancer thus opening new perspectives for the study of molecular factors underlying the mechanisms of colorectal cancer

Key Words: polymorphism, Colorectal Cancer, Cyclin Dependent Kinase Inhibitors Polimerase Chain Reaction, Genes

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 1746

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal kansere dünyada yaklaşık her yıl 945000 kişi yakalanmakta olduğu ve bunlardan yaklaşık 492000 kişinin kaybedildiği bilinmektedir. Kolorektal kanserler, ya sporadik, ya kalıtsal kanser sendromları, ya da enflammatuvar barsak hastalığı zemininde gelişebilmektedir. Adeno-karsinomlar kolorektal kanser gelişiminin temelini teşkil eder ve altında yatan moleküler mekanizmalar ise büyük ölçüde aydınlatılmıştır. Hastalığın gidişatı ise hastaya, uygulanan tedaviye ve tümörün özelliklerine göre değişiklik göstermektedir (1).

Kanser somatik hücrelerde, başlıca mutasyonlar sebebiyle baş göstermektedir. Fakat tek bir mutasyonun değil birden fazla genetik aksaklığın birikimi sonucu meydana gelmektedir. Bu nedenle insanlarda tümör gelişimi aşamalı ve zamana dayalı bir süreçtir(2). İnsanlarda karsinogenezin, kontrol edilemeyen hücre çoğalması, gelişimi, farklılaşmasında rol oynayan molekülleri kodlayan genlerdeki hasarlar ve özellikle de hücre döngüsü düzenleyici proteinlerden siklin bağımlı kinaz (CDK) ve siklin bağımlı kinaz inhibitör (CDKI) ailelerindeki defektler sonucu oluştuğu düşünülmektedir (3,4).

Siklin bağımlı kinaz ailesi siklin proteinleri ile hücre çoğalması sırasında aktivite gösteren ve hücre döngüsünün ilerlemesini sağlayan bir grup protein ailesidir. Fakat siklin bağımlı kinaz ailesinin bu rolü, siklin bağımlı kinaz inhibitörleri olarak adlandırılan (CDKI) tarafından inhibe edilmekte ve hücre döngüsünün ilerleyişi engellenmektedir (5,6).

Hücre döngüsü kontrolü, normal gelişim ve farklılaşma açısından kritik bir öneme sahiptir. Bu aşamada oluşabilecek normal dışı bir durum, tümör gelişimine sebep olabilir. Hücre döngüsü, siklin bağımlı kinaz aileleri tarafından düzenlenir. Bu moleküllerin katalitik yardımcıları siklin proteinleridir. Döngünün farklı aşamalarında siklin ve siklin bağımlı kinaz komplekslerinin değişik formları oluşturulur ve bunlar sürecin devamı için gereklidir (7).

Normal hücre proliferasyonu, hücre döngüsünün farklı yerlerinde yer alan kontrol noktaları ile çok dikkatli bir şekilde düzenlenmektedir (8). İnsan kanserlerinde G₁/S kontrol noktası bozulmuştur(4).G₁'den S fazına geçişin merkezinde retinoblastoma (Rb) yolağı bulunmaktadır (9). Bu yolak Rb proteininin siklin bağımlı kinaz aileleri ve bunların bağılı oldukları siklin proteinleri aracılığıyla fosforilasyonu sonucu pozitif şekilde düzenlenmektedir. Aynı zamanda bu süreç, siklin bağımlı kinaz inhibitörlerinden Cip/Kip ailesine ait CDKN1A (p21Cip1) ve CDKN1B (p27Kip1) tarafından inhibe edilebilmektedir (10).

CDKN1A (p21Cip1), CDKN1B (p27Kip1), Cip/Kip ailesine ait zayıf etkili tümör baskılayıcı proteinler olup, retinoblastoma proteininin fosforilasyonuna neden olan Siklin E-CDK2, Siklin A-CDK2 ve Siklin D-CDK4 komplekslerinin aktivitelerini inhibe ettikleri bilinmektedir (4,11).

Kanserde risk belirleme parametrelerinden biri olabileceği düşünülen gen polimorfizm çalışmaları pek çok yaygın kanser tipinde, hücre proliferasyonu ile ilgili pek çok gen üzerinde yürütülmektedir. CDKI ailesi üyelerinden olan, CDKN1A ve CDKN1B gen polimorfizmi çalışmaları, halen yetersiz olup, tartışmaya açık veriler içermektedir. Çalışmamızda, CDKN1A ve CDKN1B gen polimorfizimleri kolorektal kanserli hastalarda incelenecektir. Kolorektal kansere ait risk durumları, CDKN1A ve CDKN1B genotiplerinin, klinik diğer parametrelerle ilişkileri değerlendirilmeye çalışılacaktır. Çalışmamızın kolorektal kanser etyopatogenezinde CDKN1A ve CDKN1B'nin önemini araştırarak çalışmalara ışık tutacağı düşüncesindeyiz.

2. GENEL BİLGİLER

Kolorektal kanser dünyada üçüncü en yaygın kanser türü olup, en sık ölümlü sonuçlanan dördüncü kanser çeşididir (12). Bu kanser türü gelişmiş ülkelerde, gelişmekte olan ülkelere nazaran daha sık görülmektedir (12-14). Kolorektal kanserlerin çoğu sporadik olup, genetik ve çevresel faktörler büyük önem taşımaktadır (12). Bu tip kanser hastalarının yaklaşık %20' si kalıtsal kolorektal kanser için kesin kriterlere tam olarak uymaksızın, bazı ailesel risk faktörlerine sahiptirler (15). Bunun yanında sporadik kolorektal kanserler %88-94 oranında görülmekte olup, ileri yaş, erkek cinsiyeti, çeşitli hormonal (ilk gebelik yaşı, erken menapoz vb.) ve çevresel faktörler (et ve yağdan zengin, folat ve kalsiyumdan fakir diyet vb.) , obezite, diyabet, sigara, yüksek alkol alımı, kolorektal polip hikayesi gibi pek çok faktör hastalık riskinde önem taşımaktadır (1).

2.1. KOLOREKTAL KANSER RİSK FAKTÖRLERİ

2.1.1. Yaş: Kolorektal kanser genç yetişkin bireylerde de görülmekle birlikte, 50 yaşın üstündeki kişilerde bu kanser tipinin görülme olasılığının arttığı tespit edilmiştir. Tanı konulan hastaların çoğunda, ortalama yaşın 50'nin üzerinde olduğu bildirilmiştir(16).

2.1.2. Kalıtsal Faktörler: Kalıtsal kolorektal kanserler; herediter polipöz kolorektal kanserler (HPCC) ve herediter nonpolipöz kolorektal kanserler (HNPCC) olarak adlandırılırlar. herediter polipöz kolorektal kanserler (HPCC); polipozis zemininden gelişen kolorektal kanserlerdir. Sporadik vakalara oranla daha genç yaşlarda görülürler. Familial Adenomatöz Polipozis (FAP) kolonda 100'ün üzerinde adenomatöz polip bulunması ya da FAP ailesi bireylerinden birinde herhangi bir sayıda adenom saptanması ile tanı konulan bir hastalıktır. Sorumlu olan genetik defektin 5.kromozom üzerinde q 21 lokusunda bulunmakta olan APC (adenomatöz polipozis geni) geni olduğu bilinmektedir.HNPCC ise, polipozis sendromları ile ilişkisiz olup Lynch sendromu olarak adlandırılmışlardır ve özellikle otozomal dominant bir kalıtım modeli göstermesi, kolorektal kanser gelişme yaşının erken olması, kanserlerin çoğunlukla sağ tarafta yerleşik olması ile karakterizedir (16).

2.1.3. Ailede Kolorektal Kanser Hikayesi:Kolorektal kansere yakalanmış hastaların %20'sinin aile bireylerinde bu kanser türüne yakalanma hikayesi mevcuttur.Birinci derece akrabalarından birinde 60 yaşından önce veya yine birinci derecede akrabalarından iki ya da daha fazlasında herhangi bir yaşta kolorektal kanser veya adenomatöz polip hikayesi olan kişilerin hastalığa yakalanma olasılığının arttığı düşünülmektedir.Riski attıran nedenler tüm hastalarda açıklığa kavuşturulamamıştır.Ancak kalıtsal genetik faktörlerin çevresel veya diğer faktörlerle birleşerek bu sonuca ulaşıldığı düşünülmektedir (16).

2.1.4.Bireysel Polip veya Kolorektal Kanser Hikayesi: Adenomatöz polip hikayesine sahip bireylerde kolorektal kansere yakalanma olasılığının arttığı düşünülmektedir. Bir defa kolorektal kansere yakalanmış kişilerde de hastalık tümenden ortadan kalkmış olsa bile kolon ve rektumun diğer bölgelerinde yeniden kanser gelişebilir(16).

2.1.5. İnflamasyon: Ülseratif kolit Crohn's hastalığı gibi durumlarda bağırsak uzun süre inflamasyona maruz kalır.Bu durumda displazi gelişebilir ve displazinin yerini kansere bırakması olası bir ihtimal olarak öne sürülmektedir (16).

2.1.6. Diyet: Kolorektal kanser patogenezinde yağ oranından zengin yüksek kalorili beslenmenin, fazla kırmızı et tüketiminin, antioksidan, antimitojen, antineoplastik vitamin ve eser elementlerden yoksun, lifsel içeriği olmayan beslenme alışkanlığının, tümör oluşumunda önemli rolü vardır (17). Fakat tüm bu diyet faktörlerinin riski ne kadar attırdığı ve kanser sürecine nasıl bir katkıda bulunduğu konusu açıklığa kavuşturulamamıştır. Meyve ve sebze ağırlıklı diyetin, kolorektal kanser olasılığını düşürdüğü düşünülmektedir. Çeşitli yağ türleri, biber vb. diyet bileşenlerinin etkisi netlik kazanmamıştır (16).

2.1.7. Irk: Afrika kökenli Amerika'lılarda nedeni henüz tam bilinmemekle birlikte kolorektal kansere yakalanma ve bu kanser türünden ölüm oranları Amerika'da yaşayan diğer ırklara oranla daha yüksek durumdadır.Kolorektal kanser Doğu Avrupa Yahudilerinde de diğer ırklara göre sık görülmektedir.Bu etnik gruplarda kanser gelişim riskini arttıran genetik mutasyonlara rastlanmıştır (16).

2.1.8 Fiziksek Aktivite: Fiziksel olarak inaktif bireylerde kolorektal kansere yakalanma olasılığı daha yüksek olduğu bilinmektedir. Fiziksel aktivitenin atırılmasının riskin azalmasına yardımcı olabileceği düşünölmektedir (16).

2.1.9. Obezite: Aşırı kilolu bireylerde kolorektal kanser gelişimi ve bu kanser türünden ölüm riski artmış durumdadır.Obezite kadın ve erkeklerde riski arttıran bir faktör gibi görönsede, erkeklerde bu faktörün daha etkin bir rol oynadığı düşünölmektedir. Ayrıca kilo ile ilişkili olduğu düşünölen Tip 2 diyabetin de kolorektal kanser açısından risk oluşturduğu ileri sürölmektedir (16).

2.1.10. Sigara: Uzun süre sigara kullanan kişilerin, hiç sigara içmemiş insanlara oranla daha fazla risk altında olduğu gerçektir. Sigaranın akciğer kanserine neden olan bir etken olarak bilinmesi yanında, kullanımı sırasında kansere sebep olabilecek maddelerin yutulması sebebiyle, kolorektal kanser gibi, diğer sindirim sistemi kanserlerine de yol açabileceği ileri sürölmüştür (16).

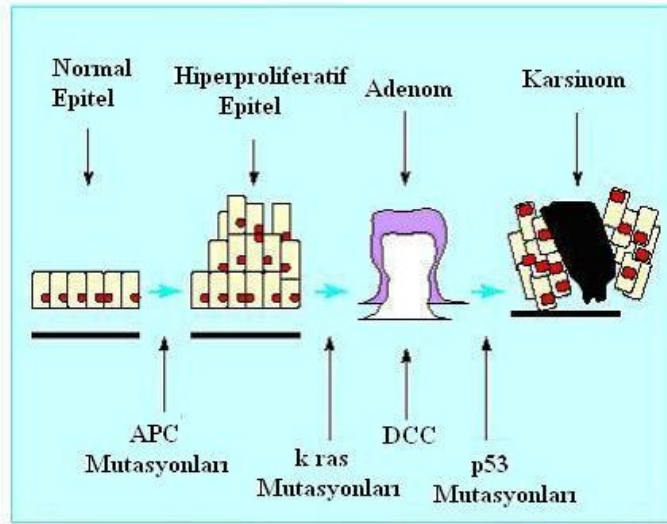
2.1.11. Aşırı Alkol Tüketimi:Alkol tüketiminin kolorektal kanserle ilişkili olduğu düşünölmektedir.Bu durumun en azından aşırı alkol tüketen kişilerin vücutlarında düşük folik asit değerleriyle ilişkili olabileceği düşünölmektedir. (16).

Ölkeler arasındaki kolorektal kanser sıklıkları arasındaki değişkenlik beslenme,yaşam tarzı ve çevresel faktörlerin farklılığını yansıtmaktadır.Endojen ve ekzojen karsinojenik etkenler, hatalı beslenmeye bağlı koruyucu maddelerin eksikliği kolon mukoza epitel hücrelerinin rejenerasyon (yenilenme) direncinin ve mukus kalitesinin bozulmasına sebep olmaktadır. Tüm bu faktörler, barsak epiteli ile direkt temasta olan intraluminal mikrofloranın ve içeriğinin değişmesine epitel hücre membranlarında yağ asit oranlarının yükselmesine, lipit peroksidasyon radikallerinin artmasına neden olur. Ayrıca sitokinler, interlökinler, prostaglandinler ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF α) ,nitrik oksit gibi mediatörlerin mukoza epitel harabiyetinin kalıcı hale gelmesine sebep olduğu ve genetik, somatik mutasyonların da etkisiyle karsinogenezin başladığı bilinmektedir (17). Kolorektal kanserlerin %20'sinin ailesel, %1-2'sinin inflamatuvar barsak hastalıkları sebebiyle olduğu bilinmektedir.

Kalıtısal kolorektal kanserler ise, otozomal dominant geçişli FAP ve HNPCC başta olmak üzere kolorektal kanserlerin %5-10'unu kapsamaktadır (1). Adenokarsinomlar ile ilişkili olduğu düşünülen genetik değişiklikler, kolorektal kanserin gelişiminde önemli rol oynamaktadır (18-19). Kolorektal kanserlerin %70'den fazla bir oranda sporadik adenomatöz poliplerden geliştiği düşünülmektedir ve otopsi çalışmaları, batı toplumlarında bu adenomların oranının %30-40 arasında olduğunu göstermiştir. Bu polipler çoğu hastada asemptomatiktir ve genellikle çeşitlilik göstermektedir. Endoskopiyle tespit edilmesi güç olan yassı poliplerin tüm poliplerin %10'unu oluşturduğu ve maligniteye dönüşme oranlarının daha yüksek olduğu öne sürülmektedir. Kolorektal kanserlerin yaklaşık olarak %5'inde ailesel sendromlar rapor edilmiştir. En yaygın kalıtısal sendromlar ailesel adenomatöz polipler ve HNPCC kolon kanseridir. Ailesel adenomatöz poliplerde beşinci kromozom üzerinde yer alan bir tümör süpresör gen olan APC'de germline bir mutasyon söz konusudur.

HNPCC'nin ise dominant bir kalıtım gösterdiği ve başlıca proksimal kolonda görüldüğü bilinmektedir Bu kanser tipini taşıyan hastalarda, normalde fonksiyonları rekombinasyon, replikasyon sırasında meydana gelen hataları tamir etmek veya bu işlemler sırasında bir veya daha fazla nükleotidin yer değiştirmesi sonucu oluşabilecek hataları ortadan kaldırmak olan, DNA tamir enzimleri ile ilgili mekanizmaları kontrol eden moleküllerde, germline mutasyonlar mevcuttur. Bu mutasyonların özellikle DNA'da mikrosatellit kararsızlıkla kendini belli ettikleri öne sürülmektedir (20).

Kolorektal kanser gelişiminde iltihaplı barsak hastalığında karsinogenez için olan bağımsız yolların mevcut olduğu düşünülmekte olup (21-24),DNA metilasyonundaki değişiklik, histon asetilasyonu gibi epigenetik mekanizmaların yanı sıra siklooksigenaz-2-geni ve peroksizom çoğaltıcı-aktive edici reseptör genleri gibi değiştirici (modifiye edici) genlerin de kolorektal kanserin başlangıcında oldukça önemli olduğu öne sürülmektedir (18,19,25-27). APC gen mutasyonları ve hipermetilasyon takiben k-ras mutasyonları erken evrede, bunu takiben DCC (deleted in colon cancer) ve p53 gen mutasyonları ise geç evrede baş gösteren kolorektal kanser sürecindeki değişikliklerdir. (28).



Şekil 2-1:Normal Epitel Dokudan Karsinomaya Dönüşüm (20).

Kanserlerde görülen genetik değişiklikler, bir nükleotid düzeyinde (tekli ya da çoklu baz değişiklikleri), kromozomal düzeyde (kromozom kayıplar)ya da DNA promotor bölge metilasyonu şeklinde oluşabilir. Kanser hücrelerinin büyüme ve çoğalma sürecinde meydana gelen genetik değişikliklerin (onkogenler, tümör süpresör genler), konakçı faktörleri (enzim polimorfizmi) ve tümör konakçı etkileşimi (anjiojeniz, invazyon, metastaz) sonucunda geliştiği bilinmektedir (29-30). Geleneksel olarak, kolorektal karsinogenez büyümeyi ve genetik kararlılığı etkileyen çeşitli mekanizmalarla da açıklanabilir (31). Sporadik kolorektal kanserlerin yaklaşık %85'i ve ailesel adenomatöz polipozise sahip hastaların karsinogenez sürecinin büyümeyi düzenleyen genlerdeki değişiklikler dolayısıyla oluşabildiği bilinmektedir. Bu yoldaki anahtar adımlardan birisi tümör-baskılayıcı gen APC'nin mutasyonudur (28). APC erken kolorektal kanserlerin %80 den fazlasında inaktive edilir ve sporadik kolorektal kanserlerin gelişimi için oldukça önemlidir (20). Aslında, APC geninin genetik kararlılıkta rol oynaması ve yanlış eşleşme tamir genlerinin , hücre proliferasyonunu (çoğalmasını) etkileyebilmesi, bu iki yolun birbirinden tam olarak ayıramayabileceğini düşündürmektedir (22). Birçok farklı tümör baskılayıcı genler (örn; DCC,DPC4/Smad4,p53,nm32)ve onkogenlerin (örn; K-ras,c-myc,c-neu,c-erb-2,c-src) karsinogenez sürecinde rol oynadığı açıktır (28).

Kolorektal kanserlerde de hücre döngüsünde, DNA sentezi ve onarımında, tümör süpresör genlerde, farklılaşma ve apoptozun kontrolünde meydana gelen birçok genetik değişim araştırılmaya devam etmektedir (32).

Kolorektal kanser açısından yaygın görüş arka plandaki genetik mutasyon oranlarının klonal yayılımlarla birleşerek kanser gelişimine neden olduğudur. Genetik kararsızlığın tümör gelişimi için gerekli değil, ama yeterli olabileceği görüşü tartışılmaktadır (20).

Genom gardiyanı olarak bilinen p53 ise , DNA hasarına karşı hücre döngüsünü durduran bir DNA'ya bağlanan transkripsiyonel aktivatördür . Normal (wild type) p53'ün etkisinin, bir mutasyonla ya da anti-apoptotik Bcl-2 geni ile antagonize edilmesi karsinogenez sürecinde oldukça önemli bir yer tutmaktadır (20).

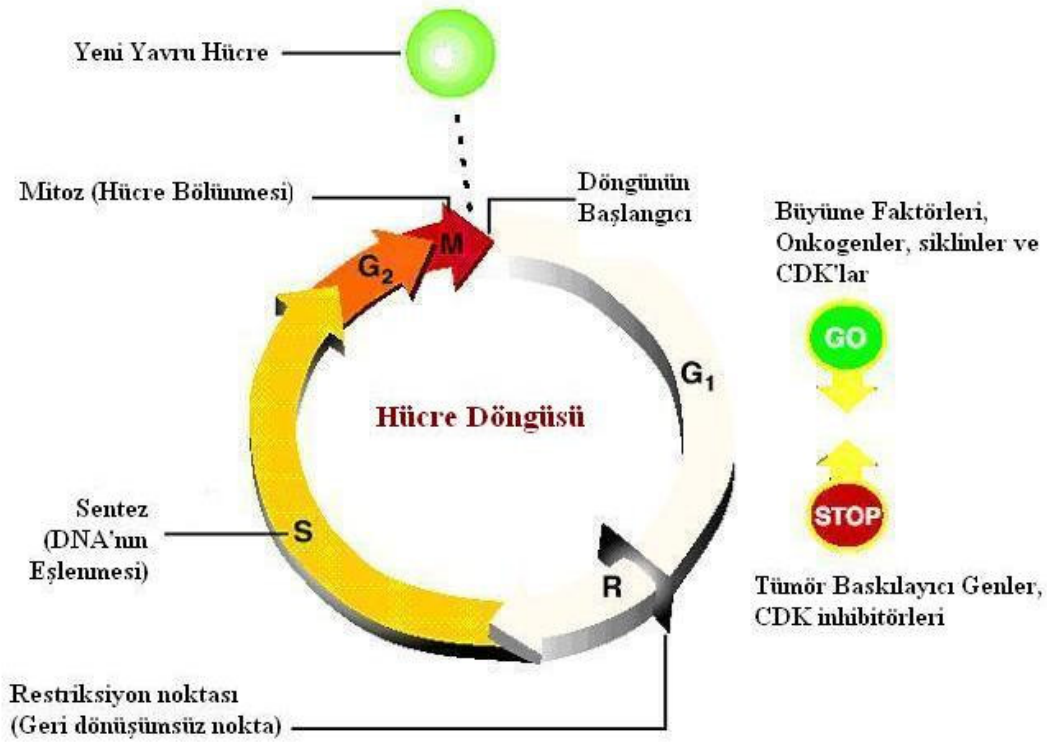
Genetik kararlılığı sağlayan genlerdeki (örn,yanlış eşleşme tamir genleri) mutasyonlar veya epigenetik değişiklikler ise pek çok kanserde olduğu gibi kolorektal kanserde de oldukça önem taşımaktadır (15). HNPCC 'nin oluşumu bu yolun kalıtsal bir göstergesi olup , kendiliğinden gelişen (sporadik) kolorektal kanserlerin %15'inin de bu mekanizma nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir(33). Büyüme düzenleyici onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerin yanı sıra, TGF β ve BAX gibi başka tümör baskılayıcı genler de bu yolda mutasyona uğramışlardır (15,18,22).

Tablo 2-1 Prognostik önem taşıyan moleküler markırlar:(1)

Tümör baskılayıcı genler ve onkogenler (K-ras, c-myc, p53, DCC, smad4, nm23) Apoptoz ve hücre intiharı ile ilişkili genler (b cl-2, BAX)
DNA sentezi ile ilgili genler (timidinofosfataz)
Büyüme faktörleri ve büyüme faktörü reseptör genleri (TGF α , TGF β , HER-2/neu, EGFR)
Yanlış eşleşme tamir genleri (MSH2, MLH1) Anjiyogenez ile ilgili genler (VEGF)
Siklinler ve siklin bağımlı kinaz inhibitör ailesi (p27, p21, p16)
Tutunma molekülleri ve glikoprotein genleri (cd44, E-kaderin, ICAM-1) İnvazyon belirteçleri (MMPs, ürokinaz tipi plasminogenaktivatör)
Proliferasyon indisleri (Ki-67, Mib-1, proliferasyon hücre nükleerantijen)
Antioksidanlar (Süperoksit dismutaz, GST-pi)
Telomer uzunluğu

2.2. HÜCRE DÖNGÜSÜ VE KANSER

Hücre döngüsü, hücrenin büyüme ve farklılaşmasını DNA hasar tamir mekanizmalarının düzenlenmesini, yaralanmalara karşı doku cevabını ve kanser gibi çeşitli hastalıkları içeren karmaşık bir süreçte yer almaktadır. Bu döngü hücreyi mitoz ve iki kardeş hücre oluşumu ile sonuçlanan bir dizi özgül reaksiyona doğru yönlendiren çeşitli düzenleyici proteinleri kapsar. Bu sürecin merkezinde siklin bağımlı kinazlar (cdk) ve siklin proteinleri yer alır ve döngünün G_1 , S, G_2 , M fazlarına geçişi düzenlerler. (34).

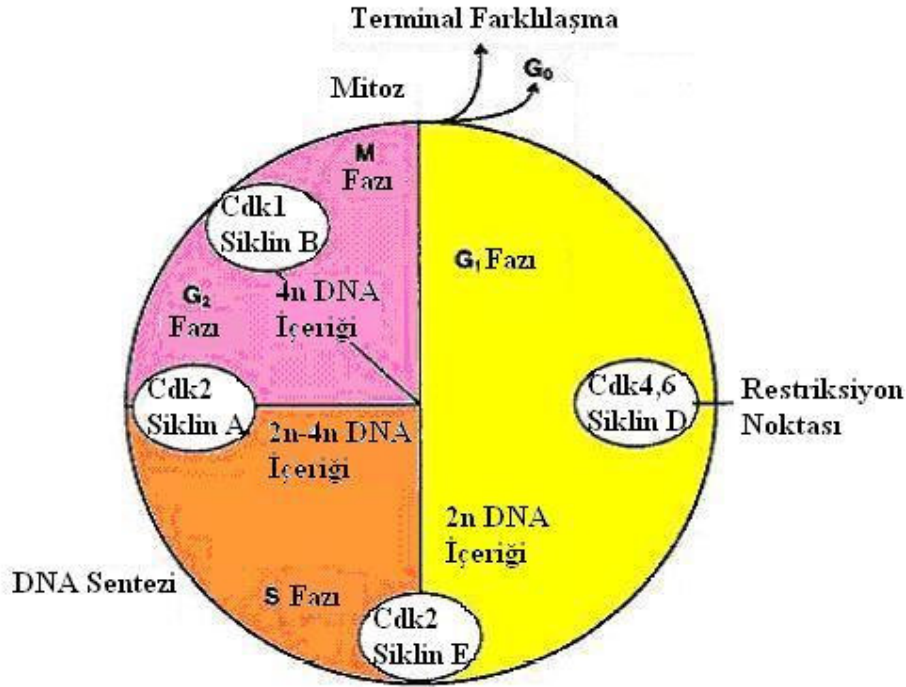


Şekil 2.2:Hücre Döngüsü Fazları (35).

Morfolojik olarak interfaz, (profaz, metafaz ,anafaz) gibi evreleri içeren mitotik faz olarak alt bölümlere ayrılmıştır (34). İnterfaz G_1 , S, G_2 evrelerini kapsar. G_1 fazında hücre DNA sentezi için hazırlanır. S fazında ise DNA sentezi gerçekleşmektedir. G_2 fazında , hücre mitoz fazı için hazırlığa girer. G_0 fazı ise bölünme potansiyeline sahip fakat bu döngüye katılmayan hücreler için geçerlidir (36).

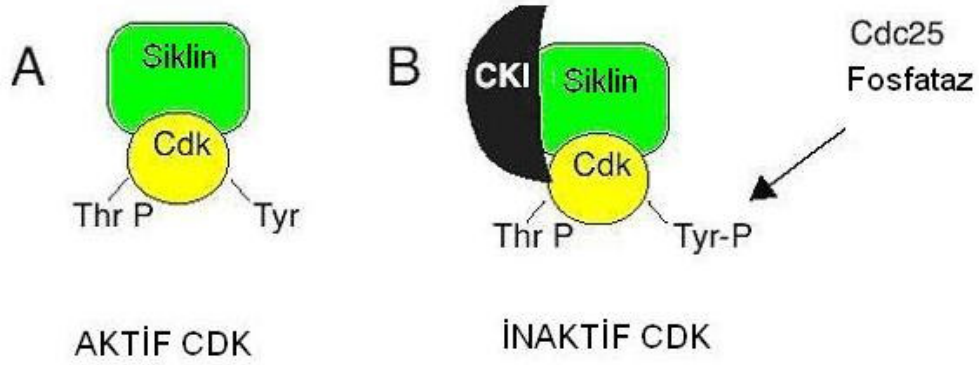
2.3. HÜCRE DÖNGÜSÜNÜN DÜZENLENMESİ

Hücre döngüsü başlıca siklin bağımlı kinaz (cdk) ve siklin komplekslerini içeren mekanizmalar aracılığıyla düzenlenir. Siklin bağımlı kinazlar (cdk) döngüdeki spesifik noktaları aktive eden bir serin /treonin protein kinaz ailesidir (37).



Şekil 1.3: Hücre Döngüsünde Siklin Bağımlı Kinaz ve Siklin Kompleksleri (36).

Bu aile, sürecin işlemesi açısından kritik bir öneme sahiptir ve inaktivasyonları mitozu engeller (38-40). Siklin bağımlı kinaz (Cdk) ailesinin işlevleri çeşitli mekanizmalarla düzenlenmektedir. Bunlardan biri treonin ve tirozin kalıntılarının fosforillenmesidir (41). Hücre bölünmeye hazır olduğunda, cdc25 belli bölgelerinden cdk1'i defosforile eder, bunun sonucunda cdk1 kinaz aktive olur (38,42-44).



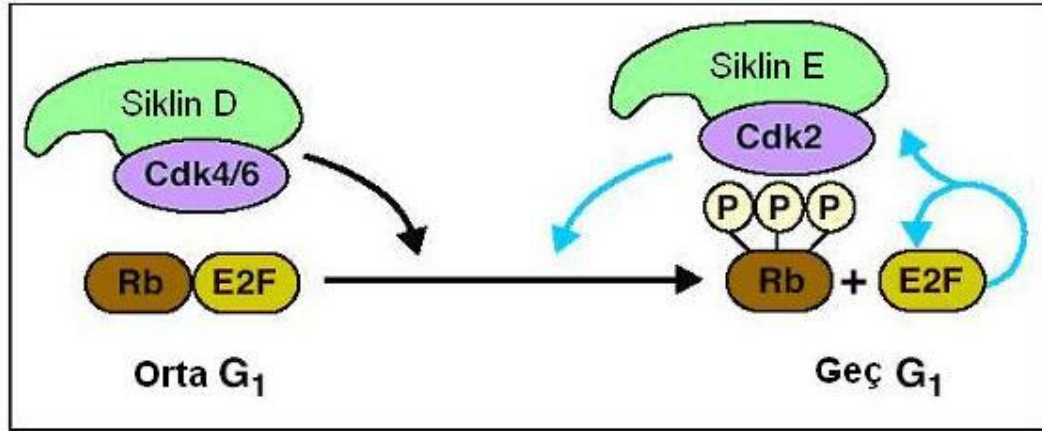
Şekil 2.4: Siklin Bağımlı Kinazların Fosforilasyon Durumları (35).

Siklinler ise çeşitli düzenleyici fonksiyonları yerine getirirler. Buna ek olarak cdk ailesinin fosforillenme durumunda görev alırlar. Siklin bağımlı kinaz ailesi (cdk) aktivitelerini yerine getirmek için siklin proteinlerine bağlanmak zorundadır. Siklinler, cdk ailesini nukleusa doğru yönlendirir ve siklin bağımlı kinaz ailesinde bulunmayan nukleer lokalizasyona sahiptir (45). Bazı cdk ailesi üyeleri, birden fazla siklin bağlayabilir (37). Bu proteinlerin siklin olarak isimlendirilmelerinin nedeni hücre döngüsü boyunca eksprese olmalarıdır (46,47). Siklin bağımlı kinazlar, belli siklinlerin hücre döngüsü süresince ekspresyonları dolayısıyla döngünün belli zamanlarında aktive edilebilir. Siklinlerin ekspresyonlarının düzenlenmesi, onların parçalanması ve yıkımı hücre döngüsü boyunca çeşitli şekillerde kontrol altında tutulmaktadır. Siklinler yüksek miktarda prolin, glutamat, serin ve treonin içeren protein motifleri ve sekanslara sahiptirler. Bu motifler siklinlerin belirli zamanlarda ubiquitine bağlanma suretiyle parçalanmalarına sebep olurlar (46,48-50).

Böylece döngü sırasında belirli siklinlerin yıkım ve sentez miktarına bağlı olarak hücrelerin döngüsüne giriş ve farklı fazlara geçiş aşamaları belirlenmektedir. Genel olarak hücre bir faza girmeden önce, önceki faza özgü siklinler parçalanıp, bir sonraki faza özgü siklinler sentezlenerek döngü yönlendirebilmektedir.

Siklin bağımlı kinazlar ise çeşitli substrat moleküllerini fosforilleyerek hücre bölünme sürecini katalizlerler. Cdk'ların, G₂ ve M fazlarında, nukleer laminler, mikrotübüller nukleer hücre iskeletini hedef aldığı (51,52), G₁ fazında ise en

önemli hedefinin Retinoma proteini olduğu bilinmektedir. Böylece, G_1 fazında, siklin-cdk kompleksleri tarafından retinoblastoma proteininin çeşitli aminoasit kalıntıları fosforillenmektedir (53). Hipofosforile durumda olan Rb proteini, E2F transkripsiyon faktörünü bağlamakta, böylece transkripsiyon gerçekleşmemektedir. Siklin ve siklin bağımlı kinazlar retinoblastoma proteinini fosforillediğinde E2F serbest kalır ve böylece transkripsiyon ve döngünün devamı için gerekli proteinlerin sentezi gerçekleşir (54-55).

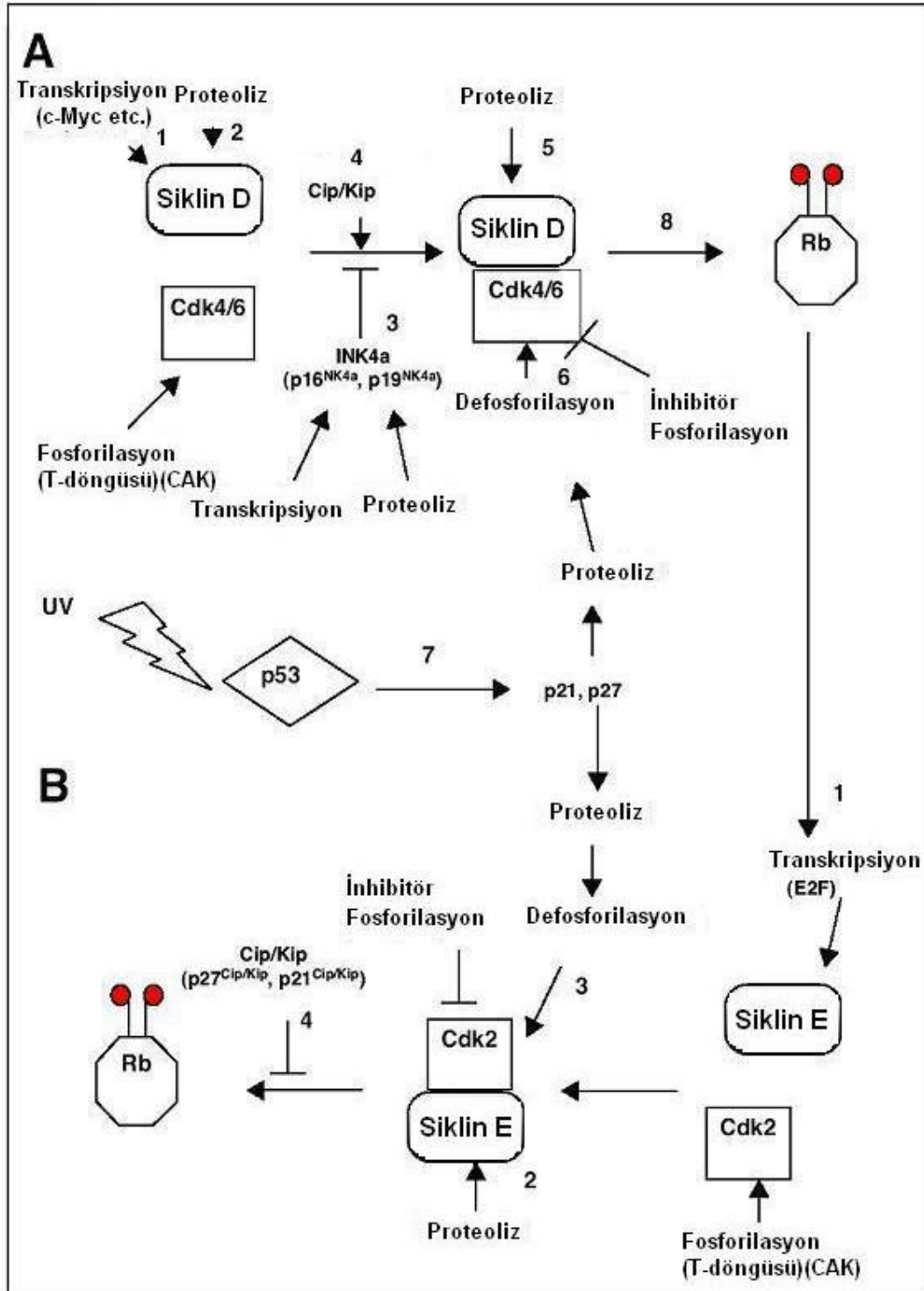


Şekil 2.5: Retinoblastoma Proteini ve E2F Faktörü (35)

Retinoblastoma döngünün geri kalan kısmı boyunca hiperfosforile halde kalır. Siklin A ve SiklinB bağımlı kinaz cdk2 ve cdk1'in döngünün devam etmesi için retinoblastoma proteinini hiperfosforile bir halde tuttuğu düşünülmektedir (9). Hücre döngüsünde G_1 ve S fazında en fazla araştırılan ve en önemli gibi görünen p16 ve p21 aileleridir. p16 ailesinin p16, p15, p18 ve p19 gibi üyeleri vardır ve cdk4, cdk6 gibi siklin bağımlı kinazları inaktive ettikleri bilinmektedir (56-59). Bu aile, siklin bağımlı kinazlarla bu siklin proteinleri birleşmeden önce, stabil kompleksler oluştururlar ve siklinlerin aşırı ekspresyonu durumunda bile cdklardan ayrılmazlar. p16 ailesi üyeleri cdk4 ve cdk6'yı bağlamak suretiyle retinoblastoma proteininin fosforilasyonunu ve aktivasyonunu engellerler. p21 ailesi, p21(cip1), p27 (kip1), p57 (kip2) gibi üyeleri kapsamaktadır (60,61). Bu aile, G_1 fazının düzenlenmesinde birincil derecede önemlidir (62). Bu proteinlerin büyük olasılıkla cdk1 dışında çoğu cdk üyelerini inhibe ettiği düşünülmektedir (63,64).

Yapılarının yüksek oranda benzerlik göstermesi sebebiyle p21 ve p27'nin aynı mekanizmaları hedef seçtiği ve inhibe ettiği öne sürülmüştür. Bu moleküllerin temel yapılarıyla ilgili çalışmalarda Cip/Kip protein ailesinin alfa heliks modelinin siklinlerle ilk bağı kurduğu, ikinci heliksin ise daha derin kısımlardaki Cdk alt ünitelerine ulaştığı ve bu şekilde ATP bağlanmasının engellendiği tespit edilmiştir (10,65).

p21 ailesinin üyeleri siklinlere bağlanarak cdkların retinoblastoma proteininin fosforilemelerini ve retinoblastoma proteininin E2F transkripsiyon faktöründen ayrılmasını engeller (66,67). Diğer ailenin üyelerinden farklı olarak hücre ortamında siklin düzeyindeki artış, p21 fonksiyonlarını inhibe etmektedir. p21 'nin proliferen hücre nükleer antijenini (PCNA) bağladığı, DNA replikasyonu ve tamir mekanizmalarında rol oynayan DNA polimerazın alt birimlerinden olan DNA polimeraz σ mayı da bağlayarak fonksiyonlarını engellediği öne sürülmüştür (68). P53'ün, p21 ekspresyonunu uyarması, p53'ün hücre döngüsünü kilitleme metodlarından biri olduğu bilinmektedir (69).



Şekil 2-6:G1'den S Fazına Geçişteki Düzenleyici Moleküler Mekanizmalar (35).

Büyüme faktörleri ilk olarak G_0 ve G_1 fazındaki hücelere etki ederler. Erken G_1 'de bu faktörlerin ortamdaki uzaklaşmaları hücrelerin G_0 fazına geri dönmeleriyle sonuçlanabilir. Fakat G_1 'in sonlarına doğru hücreler sınır noktasını geçtikten sonra büyüme faktörleri ortamdaki uzaklaşsa bile hücreler tekrar G_0 noktasına geri dönmezler ve döngüye devam ederek S fazına girerler (70). Hücre döngüsünün kontrol noktaları, biyokimyasal olarak birbirleriyle ilişkisi olmayan aşamalar arasında bağlantı kuran biyokimyasal yollar olarak tanımlanmaktadır (71). Döngünün kilitlenmesi ya da ertelenmesi, ekstrinsik veya intrinsik olabilen çeşitli faktörler tarafından oluşturulabilen ve farklı kontrol noktalarını etkileyebilen bir durumdur. İntrinsik faktörler olarak hücrenin hacmi, büyüklüğü söz konusu olup, bu faktörler memeli hücrelerinde diğer canlılara göre daha az önem taşımaktadır (72). Tüm hücreler için önemli olan, hücrenin döngüdeki ilerleyiş oranını ve kararlılığını etkileyen hücre beslenmesi ise, ekstrinsik faktörlerdendir. Hücreler açlık durumunda bırakılarak kültür ortamına alındıklarında hücre döngüsünden çıktıkları ve G_0 fazına girdikleri görülmüştür. Tüm hayvan deneylerinde açlık durumunun, kayıplara bağlı olarak organ ve doku atrofisini uyardığı gözlemlenmiştir. Bu hücrelerin döngüye tekrar katılmaları sadece beslenme durumu tekrar iyileştirildikten sonra mümkün olmaktadır (73-74).

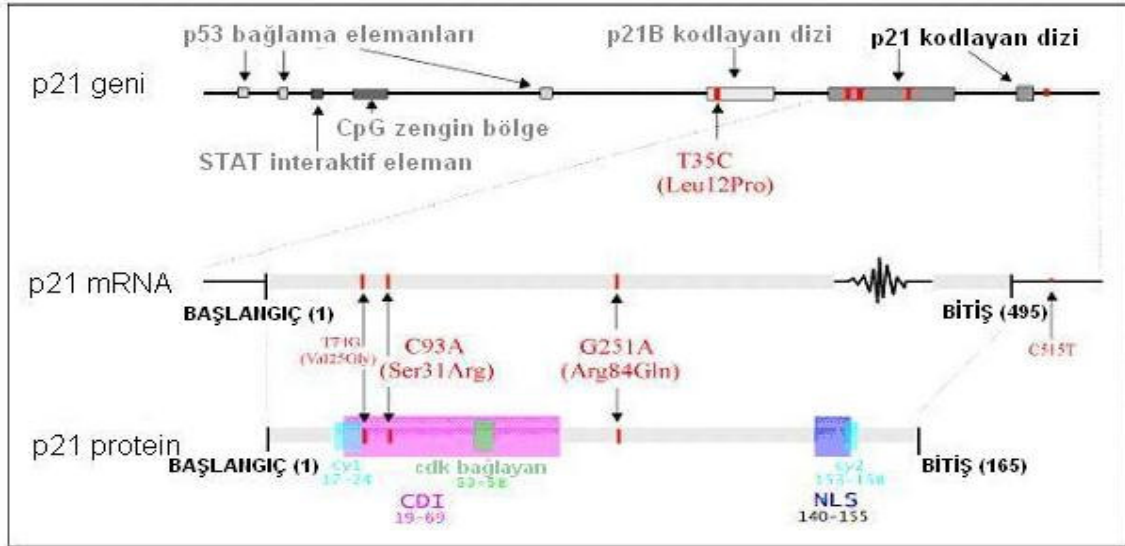
DNA hasar ajanları, döngünün G_1 ve G_2 noktalarında kilitlenmesini tetikler. Hücreler S fazında da alıkonulabilirler. G_1 fazındaki duraksama DNA sentezi öncesi tamir ve bakım aşamasına olanak tanırken, G_2 fazındaki alıkonma, mitozda kromozomlar ayrılmadan önceki tamir aşamalarına imkan sağlar (75).

G_1 fazındaki duraklama p53 bağımlıdır. p53 geni çıkarılmış olan transgenik farelerde yapılan çalışmalarda, G_1 noktasında DNA hasarına cevap verilemediği ve döngünün bu noktada kilitlenmediği gözlenmiştir (76-77). Diğer yandan p53 harabiyet, veya yokluğunun hücrede radyasyon ve kimyasal duyarlılığı arttırdığı tespit edilmiştir (78-79). Fakat p53'ten yoksun bu hücrelerin aynı ajanlara maruz kaldığında G_2 'de duraklama yeteneğini koruduğu gözlenmiştir (77). p53'ün G_1 fazını durdurmayla ilişkili olarak çok çeşitli fonksiyonları vardır. p53, hasarlı çeşitli DNA tiplerini tanıyıp bağlamaktadır (80-82). p53, DNA hasarını takiben p21 transkripsiyonunu hızlandırmaktadır (69,83). Bunun ardından p21, G_1 'deki cdkların aktivitesini inhibe eder. p53'ün diğer bir fonksiyonu ise, ciddi DNA hasar durumlarında apoptozu uyarmasıdır (84). Bu nedenlerle DNA hasar kontrol yolağında da önemli bir rol oynamaktadır (85). p53 mutasyonlu hücreler DNA hasarına rağmen döngüyü

durduramaz ve p21 transkripsiyonunu başlatamaz. Normal p53 fonksiyonundan yoksun bu hücreler hasara rağmen hücre döngüsüne devam ederler ve mitoz öncesi DNA hasarı tamir edilmediğinden dolayı mitoz sonrası bu hasar genomda da yer alır (86-90).

2.4. CDKN1A (p21)

CDKN1A diğer adıyla p21 lokalizasyonu 6p21.2 olan üç ekzondan meydana gelen bir gen bölgesidir. 2,1 kb büyüklüğünde mRNA 'ya sahip olup 18 kd ağırlığında 168 aminoasitten meydana gelen bir protein kodlamaktadır. CDKN1A nükleer ve sitoplazmik bir lokalizasyon göstermektedir (91).



Şekil 2-7: CDKN1A (p21) Gen, mRNA, Protein (92)

CDKN1A (p21)'in onkogenezdeki rolü tam olarak bilinmemesine rağmen, bir tümör süpresör gen gibi davrandığı düşünülmekte ve hücre döngüsünü inhibisyonunda rol oynadığı bilinmektedir. p21 ekspresyonu, insanlarda çeşitli dokularda farklı neoplaziler açısından pek çok deneysel çalışmada araştırma konusu olmuştur. Normal dokuya bitişik tümörlerde p21 ekspresyonunun sadece farklılaşmasını tamamlamış hücrelerde görülmekte olduğu bildirilmiştir (93-95). p21 gen delesyonları ve mutasyonları tespit edilmiş olmasına rağmen, bunların fonksiyonel olarak önemi yeterli derecede açık değildir (94,96).

Kolon, beyin ve akciğer kanseri hücre kültürlerinde p21 aşırı ekspresyonunun büyümeyi yavaşlattığı gözlemlenmiştir (83,97,98). Ayrıca p21'den yoksun farelerde enjeksiyon yoluyla p21 aşırı ekspresyonu sağlandığında kolon kanser hücrelerinde tümör seyrininin yavaşladığı görülmüştür (98).

Tümör spesifik mutasyonların p21'nin CDK ailesini inhibe etme özelliğini zayıflattığı ve p21 inaktivasyonunun neoplazik oluşumların meydana gelmesine bir miktar katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Fakat p21'in farklı kanser tiplerinde mutasyon analizi sonucu, insan tümörlerinde nadir şekilde görüldüğü belirtilmiştir (99-102). Bu nedenle p21'in fonksiyonlarının azalmasının, kendi yapısındaki genetik değişimlerin sonucundan çok, p53 tümör baskılayıcı genin inaktivasyonu sonucu geliştiği düşünülmektedir (103). p53, p21'in transkripsiyonel uyarı yoluyla ekspresyonunu arttırarak, hücre döngüsünün kilitlenmesine (83,104) ve Bax genini uyararak apoptoza gidilmesine yol açabilir (105).

p53 cevabında p21 yolağındaki kayıp bazı vakalarda neoplazik oluşumlara sebep olmaktadır. İnsan kanserlerinde p53 inaktivasyonunun sıklığı pek çok düzenleyici yolakta eş zamanlı kaybı yansıtmaktadır. Bazı araştırmaların sonucuna göre (62), p21 geninden yoksun farelerde G₁ kontrol noktasındaki aksaklığa rağmen, ilk 7 ayda malignite gelişmediği görülmüştür(106). Bu durum tümör oluşumlarının erken evrelerindeki p53'e dayalı baskılanmanın, p21'den bağımsız olduğunu düşündürmektedir (107).

2.5. CDKN1B (p27)

CDKN1B diğler adıyla (p27) lokalizasyonu 12p13 olan iki ekzondan meydana gelen bir gen bölgesidir. 2,5 kb büyüklüğünde mRNA 'ya sahip olup, 22 kDa ağırlığında 198 aminoasitten meydana gelen bir proteini kodlamaktadır. CDKN1B nükleer bir lokalizasyon sergilemektedir (91).

CDK inhibitör ailesinden p27 nin ekspresyon düzeyinin artmasının, hücre farklılaşması ile pozitif yönde ilişkili olduğu bilinmektedir (108). p27'nin mitojenik ve antiproliferatif dış sinyal yollarını içeren düzenleyici mekanizmalarla ilişkili olduğu, bu nedenle fonksiyonlarındaki azalmanın tümör gelişimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (109). p27 ekspresyonu mide, meme, prostat ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sıklıkla azaldığı bilinmektedir (110). p27 mutasyonu ise, insan kanserlerinde nadiren görülmektedir (111).

Günümüze kadar p27 gen polimorfizminin, p27 proteininde oluşturduğu yapısal değişikliğe ve diğler proteinlerin fonksiyonlarıyla ilişkisine dair bir çalışma yayınlanmamıştır. Örneğin, jab 1 geni tarafından kodlanan p38 (112), özellikle p27 ile ilişkili olup, p38'in memeli hücrelerinde aşırı ekspresyonu p27'nin nükleustan sitoplazmaya doğru yer değiştirmesine ve sonuçta ubiquitin - proteozom yolağına sokularak parçalanmak suretiyle miktarında azalmasına sebep olur (113). Valin glisin değişimi ile sonuçlanan P27'nin V109G polimorfizmi p38 domeninin bağlanmasına, bu durum ise p27'nin fosforilasyonuna, miktarının azalmasına ve yıkımla sonuçlanan stoplazmik translokasyonuna neden olmaktadır (114). p27 bir tümör supresör gen gibi görülmekte ve aşırı ekspresyonunun hücre döngüsünde S fazına geçişi engellediğı düşünülmektedir (11). Bu genle ilgili olarak prostat kanserini de kapsayan çalışmalar başlangıçta, tümör örneklerinde immunohistokimyasal yöntemle protein ekspresyon düzeyinin ölçümüyle sınırlı kalmıştır (115-116). Genel olarak ekspresyon düzeyindeki azalma, tümör belirleyici nitelikte değildir ve hasta bulguları açısından zayıf karakterdedir. Hayvan modellerinde yapılan sonraki çalışmalar, p27 protein düzeyindeki güç fark edilen ,hassas değişimlerin diğler tümör süpresör genlerin kaybına bağılı olarak malignite riskini attırdığını göstermiştir (117).

p27 gen kaybı veya düzeyinde meydana gelen azalma sonucunda oluşan hiperplaziler tümör gelişimi ile ilişkilidir. Bu genin çıkarıldığı farelerde paratiroid tümör, prostat hiperplazisi ve prostat adenomu geliştiğı görülmüştür (115,118,119). p27

haployetersizliği olan farelerin onkogenik etkilere, gamma radyasyona ve kimyasal karsinojenlere daha fazla duyarlı olduğu tespit edilmiştir (120).

2.5.1. CDKN1B VE HÜCRE ADEZYONU

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda CDKN1B düzeyleri ve aktivitesinin henüz farklılaşmasını tamamlamamış fibroblast ve epitel hücrelerinde, hücrelerin birbirine temasının kaybolmasında etkili olduğu gösterilmiştir (121-122). Bu durumla ilgili olarak p27'nin normal hücrelerde hücreler arası adezyonla ilgili ilişkili olduğu düşünölmektedir (123). Malign hücreler genellikle bağımsız bir seyir izlerler. Bu özellikleri sebebiyle invazyon ve metastaz potansiyeli kazanmaktadırlar.(124). Bazı karsinomlarda kaderin gibi bazı adezyon moleküllerinin regölasyonunu bozulmakta veya kayba uğramaktadır (125-126) Kaderinlerin adezyondaki rollerine ek olarak tümör baskılayıcı proteinler ve mitojenik sinyal yolları arasındaki faaliyetlerinden dolayı tümör baskılayıcı bir fonksiyon gösterebilecekleri düşünölmektedir (127-129).

2.5.2. İNSAN KANSERLERİNDE p27 PROTEOLİZ AKTİVASYONU

CDKN1B haployetersizliği farelerde kimyasal karsinojenlere hassasiyeti arttırmaktadır (120). İnsan malignitelerinde tek bir p27 allelinin kaybı yaygın olmayan bir durum değildir. Fakat tümörlerde p27 gen lokusu homozigotik bir azalma göstermekte olup, geride kalan allelin sessizliği nadirdir (111,130,131). Klasik tümör baskılayıcı genlere nazaran p27'de somatik mutasyonlara nadiren rastlanmaktadır. Çoğu insan kanserlerinde p27 protein düzenindeki bozulma, proteolizdeki hızlanma ve sitoplazmik mislokalisasyon sebebiyledir. Kolon , prostat, akciğer, meme, yumurtalığı kapsayan çeşitli kanser türlerinde ayrıca melanom ve gliomların dahil olduğu insan malignitelerinin % 60'ında azalmış p27 protein düzeyleri gözlemlenmiştir (132,133).

2.6. CDKN1A ve CDKN1B GEN POLİMORFİZMLERİ

CDKN1A ve CDKN1B'ye ait gen polimorfizm çalışmaları günümüzde önem kazanmıştır. CDKN1A'nın belli kodonlarında görülen tek nükleotid polimorfizimlerinin meme kanserinde servikal adeno karsinomalarda ve endometriyal kanserde önem taşıdığı gözlemlenmiştir (134-135).

CDKN1A'nın yaygın görülen tek nükleotid polimorfizimleri 31. kodonda C-A baz değişimi sonucu serin aminoasidinin yerine arginin aminoasidinin geçmesi sonucu oluşan Ser31Arg polimorfizmi ve stop kodonunun 20bp aşağısında C-T bazlarının değişimi sonucu 3' UTR bölgesinde yer alan C+20T polimorfizmidir. Bu iki polimorfizmin birbiriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir(102). Ayrıca iki polimorfizmin mRNA stabilitesini etkileyebildiği öne sürülmektedir (136). CDKN1A gen polimorfizimlerinin meme kanserini de kapsayan farklı kanser türlerinde oluşturduğu risk durumları üzerine çeşitli moleküler epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır (134,137,138).

Az sayıda çalışmada da, CDKN1B Val109Gly polimorfizminin prostat kanseri ile ilişkili olduğu desteklenmektedir (139). Özellikle ilerlemiş prostat karsinomalarında bu durum gözlenmiştir (140). CDKN1B'nin Val109Gly polimorfizminin özellikle prostat kanserli bireylerde hastalığa yatkınlıkla, meme kanserli bireylerde ise kötü prognoz ilişkili olduğu rapor edilmiştir (141-142).

CDKN1B C-79T polimorfizminin meme kanserli bireylerde artmış risk ile ilişkili olduğu bildirmiştir. CDKN1B 5'UTR bölgesinde yer alan C-79T polimorfizmi heterozigot genotipli bireylerdeki artmış riskin, proteinin yapı dengesizliği ile ilgili bir problemden dolayı kazanılan bozulmuş fonksiyondan dolayı olabileceği öne sürülmektedir (136).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. SEÇİLEN ÖRNEKLERİN TANIMI

Bu çalışmada iki örnek grubu kullanılmıştır. Birinci grupta, 60 kişiden oluşan herhangi bir malignite bulgusu ve tercihen ailede kanser hikayesi olmayan sağlıklı bireyler kontrol grubuna alınmıştır.

İkinci grupta ise, İ.Ü. Radyasyon Onkolojisi, Samatya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Cerrahi Kliniği tarafından takip edilen 50 kolorektal kanserli hasta yer almaktadır. Projemize dahil edilen, kolorektal kanser tanısı konmuş hastalarımızın, klinik, histopatolojik değerlendirmeleri ve örnek alımları ilgili klinikler tarafından gerçekleştirilmiştir. Polimorfizm çalışması için sağlıklı ve kolorektal kanserli bireylerin kan örnekleri EDTA'lı tüpe alınıp, DNA izolasyonu yapılmış ve 50 kolorektal kanserli hasta, ve 60 sağlıklı kontrolde CDKN1A (Ser31Arg (C>A); C+20T) , CDKN1B (C-79T;Val109Gly (T>G) gen polimorfizm analizleri yapılmıştır.

Kolorektal kanserli ve normal bireylerden sağlanan kan örneklerinden DNA izolasyonu amonyum asetat ve proteinaz K'nın kullanıldığı tuz çöktürme metoduyla elde edilmiştir (143).

3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Agaroz(Promega MBG), Amonyum asetat(Sigma A-8920), Amonyum klorür(Sigma A-5666), Amonyum sülfat, Asetik asit(MECK K-04134156), Borik asit(Sigma B-6768), Bromfenol blue(Sigma B-6896), DNA marker(Fermentas), EDTA(Merck K-90602121), Etanol(%99 Tekel), Etidyum Bromid(Sigma E-8751), Hidroklorik asit(% 37 Merck K-13190114), İzopropanol, Potasyum bikarbonat(Merck K-126223552), Potasyum hidroksit(Sigma P 1767) Primerler(Fermentas), Proteinaz K(Stratagene 300-141) Sodyum dodesil (lauryl) sülfat(Sigma L-5750), Sodyum hidroksit(Merck C754962), Sodyum klorür(Carlo Erba 368257), Trizma baz(Sigma T-1503), Taqpolimeraz(Promega), Xylene blue(Fermentas).

3.3. KULLANILAN GEREÇLER

Elektroforez için güç kaynağı(Titan plus Helena Laboratories), Elektroforez sistemi(LKB 2013 miniphor electrophoresis, LKB 2012 maxiphor electrophoresis),Hassas terazi (Mettler) , Isıticılı manyetik karıştırıcı(Elektromag) , Mikrodalga fırın(Philco) ,Mikrosantrifüj(TDX) , PCR cihazı (MJ Research Techne) , pHmetre(Hanna), Pipet takımı(Brand), Santrifüj(Heraeus), Spektrofotometre(Shimadzu UV-1208), Su banyosu (Elektromag) , UV transilluminator(Stratagene UV/White light Transilluminator),Vorteks karıştırıcı (Nuve mix), nanodrop (ND-1000 spectrophotometer).

3.4. ÇÖZELTİLER

3.4.1. DNA İZOLASYONUNDA KULLANILAN ÇÖZELTİLER

3.4.1.1.) Eritrosit Parçalama Tamponu (Lysis Buffer)

8.74 gram Amonyum klorür, 1 gram Potasyum bikarbonat, 200 µl 0.5 M Etilen diaminetetraasetat (EDTA)'ın tartımları yapılarak erlen içine alındı. 900 mililitre distile su eklendi ve çözeltinin pH'sı 1N NaOH ile 7.4'e ayarlandı.Daha sonra balon joje içine alınarak 1 litreye tamamlandı.Çözelti ısıya dayanıklı cam şişelere aktarılarak 120°C'de 15 dakika otoklavlandı ve +4°C'de saklandı.

3.4.1.2.) 0.5 M Disodyumetilendiaminteraasetat (EDTA) (pH 8.0)

186.1 gram Etilendiamintetraasetat (EDTA) tartılarak beher içine alındı ve 800 ml distile su eklendi.Manyetik karıştırıcı yardımıyla çözüldürüldü ve pH'sı NaOH çözeltisi ile 8.0'e ayarlanarak distile su ile 1 litreye tamamlandı. 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3.4.1.3.) 4 M Sodyum Klorür (NaCl)

233.6 gram NaCl tartılarak erlene alındı. Üzerine 800 mililitre distile su ilave edildi ve manyetik karıştırıcı yardımıyla iyice çözündürüldü. Balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı. 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3.4.1.4.) Lökositleri Parçalama Tamponu (White Blood Cell Buffer-WBL)

25 mililitre 4 M NaCl ve 50 mililitre 0.5 M Etilendiaminasetat (EDTA) balon jojeye konularak 1 litreye tamamlandı. 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Oda ısısında saklandı.

3.4.1.5.)1 M Tris Tamponu (Stok)

121.1 gram Tris baz tartılarak bir behere alındı.Üzerine 42 µl hidroklorik asit (HCl) ile yaklaşık 800 mililitre distile su eklenerek manyetik karıştırıcı yardımıyla çözündürüldü. Daha sonra balon jojeye aktarıldı ve 1 litreye tamamlandı. 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3.4.1.6.) 9.5 M Amonyum Asetat

73.22 gram amonyum asetat tartılarak beher içine alındı. Üzerine 80 mililitre distile su eklenerek manyetik karıştırıcıda çözündürüldü. Balon jojeye aktarıldı ve distile su ile 100 mililitreye tamamlandı. 0.22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve +4°C'de saklandı.

3.4.1.7.) %10'luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)

10 gram Sodyum dodesil sülfat tartıldı. Beher içine alınarak üzerine 80 mililitre distile su eklendi. Manyetik karıştırıcı yardımı ile çözündürüldü ve pH'sı 7.2'ye ayarlandı. 0.22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

3.4.1.8.) Proteinaz K (20 mg/ml)

20 miligram Proteinaz K tartılarak steril bir tp içinde steril distile su ile 1 mililitreye tamamlandı. -20 °C'de saklandı.

3.4.2. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİNDE KULLANILAN ÇÖZELTİLER**3.4.2.1.) Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5X)**

20 gram Ficoll 400, 1 gram SDS, 0.2 mililitre 0.5 M ,etilendiamintetraasetat, 1 mililitre 1M Tris (pH 8.0), 200 miligram Bromfenol blue, 200 miligram xylene cyanol tartılarak steril distile su ile 100 mililitreye tamamlandı. Oda ısısında saklandı.

3.4.2.2.) Etidyum Bromür (10 mg/ml)

1 gram Etidyum bromür tartılarak steril distile su ile 10 mililitreye tamamlandı.

3.4.2.3.) 5X Tris-Borik Asit-Etilendiamintetraasetat (TBE)

54 gram Tris baz ve 27,5 gram borik asit tartılarak beher içine aktarıldı. zerine 20 mililitre 0.5 M EDTA (pH 8.0) ve 800 ml. distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözündürüldü.çözelti balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı ve 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Oda ısısında saklandı.

3.5. KULLANILAN YÖNTEMLER

3.5.1. PERİFERİK KANDAN DNA İZOLASYONU

10 ml periferik kan örneği steril EDTA'lı tüplere alındıktan sonra çalışma için falkon tüpüne aktarıldı. Üzerine 1:3 oranında (30 ml) eritrosit parçalama çözeltisi eklenerek karıştırıldı ve +4°C'de 15 dakika bekletildi. +4°C'den çıkarılan örneklerin 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısımları atıldı ve pelletleri tamamen süspanse edilerek üzerlerine tekrar 15-20 ml. eritrosit parçalama çözeltisi eklendi. Örnekler +4°C'de 15 dakika bekletildikten sonra 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantları atılarak süspanse edildi. Süspanse olan pellet üzerine 500 µl %10'luk SDS, 75 µl proteinaz K (20mg/ml) ve 9.4 ml lökosit parçalama çözeltisi (WBL) eklenerek 56 °C su banyosunda 1 gece inkübe edildi. İnkübasyon sonrası her 1 ml. örnek başına 0.37 ml. olacak şekilde 9.5 M Amonyum asetat çözeltisi eklendikten sonra yavaşça karıştırıldı ve 3000 rpm'de 25 dakika santrifüj edilerek proteinler çöktürüldü (143).

3.5.1.1. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini

Spektrofotometrik olarak, 260 nm ve 280 nm dalga boylarında yapılan ölçümlerle DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu belirlendi. 50µg/ml çift iplikçikli DNA içeriğinin 260 nm dalga boyunda 1 optik densite (OD) verdiği kabul edilmektedir. 260 nm'deki ölçüm değeri aşağıdaki formüle uygulanarak DNA konsantrasyonu hesaplandı.

$$\text{DNA Konsantrasyonu: } OD_{260} \times 50\mu\text{g/ml}$$

DNA örneklerinin saflığı OD_{260}/OD_{280} oranı kullanılarak belirlendi. Yeterince iyi saflıkta kabul edilen DNA'nın OD_{260}/OD_{280} değeri yaklaşık 1.8'dir. Ortamda fenol veya protein mevcutsa bu oran 1.8'den küçük olacaktır. OD_{260}/OD_{280} değeri 2'den büyükse ortamda RNA bulunduğu anlamına gelir.

3.5.2. CDKN1A GEN POLİMORFİZMLERİNİN TESPİT EDİLMESİ

3.5.2.1. CDKN1A Ser31Arg (C>A) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Primer Dizileri

CDKN1A ilgili gen bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan primerlerin nükleotid dizisi aşağıda verildiği şekildedir. Bu primerler uluslararası yayınlarda doğrulanmış primer dizileridir (144).

İleri primer: 5'- GTC AGA ACC GGC TGG GGA TG- 3'
Geri primer: 5'- CTC CTC CCA ACT CAT CCC GG -3'

3.5.2.2. CDKN1A C+20T Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Primer Dizileri

CDKN1A ilgili gen bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan primerlerin nükleotid dizisi aşağıda verildiği şekildedir. Bu primerler uluslararası yayınlarda doğrulanmış primer dizileridir (136).

İleri primer: 5'- TCCAAGAGGAAGCCCTAATC 3'
Geri primer: 5'- AAAGGAGAACACGGGATGAG -3'

3.5.3. CDKN1B GEN POLİMORFİZMLERİNİN TESPİT EDİLMESİ

3.5.3.1. CDKN1B C-79T Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Primer Dizileri

CDKN1B ilgili gen bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan primerlerin nükleotid dizisi aşağıda verildiği şekildedir. Bu primerler uluslararası yayınlarda doğrulanmış primer dizileridir (136).

İleri primer: 5' - TGGCTCGTCGGGGTCT-3';
Geri primer: 5' - CCATCCGCTCCAGGCT -3'

3.5.3.2. CDKN1B Val109Gly (T>G) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Primer Dizileri

CDKN1B ilgili gen bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan primerlerin nükleotid dizisi aşağıda verildiği şekildedir. Bu primerler uluslararası yayınlarda doğrulanmış primer dizileridir (136).

İleri primer: 5' - TAGAGGGCAAGTACGAGTGG -3'
Geri primer: 5' - TGGTTGGGAAAGGGTCAT -3'

3.5.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction-PCR)'da Kullanılan Kimyasal Maddeler ve PCR'ın Hazırlanışı

DNA Taq polimeraz enzimi (5U/μl) (Fermentas EPO402)

PCR reaksiyonundaki son konsantrasyonu 1 unite olacak şekilde 25 μl lik PCR reaksiyonuna eklendi.

dNTP'ler (100 μmol/ml) (Fermentas R0171)

100 mM'lık dNTP'lerden (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) 10' ar μl alınıp (toplam 40 μl) 1 μl'lik tüpe kondu ve üzerine 960 μl distile su eklenerek (d₂H₂O) 1000 μl 1mM 'lık dNTP karışımı hazırlandı ve -20 °C derin dondurucuda saklandı. PCR reaksiyonuna bu stoktan alınan dNTP karışımı kullanıldı.

3.5.4.1. PCR Karışımının Hazırlanışı

Toplam reaksiyon hacmi 25 µl olacak şekilde, Tablo3-1'deki bileşenler sırası ile 0,5 ml'lik steri tüpe konuldu. 10 örnek çalışılacak ise pozitif ve negatif kontrol için birer tane ve pipetleme hataları için de bir tane olmak üzere toplam 13 üzerinden reaksiyon karışımı hazırlandı.PCR karışımının hazırlanma işlemlerinin hepsi buz üzerinde soğukta ve steril kabin içerisinde yapıldı.

Tablo 3-1 : PCR karışımının hazırlanması :

Malzemeler	İlk konsantrasyon	Son konsantrasyon	Kullanılan hacim	10 + 3' lük reaksiyon
PCR Tamponu	10 X	1X	3 µl	39µl
dNTP	1mM	200 µM	3 µl	39µl
İleri primer	100pmol/µl	4 pmol/µl	1.2µl	15.6 µl
Geri primer	100pmol/µl	4 pmol/µl	1.2 µl	15.6 µl
MgCl ₂	25 mM	-	1,2 µl	15.6µl
Taq polimeraz	5U/ µl	1 U	0,5 µl	6.5 µl
Distile su	-	-	12.9Sµl	167.7µl
DNA	-	150-200 ng.	2 µl	-

Taq polimeraz eklendikten sonra hiç vakit kaybetmeden tüp içine konan bileşenlerin iyice karışması için pipetleme işlemi yapıldı. Örnek sayısı kadar 0,2 ml'lik tüplere 23 µl reaksiyon karışımı dağıtıldı. Daha sonra her tüpe 2 µl DNA eklenerek yeniden pipetleme yapıldı ve daha önceden 95 °C sıcaklığa çıkarılmış PCR cihazına(Techne Mini Termal Cyler)örnekler yerleştirildi ve PCR işlemi başlatıldı.

3.5.5. PCR Şartları

CDKN1A Ser31Arg (C>A) ve C+20T Gen Polimorfizmlerini tespit etmek için kullanılan ileri ve geri primerler için annealing derecesi optimize edilerek 57.2 °C sıcaklık kullanıldı (144) (Tablo 3-2).

CDKN1B C-79T ve Val109Gly (T>G) Gen Polimorfizmlerini tespit etmek için kullanılan ileri ve geri primerler için annealing derecesi optimize edilerek 60°C sıcaklık kullanıldı (145) (Tablo 3-3).

Tablo 3-2 : Ser31Arg (C>A) ve C+20T Gen Polimorfizmleri Pcr Koşulları

94 °C	5 dakika	
94 °C 57,2°C 72°C	30 saniye 30 saniye 30 saniye	35 döngü
72°C	7 dakika	

Tablo 3-3 : C-79T ve Val109Gly (T>G) Gen Polimorfizmleri PCR Koşulları

95 °C	5 dakika	
94 °C 60 °C 72°C	15 saniye 30 saniye 1dakika	35 döngü
72°C	5 dakika	

3.5.6. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİNDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE GEREÇLER

5X TBE (Tris Buffer EDTA) Stok Tampon Hazırlanışı :

54gr Tris base (Sigma, T-8524) ve 27,5 gr. Borik asit (Sigma, B-6768) tartılarak 800 ml distile suda çözüldü. Üzerine 20 ml 0,5 M EDTA (pH :8,0) ilave edildikten sonra 1000 ml'ye tamamlandı. Elektforezde stok 5X TBE tamponundan hazırlanan 1 X TBE kullanıldı.

Yükleme Tamponu (Loading Buffer : 6X)

Yükleme tamponu (loading buffer) olarak %40 sükröz + %0,25 bromfenol mavisi karışımı kullanıldı.

%2'lik Agaroz Jel Hazırlanması:

- 4 gr. agaroz (Sigma) tartılarak erlen içine konuldu. Üzerine son hacim 200 ml. olacak şekilde 1X TBE tamponu eklenerek, mikrodalga fırında kaynatma yolu ile çözüldürüldü.
- Erlenin sıcaklığı elle tutulabilecek sıcaklığa düştüğünde (50-55°C) çözülmüş agaroz jel içine 4,5 µl etidyum bromür (10mg/ml) ilave edildi.
- Hazırlanan jel yatay jel yatağı içine dökülerek, yüklem kuyucuklarının oluşması için tarak yerleştirilerek donmaya bırakıldı.
- Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çıkarıldı ve jel örnek yüklenmesi için hazır duruma geldi.

3.5.6.1. PCR Ürünlerinin %2'lik Jele Yüklenmesi:

- %2'lik jel hazırlandıktan sonra 1X TBE tamponu içeren jel tankı içine uygun şekilde konuldu.
- Agaroz jelin üzerini 2-3 ml gelecek şekilde 1X TBE tamponu jel üzerine eklendi.
- 7 µl PCR ürününe, 3 µl yüklem tamponu (6X) eklenip pipetleme yapılarak karıştırıldı. 10 µl'lik örnek karışımı kuyucuklara sırasıyla yüklendi.

Yükleme işleminden sonra jel tankının kapağı kapatıldı. Güç kaynağı (E-C apparatus Corporation, E-C4000P) 250 miliamper 120 volt elektrik gücüne ayarlanarak elektroforez jel yürütülmesi gerçekleştirildi.

3.5.6.2. PCR Ürünlerinin Kontrolü:

CDKN1A ve CDKN1B ilgili gen bölgeleri ile ilgili PCR ürünlerinin oluşup oluşmadığını kontrol etmek amacıyla PCR tüplerinden alınan 7 µl örnek 3 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak yukarıda tanımlanan elektroforez sisteminde yürütüldü. Yürütme işleminden sonra jel UV ışık altında (304 nm dalga boyunda) PCR ürünleri incelendi ve fotoğrafı UV transillüminator düzeneğinde çekildi.

3.5.7. CDKN1A GEN POLİMORFİZMLERİNDE ENZİM KESİMİ

3.5.7.1. CDKN1A (Ser31Arg (C>A) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

Amplifiye olan PCR ürünleri Blp I enzimi 37 °C'de 16 saat kesilmiştir. Kesim işleminde bir örnek için 10 µl PCR amplifikasyon ürünü, 9 ul distile su, 1µl 10x buffer kullanılmıştır.

Tablo 3-4 : CDKN1A (Ser31Arg (C>A) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

Malzemeler	İlk konsantrasyon	Son konsantrasyon	Eklenen hacim
PCR ürünü			10 µl
Distile su			9µl
10X Buffer R Tamponu	10 X	0,8 X	1µl
Blp I enzimi	10 U/µl	5 U/µl	0,5 µl

Toplam :20,5 µl

3.5.7.2. CDKN1A C+20T Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

Amplifiye olan PCR ürünleri Pst1 enzimi 37 °C’de 16 saat kesilmiştir. Kesim işleminde bir örnek için 10 µl PCR amplifikasyon ürünü, 9 ul distile su, 1 µl 10x buffer kullanılmıştır.

Tablo 3-5 : CDKN1A C+20T Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

Malzemeler	İlk konsantrasyon	Son konsantrasyon	Eklenen hacim
PCR ürünü			10 µl
Distile su			9µl
10X Buffer R Tamponu	10 X	0,8 X	1µl
Pst1enzimi	10 U/µl	5 U/µl	0,5 µl

Toplam :20,5 µl

3.5.7.3. CDKN1B C-79T Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

Amplifiye olan PCR ürünleri Hae III enzimi ile 37 °C’de 16 saat kesilmiştir. Kesim işleminde bir örnek için 10 µl PCR amplifikasyon ürünü, 9 ul didistile su,1 µl 10x buffer kullanılmıştır.

Tablo 3-6 : CDKN1B C-79T Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

Malzemeler	İlk konsantrasyon	Son konsantrasyon	Eklenen hacim
PCR ürünü			10 µl
Distile su			9µl
10X Buffer R Tamponu	10 X	0,8 X	1µl
Hae III enzimi	10 U/µl	5 U/µl	0,5 µl

Toplam :20,5 µl

3.5.7.4. CDKN1B Val109Gly (T>G) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

Amplifiye olan PCR ürünleri Bgl I enzimi ile 37 °C'de 16 saat kesilmiştir. Kesim işleminde bir örnek için 10 µl PCR amplifikasyon ürünü, 9 ul didistile su, 1 µl 10x buffer kullanılmıştır.

Tablo 3-7 : CDKN1B Val109Gly (T>G) Gen Polimorfizminin Tespitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

Malzemeler	İlk konsantrasyon	Son konsantrasyon	Eklenen hacim
PCR ürünü			10 µl
Distile su			9µl
10X Buffer R Tamponu	10 X	0,8 X	1µl
Bgl I enzimi	10 U/µl	5 U/µl	0,5 µl

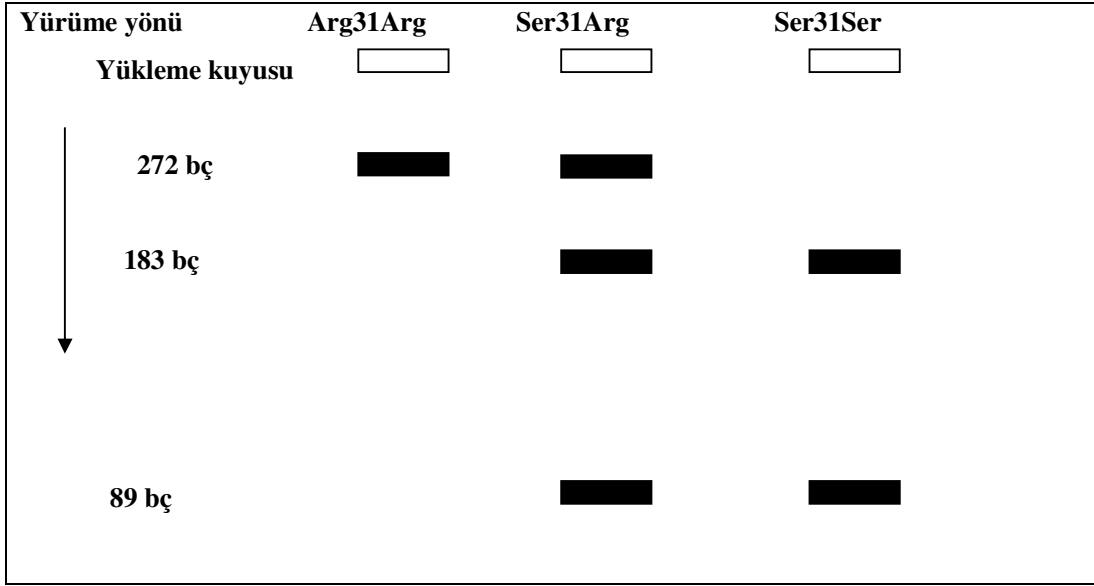
Toplam :20,5 µl

3.5.8. CDKN1A Ser31Arg,C+20T ve CDKN1B C-79T, Val109Gly Gen Polimorfizmlerinin Değerlendirilmesi ve Kontrolü

- %2lik agaroz jel hazırlandı.
- İlgili kesim enzimleri ile kesilen PCR ürünlerinden 8 µl ve yükleme tamponundan 2 µl alınarak karıştırılıp %2'lik agaroz jeldeki kuyulara yükleme yapıldı.
- Kesim ürünleri (Fermentas PUC 19, 50 bp marker veya 100 bp marker) DNA moleküler marker ile birlikte yürütüldü.
- Yürütme sonrası jel üzerindeki bantlar, UV ışık (304 nm) altında incelendi.

3.5.8.1. CDKN1A Ser31Arg Gen Polimorfiziminin Değerlendirilmesi

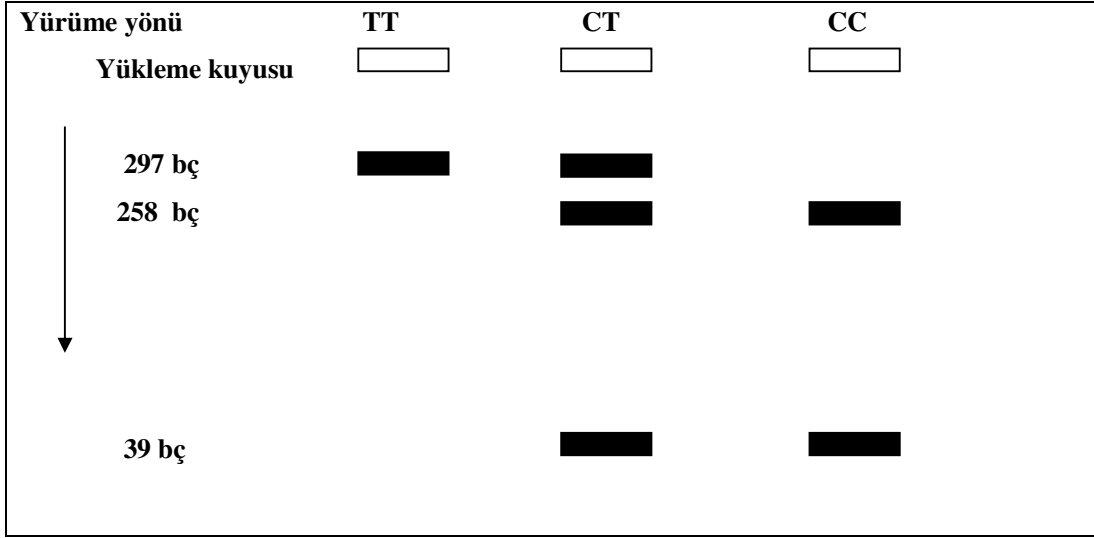
Uygun koşullar altında B1p I enzimi ile kesilen PCR ürünlerinden Ser31Arg mutasyonu içermeyenler 272 bç büyüklüğünde tek bant verirken, homozigot Arg31Arg genotipi içeren PCR ürünleri, enzim kesimi sonrası kesilmeden kalan 272 bç lik tek bant, homozigot Ser31Ser genotipi 183 bç ve 89 bç olmak üzere iki bant vermektedir. Heterozigot Ser31Arg mutasyonu içermeye durumunda ise PCR ürünleri 272,183 ve 89 bç olmak üzere her üç bandı da içermektedir (Şekil 3-1).



Şekil 3-1 : CDKN1A Ser31Arg Gen Polimorfiziminin Şematik Jel Görüntüsü

3.5.8.2. CDKN1A C+20T Gen Polimorfiziminin Değerlendirilmesi

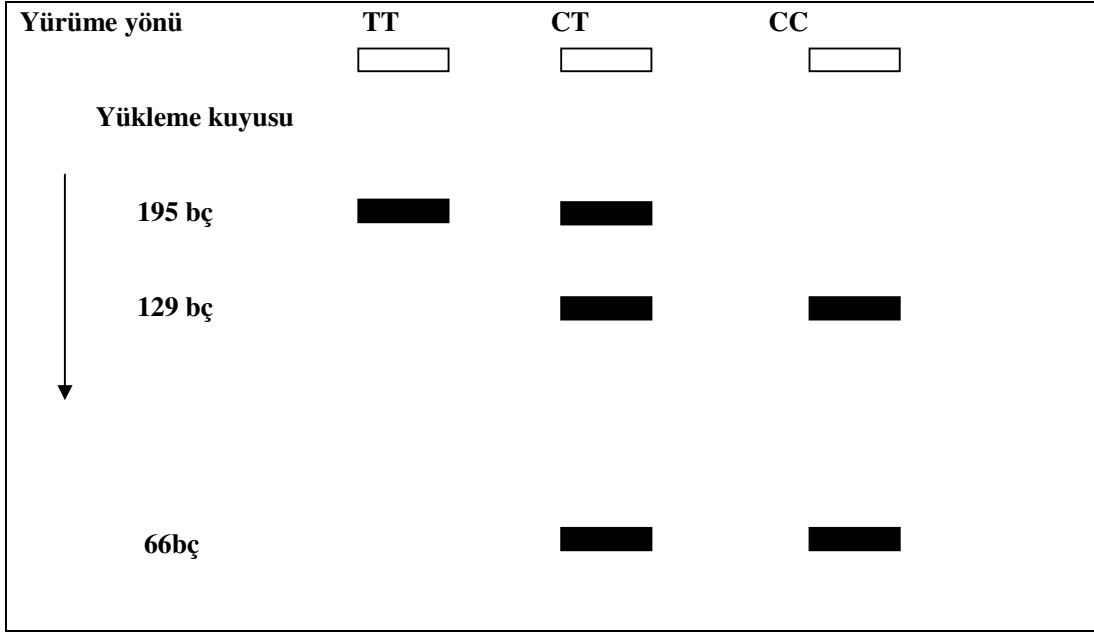
Uygun koşullar altında Pst I enzimi ile kesilen PCR ürünlerinden T alleleline sahip örnekler 297 bç büyüklüğünde tek bant verirken, homozigot C alleleline sahip mutasyon içermeyen PCR ürünleri, enzim kesimi sonrası 258 ve 39 bç olmak üzere iki bant verir. Heterozigot yani CT genotipine sahip mutasyonlu PCR ürünleri ise 297, 258 ve 39 bç olmak üzere her üç bandı da içerir (Şekil 3-2).



Şekil 3-2: CDKN1A C+20T Gen Polimorfiziminin Şematik Jel Görüntüsü

3.5.8.3. CDKN1B C-79T Gen Polimorfiziminin Değerlendirilmesi

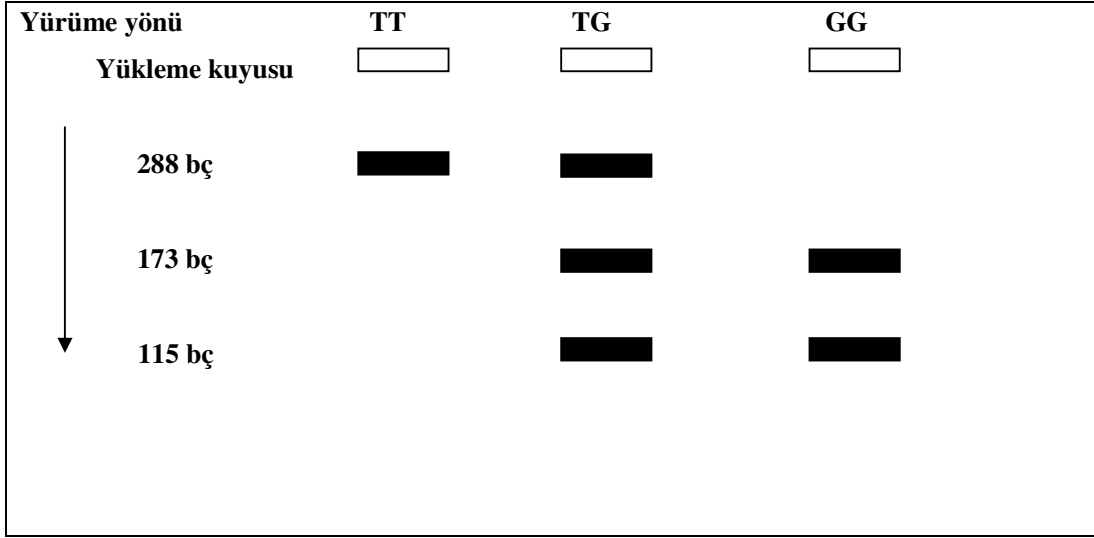
Uygun koşullar altında Hae III enzimi ile kesilen PCR ürünlerinden mutasyon içeren TT allele sahip örnekler 195 bç büyüklüğünde tek bant verirken, homozigot C allele sahip mutasyon içermeyen PCR ürünleri enzim kesimi sonrası 129 ve 66 bç olmak üzere iki bant verir. Heterozigot yani CT genotipine sahip mutasyonlu PCR ürünleri ise 195, 129 ve 66 bç olmak üzere her üç bandı da içerir (Şekil 3-3).



Şekil 3-3 : CDKN1B C-79T Gen Polimorfizimi Şematik Jel Görüntüsü

3.5.8.4. CDKN1B Val109Gly (T>G) Gen Polimorfiziminin Değerlendirilmesi

Uygun koşullar altında Bgl I enzimi ile kesilen PCR ürünlerinden mutasyon içermeyen T alleleline sahip örnekler 288 bç büyüklüğünde tek bant verirken, Homozigot G alleleline sahip mutasyon içeren PCR ürünleri, enzim kesimi sonrası 173 ve 115 bç olmak üzere iki bant verir. Heterozigot yani TG genotipine sahip mutasyonlu PCR ürünleri ise 288,173 ve 115 bç olmak üzere her üç bandı da içerir (Şekil 3-4).



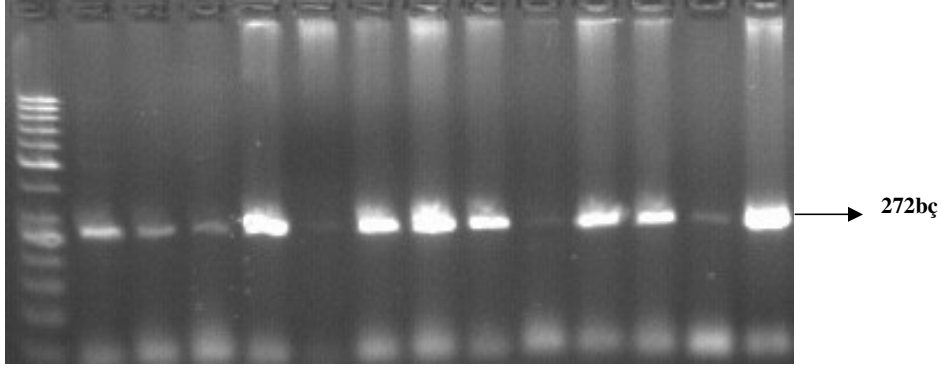
Şekil 3-4 : CDKN1B Val109Gly (T>G) Gen Polimorfizimi Şematik Jel Görüntüsü

4. BULGULAR

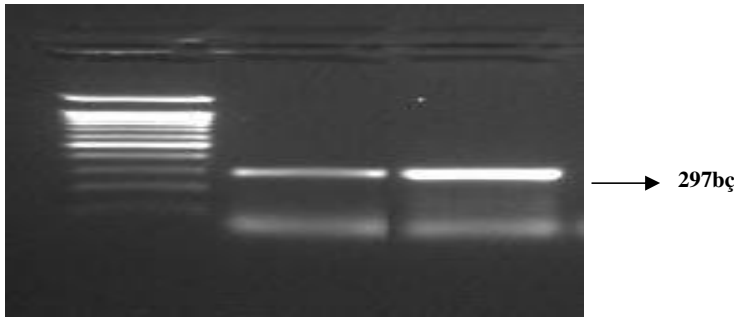
4.1. PCR ÜRÜNLERİNİN KONTROLÜNE AİT BULGULAR

4.1.1. CDKN1A (Ser31Arg) ve C+20T Pcr Ürünlerine Ait Bulgular

CDKN1A gen bölgesinin her iki polimorfizmine ait pcr ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edildi. Agaroz jelde Ser31Arg polimorfizminin tespiti için 272 (Şekil 4-1) ve C+20T polimorfizminin tespit edilmesi için 297 bç'lik özgül PCR ürününe ait bantlar elde edildiği gözlemlendikten sonra 272 bç'lik (Ser31Arg) bandının Bln I, 297 bç'lik (C+20T) bandının ise Pst I enzimi ile kesimi gerçekleştirildi (Şekil 4-2).



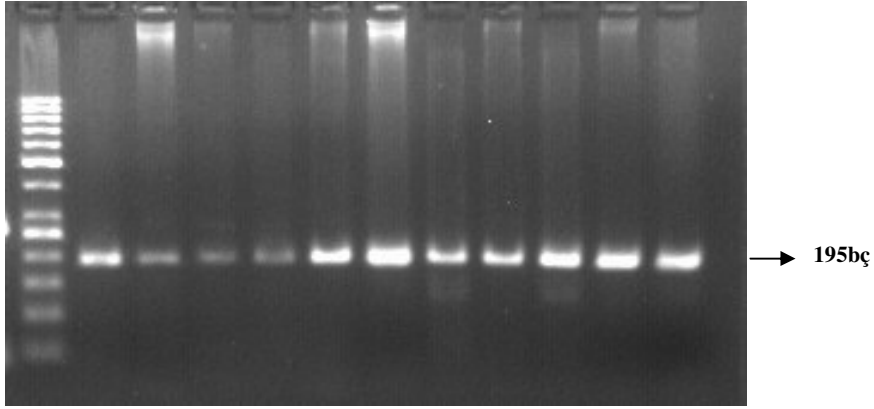
Şekil 4-1:CDKN1A (Ser31Arg)PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.(50 bç markır)



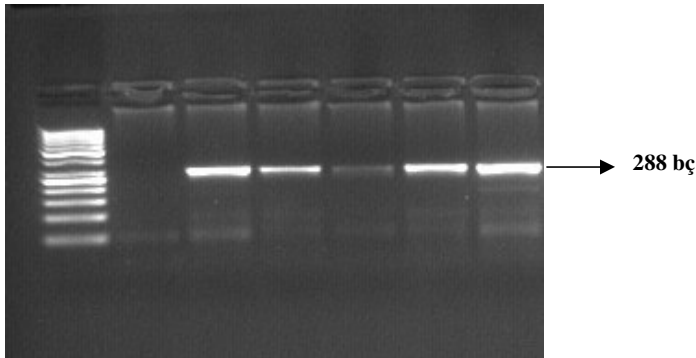
Şekil:4-2 CDKN1A (C+20T) PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü (100 bç markır)

4.1.2. CDKN1B C-79T, Val109Gly Pcr Ürünlerine Ait Bulgular

CDKN1B gen bölgesinin her iki polimorfizmine ait pcr ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edildi. Agaroz jelde C-79T polimorfizminin tespiti için 195(Şekil 4-3), ve Val109Gly polimorfizminin tespit edilmesi için 288 bç'lik özgül PCR ürününe ait bantlar elde edildiği gözlemlendikten sonra 195 bç'lik (C-79T) bandının Hae III, 288bç'lik (Val109Gly) bandının ise Bgl I enzimi ile kesimi gerçekleştirildi (Şekil 4-4).



Şekil 4-3: CDKN1B (C-79T) PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü (50 bç markır)

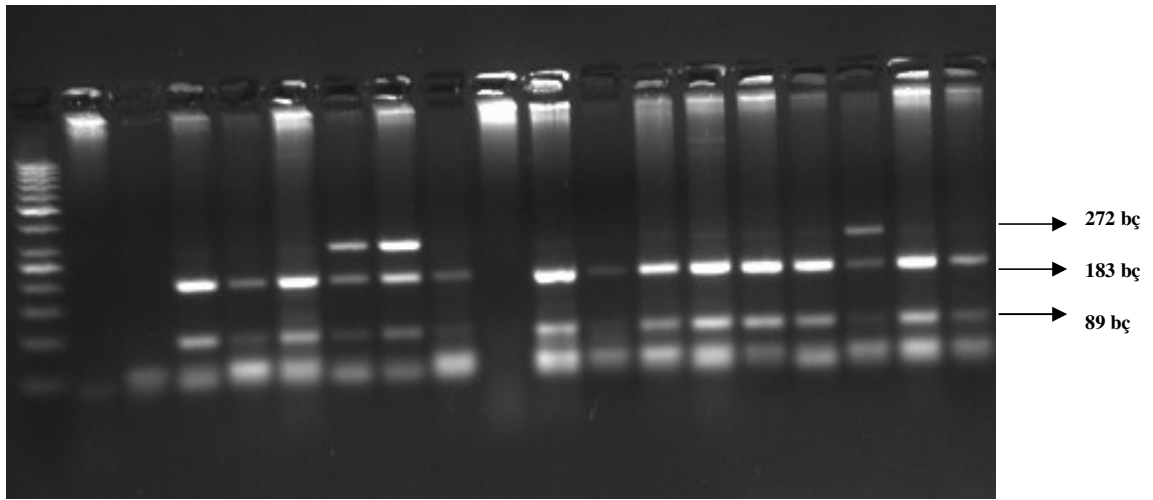


Şekil 4-4: CDKN1B (Val109Gly) PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü(50 bç markır)

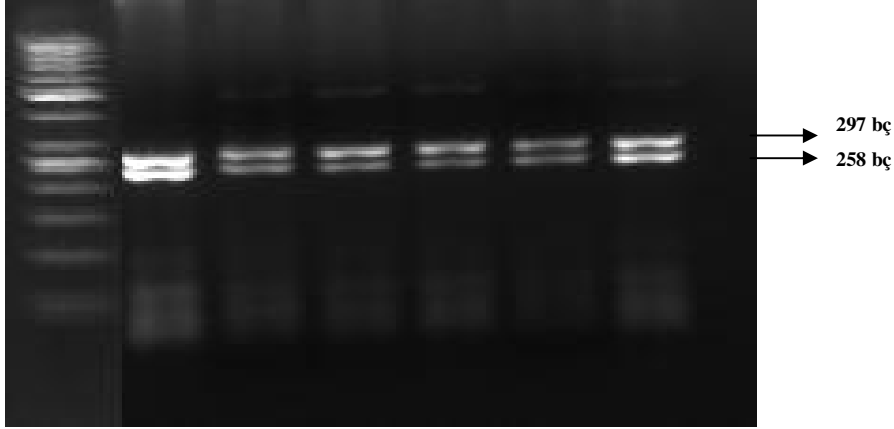
4.2. KESİM ÜRÜNLERİNİN KONTROLÜNE AİT BULGULAR

4.2.1. CDKN1A (Ser31Arg) ve C+20T Kesim Ürünlerine Ait Bulgular

CDKN1A (Ser31Arg) ve C+20T pcr ürünleri %2'lik agaroz jele yüklenip kontrol edildikten sonra, (Ser31Arg) pcr ürünlerine BlnI ve C+20T pcr ürünlerine PstI enzimiyle kesim uygulandı. Kesim sonrası elde edilen ürünler %2'lik agaroz jel elektroforez yöntemiyle yürütüldü. Ser31Arg polimorfizminde BlnI enzimi ile kesilmeden kalan 272 bç'lik tek banda sahip örnekler (Arg31Arg) homozigot mutant olarak, BlnI enzim kesimi olan ve agaroz jel elektroforezde 183 bç ve 89 bç'lik iki bant veren örneklerde homozigot doğal (wild) tip olarak (Ser31Ser) şeklinde değerlendirilirken, 272 bç, 183bç ve 89 bç olmak üzere üç bant veren örnekler ise heterozigot mutant (Ser31Arg) olarak değerlendirildi (Şekil 4-5). C+20T polimorfizminde PstI enzimi ile kesilmeden kalan 297 bç'lik tek band veren örnekler homozigot mutant (TT) olarak değerlendirilirken, PstI enzim kesimi gerçekleşen ve agaroz jel elektroforezde 258 bç ve 39 bç'lik iki bant veren örneklerde doğal- (wild) tip homozigot (CC), 297 bç, 258bç ve 39 bç olmak üzere üç bant veren örnekler ise heterozigot mutant (TC) olarak değerlendirildi (Şekil 4-6).



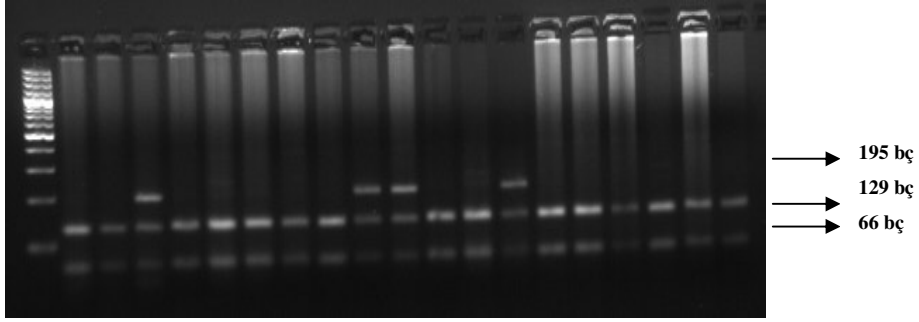
Şekil 4-5: CDKN1A (Ser31Arg) Kesim Ürünlerine Ait Bulgular (50bç markır)



Şekil 4-6: CDKN1A C+20T Kesim Ürünlerine Ait Bulgular (50 bç markır)

4.2.2. CDKN1B C-79T, Val109Gly Kesim Ürünlerine Ait Bulgular

CDKN1B C-79T, Val109Gly pcr ürünleri %2'lik agaroz jele yüklenip kontrol edildikten sonra, C-79T pcr ürünlerine Hae III ve Val109Gly pcr ürünlerine BglI enzimiyle kesim uygulandı. Kesim sonrası elde edilen ürünler %2'lik agaroz jel elektroforez yöntemiyle yürütüldü. C-79T polimorfizminde Hae III enzimi ile kesilmeden kalan 195 bç'lik tek band veren örnekler homozigot mutant (TT) olarak, Hae III enzim kesimi gerçekleşen ve agaroz jel elektroforezde 129bç ve 66 bç'lik iki band veren örneklerde doğal (wild) tip homozigot (CC) şeklinde değerlendirilirken , 195bç, 129 bç ve 66 bç olmak üzere üç band veren örnekler ise heterozigot mutant (CT) olarak değerlendirildi (Şekil 4-7). Val109Gly polimorfizminde Bgl I enzimi ile kesilmeden kalan 288 bç'lik tek band veren örnekler doğal (wild) tip (TT) olarak değerlendirilirken, Bgl I enzim kesimi gerçekleşen ve agaroz jel elektroforezde 173 bç ve 115 bç'lik iki band veren örneklerde homozigot mutant (GG) , 288 bç, 173 bç ve 115 bç olmak üzere üç band veren örnekler ise heterozigot mutant (TG) olarak değerlendirildi (Şekil 4-8).



Şekil 4-7: CDKN1B (C-79T) Kesim Ürünlerine Ait Bulgular (100bç markır)



Şekil 4-8: CDKN1B (Val109Gly) Kesim Ürünlerine Ait Bulgular(100bç markır)

Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistiksel Hesaplar

Bu çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS 7.5 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak alınmış olup CDKN1A (Ser31Arg,C+20T) CDKN1B (C-79T, Val109Gly) genotip ile allellerinin görülme sıklığının, gruplar arası farklılıklarla beraber değerlendirilmesinde Ki kare (χ^2), sayısal verilerin analizi için ise student-t testi kullanılmıştır.

4.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONRASINDA ELDE EDİLEN BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen kolorektal kanserli hasta ve kontrol grubuna ait özellikler Tablo 4-1 'de verilmiştir. Buna göre kolorektal kanserli hastalar ile kontrol grubu arasında yaş ve cins parametreleri açısından istatistiksel anlamlılık mevcut değildi ($p=0.309$; 0.251). Bu verilere göre, kolorektal kanserli hasta grubunda (%56) kontrol grubuna göre (%45) erkek bireylerin daha çoğunlukta olduğu saptanmış olup, fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çalışmamıza dahil edilen kolorektal kanserli hastalar ve kontrol grubu sigara kullanımı açısından değerlendirildiğinde, kolorektal kanserli hasta grubundaki bireylerde sigara kullanımının (%10) kontrol bireylere göre daha yüksek (%3.3) olduğu saptanmış, ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,242$; odds ratio (OR) 3.0; %95 CI : 0.608-14.804). Çalışmamızda yer alan kolorektal kanserli ve kontrol bireylerin ailelelerinde 1.derecede ya da ikinci dereceden kanser hikayesi bulunmamaktaydı. Gerek kolorektal kanserli, gerekse sağlıklı kontroller, alkol kullanımı açısından ele alındıklarında, kolorektal kanserli hastalardan hiçbirinin alkol kullanmadığı, kontrol bireylerden ise sadece 1 tanesinin alkol kullandığı verisine ulaşıldı.

Tablo 4-1: Çalışma gruplarına ait veriler

	KONTROL n= 60	KOLOREKTAL KANSERLİ HASTALAR n= 50	p
Cins			
Kadın, n (%)	33 (55)	22 (44)	0.251
Erkek, n(%)	27 (45)	28 (56)	
Yaş Ortalamaları (yıl)	57.18±11.52	61.57±14.34	0.097
Sigara kullanımı			
içenler, sayı (%)	2 (3.3)	5 (10)	0.242
içmeyenler , sayı (%)	58 (96.7)	45 (90)	
Kilo (kg)	74.08±10.77	72.61±13.38	0.695
Boy (m)	1.67±0.07	1.65±0.082	0.392
VKI (kg/m2)	26.64±4.61	26.56±4.41	0.959

n: birey sayısı; tablodaki değerler $X \pm SD$ olarak verilmiştir; gruplararası analiz student t testi ve Kikare (χ^2) ile gerçekleştirilmiştir..

Çalışma grubumuza dahil edilmiş olan kolorektal kanserli hastaların %56'sı erkek %44'ü kadınlardan oluşmaktaydı. Kolorektal kanserli erkek hastaların kilo, boy VKİ'lerinin değerlerinin kadın hastalara göre yüksek olduğu saptanmıştır. Hasta grubunda kilo ve boy parametreleri arasındaki erkeklerde ($78 \pm 8.9; 1.70 \pm 0.43$ 26.79) kadınlara göre ($64.14 \pm 15.43; 1.56 \pm 0.039$) gözlenen bu farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu (sırasıyla $p=0.027$; $p=0.0001$). VKİ değerleri erkek (26.79 ± 3.13) ve kadınlar (26.22 ± 6.22) arasında gözlenen farkın ise istatistiksel anlamlılığa ulaşmadığı bulunmuştur ($p=0.828$). Hastaların %23.7'si 50 yaşından küçük olup %76.3'ü 50 yaşından büyüktü. %3.1'inde insitu karsinom görülürken, % 6.3'inde tümör T1 evresinde, %15.6'sında T2, %59.4'ünde T3 ve %15.6'sında T4 evresindeydi. Tümör lokalizasyonu %14.7 sinde sol kolon, %14.7'sinde sağ kolon ve %17.6'sinde rektosigmoid, % 8.8 inde transvers kolon, %44.1 inde ise rektumda yer almaktaydı. Hastalar lenf nodu tutulumu bakımından değerlendirildiğinde N0 %51.6, N1 %29 ,N2 %16.1, N3 %3.2 şeklinde bir dağılım görülmekteydi. Kolorektal kanserli hastalar histolojik evrelendirmeye göre değerlendirildiğinde % 20.8'i iyi differansiye,% 62.5'i orta differansiye, %16.7'si ise az differansiye tümörlerdi. Hasta grubumuzun %66.7 'sinde konstipasyon, %10'unda

perforasyon, %20sinde obstrüksiyon,%20.7'sinde karsinoid bölgede adenom,%20 sinde karsinom dışı polip varlığı, %25 inde ise adenom, %10'nunda ülseratif kolit mevcuttu.. Kolorektal kanserli hastalarımızın hiçbirinde Crohn mevcut olmayıp, %29.4 hastanın tümör patolojisinde müsinoz komponent saptanmıştı.Hastaların %15.2'sinde metastaz izlenmiş olup, %39.4'ünde anjiyolenfatik invazyon bulunmaktaydı. % 36.4'ünde perinöral invazyon bulunmaktaydı. Kolorektal kanserli hastaların %6'sında diyabet bulgusu mevcuttu.

Tablo 4-2 CDKN1A Ser31Arg ve C+20T gen polimorfizmlerine ait genotip ve allel dağılımları

Genotipler ve Alleller	Kolorektal Kanserli Hastalar n(%)	Kontroller n(%)	Kikare değeri	p	OR %95 Güven Aralığı (CI)
<i>CDKN1A</i>					
<i>C+20T</i>					
TT	2(4)	6(10)		0.380	
CT	25(50)	32(53.3)			
CC	23(46)	22(36.7)			
<i>TT+CT</i>	27(54)	38(63.3)	0.983	0.322	0.680(0.316-1.460)
CC	23(46)	22 (36.7)			
<i>CT+CC</i>	48(96)	54(90)	1.456	0.288	2.667(0.514-13.842)
TT	2(4)	6(10)			
<i>CDKN1A</i>					
<i>Ser31Arg</i>					
Arg/Arg	1(2)	4(6.7)		0.036*	
Ser/Arg	10(20)	23(38.3)			
Ser/Ser	39(78)	33(55)			
<i>Arg/Arg+Ser/Arg</i>	42(84)	57(95)	3.667	0.056	0.276(0.069-1.104)
Ser/Ser	8(16)	3(5)			
<i>Ser/Ser+Ser/Arg</i>	49(98)	56(93.3)	1.369	0.374	3.500(0.378-32.374)
Arg/Arg	1(2)	4(6.7)			

n:birey sayısı; gruplararası analiz Kikare (χ^2) testi ile gerçekleştirilmiştir.

CDKN1A ve CDKN1B gen polimorfizmi sonuçları değerlendirildiğinde, genotip dağılımı açısından çalışma grubumuzda *CDKN1A C+20T* genotiplerinin dağılımında kontrol grubu ve kolorektal kanserli hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($\chi^2=1.989$; $p=0,380$). *CDKN1A C+20T* gen polimorfizminde TT ve CT genotipleri kolorektal kanserli hastalarda (%54), kontrol grubuna göre düşük frekansta gözlenmiş (%63.3) olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir ($\chi^2=0.983$; $p=0.322$, OR:0.680, %95CI: 0.316-1.460). *CDKN1A C+20T* gen polimorfizminde CT ve CC genotipleri kolorektal kanserli hastalarda (%96), kontrol grubuna göre yüksek frekansta gözlenmiş (%90) olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmamıştır ($\chi^2=1.456$; $p=0.288$, OR:2.667, %95 CI: 0.514-13.842) (Tablo 4-2).

CDKN1A Ser31Arg genotiplerinin dağılımı ise kolorektal kanserli hasta ile kontrol grubumuz arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık göstermiştir ($p=0.036$). Kolorektal kanserli hastalarımızda CDKN1A Ser31Arg polimorfizmine ait Ser/Ser ve Ser/Arg genotipleri (%98), kontrol grubuna göre (%93.3) daha yüksek frekansta saptanmış olup, fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır ($\chi^2=1.369$, $p=0.374$ OR:3.500, %95CI:0.378-32.374). Kolorektal kanserli hastalarımızda CDKN1A Ser31Arg polimorfizmine ait Arg/Arg ve Ser/Arg genotipleri (%84), kontrol grubuna göre (%95) daha düşük frekansta saptanmış olup, fark istatistiksel anlamlılığa yakın değerdedir ($\chi^2=3.667$; $p=0.056$, OR: 0.276 , %95 CI : 0.069-1.104) (Tablo 4-2).

Tablo 4-3: CDKN1B C-79T ve Val109Gly gen polimorfizmlerine ait genotip ve allel dağılımları

Genotipler ve Alleller	Kolorektal Kanserli Hastalar n(%)	Kontroller n(%)	Kikare değeri	P	OR %95 Güven Aralığı (CI)
<i>CDKN1B</i>					
<i>C-79T</i>					
TT	2(4)	4(6.7)		0.810	
CT	25(50)	28(46.7)			
CC	23(46)	28(46.7)			
TT+CT (T alleli)	27(54)	32(46)	0.005	0.944	1.027(0.484-2.180)
CC	23(46)	28(46.7)			
CC+CT (C alleli)	48(96)	56(93.3)	0.376	0.687	1.714(0.301-9.773)
TT	2(4)	4(6.7)			
<i>CDKN1B</i>					
<i>Val109Gly</i>					
TT	24(48)	28(46.7)		0.540	
TG	22(44)	30(50)			
GG	4(8)	2 (3.3)			
TT+TG (T alleli)	46(92)	58(96.7)	1.152	0.408	0.397 (0.070-2.261)
GG	4(8)	2(3.3)			
GG+TG (G alleli)	26(52)	32(53.3)	0.019	0.889	0.948 (0.447-2.010)
TT	24(48)	28(46.7)			

n:birey sayısı; Gruplararası analiz Kikare (χ^2) testi ile gerçekleştirilmiştir.

CDKN1B C-79T genotiplerinin dağılımında kontrol grubu ve kolorektal kanserli hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($\chi^2=0.421$; p=0, 810). *CDKN1B C-79T* gen polimorfizminde TT ve CT genotipleri kolorektal kanserli hastalarda (%54), kontrol grubuna göre yüksek frekansta gözlenmiş (%46) olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir ($\chi^2=0.005$; p=0.944, OR:1.027,%95 CI: 0.484-2.180). *CDKN1B C-79T* gen polimorfizminde CT ve CC genotipleri kolorektal kanserli hastalarda (%96), kontrol grubuna göre yüksek frekansta gözlenmiş (%93.3.) olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($\chi^2=0.376$;p=0.687, OR1.714, %95 CI 0.301-9.773) (Tablo 4-3).

CDKN1B Val109Gly genotiplerinin dağılımı, kolorektal kanserli hasta ile kontrol grubumuz arasında farklılık göstermemiştir ($\chi^2=1.307$; $p=0.540$). Kolorektal kanserli hastalarımızda *CDKN1B Val109Gly* polimorfizmine ait TT ve TG genotipleri (%92), kontrol grubuna göre (%96.7) daha düşük frekansta saptanmış olup, fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır ($\chi^2=1.152$; $p=0.408$, OR:0.397, %95CI:0.070-2.261). Kolorektal kanserli hastalarımızda *CDKN1B Val109Gly* polimorfizminde GG ve TG genotipleri (%52), kontrol grubuna göre (%53.3) fark göstermemiş olup, istatistiksel olarak da anlamlı değildir ($\chi^2=0.019$; $p=0.889$, OR: 0.948 ,%95 CI: 0.447-2.010) (Tablo 4-3).

Çalışma grubumuzdaki CDKN1A ve CDKN1B genotiplerinin allel frekansını belirlemek için gen sayım metodunu kullandık. Buna göre, çalışma grubumuzdaki CDKN1A C+20T ile CDKN1A Ser31Arg, CDKN1B C-79T ile CDKN1B Val109Gly allelik frekansları kolorektal kanserli hasta ve kontrol grubunda sırasıyla şu şekildedir: CDKN1A polimorfizmi için T : %29 ve %36.6 , C: %71 ve %63.3 ile Ser: %88 ve %74.1; Arg: %12 ve %25.8, CDKN1B polimorfizmi için T:% 29 ve %30, C:%71 ve %70 ile T:%70 ve % 71.6 , G:%30 ve %28.3 olarak saptanmıştır (Tablo 4-3)

Tablo 4-4: CDKN1A (Ser31Arg,C+20T) ve CDKN1B (C-79T ,Val109Gly) variant allel taşıma kombinasyonu

Varyant Alleller CDKN1A/CDKN1B	Kolorektal Kanserli Hastalar n(%)	Kontroller n(%)	Kikare değeri	P	OR %95 Güven Aralığı (CI)
3≤ variant allele taşıma	12 (24)	17(28.3)	0.264	0.608	0.799 (0.339-1.884)
3> variant allele taşıma	38(76)	43(71.7)			
2≤ variant allele taşıma	33 (66)	47(78.3)	2.092	0.148	0.537 (0.230-1.254)
2> variant allele taşıma	17(34)	13 (21.7)			
1≤ variant allele taşıma	44 (88)	59(98.3)	4.887	0.045*	0.124(0.014-1.070)
0 variant allele taşıma	6(12)	1(1.7)			

n:birey sayısı; gruplararası analiz Kikare (χ^2) testi ile gerçekleştirilmiştir.

CDKN1A ve CDKN1B allel frekansları sonuçlarına göre, kolorektal kanserli hastalarda CDKN1A için C ve Ser alleli, CDKN1B için C ve G alleli kontrole daha yüksek frekansta saptanmış olup, hasta ve kontrol grubunda bu allelleri bir arada taşıma durumu, varyant alleller olarak kabul edilen CDKN1A T alleli ve Arg alleli ile CDKN1B T alleli ve G alleline göre değerlendirmeye alınmıştır. Bu analiz sonucunda iki ve ikiden fazla varyant allel taşıma durumu incelendiğinde, kolorektal kanserli hastalarda 2 veya ikiden fazla allel taşıma (%34) kontrole göre (%21.7) daha yüksek frekansta gözlenmiş olup, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.148$). Kolorektal kanserli hastalarda üç ve üçten fazla varyant allel taşıyanlar (%24) kontrol bireylere göre (%28.3) çok hafif bir düşme gözlenmiştir, fark da istatistiksel anlamlı olarak saptanmamıştır ($p=0.608$). Hiç varyant allel taşımama durumu ise kolorektal kanserli hastalarda (%12) kontrol grubuna göre (%1.7) daha yüksek olarak saptanmış olup, aynı zamanda en bir varyant allel taşıma durumuna bakıldığında kolorektal kanserli hastalarda (%88) kontrole göre (%98.3) daha düşük bulunmuştur, farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p=0.045$, OR:0.124, %95CI: 0.014-1.070) (Tablo 4-4).

Tablo 4-5: CDKN1A (C+20T) Allel Dağılımları ile Hastaların Klinik , Prognostik Parametrelerinin Değerlendirilmesi

CDKN1A C+20T genotipleri	TT+CT N(%)	CC N(%)	N	P	CC+CT N(%)	TT N(%)	N	P
Cins								
Kadın	14(63.6)	8(36.4)	22	0.264	21(95.5)	1(4.5)	22	1.00
Erkek	13(46.4)	15(53.6)	28		27(96.4)	1(3.6)	28	
Sigara kullanımı								
Sigara içen	1(20)	4(80)	5	0.167	5(100)	0(0)	5	1.00
Sigara içmeyen	26(57.8)	19(42.2)	45		43(95.6)	2(4.4)	45	
Yas								
50<	14(46.7)	16 (53.3)	30	1.00	29(96.7)	1(3.3)	30	1.00
50 ≥	4(50)	4(50)	8		0(0)	8(100)	8	
Tumor								
T3+T4	11(45.8)	13(54.2)	24	1.00	23(95.8)	1(4.2)	24	1.00
T1+T2	4(44.4)	5(55.6)	9		9(100)	0(0)	9	
Lenf nodu tutulumu								
N(+)	8(50)	8(50)	16	0.732	15(93.8)	1(6.3)	16	0.485
N(-)	7(41.2)	10(58.8)	17		17(100)	0(0)	17	
Uzak metastaz								
Var	1(20)	4(80)	5	0.346	5(100)	0(0)	5	1.00
Yok	14(50)	14(50)	28		27(96.4)	1(3.6)	28	
Ülseratif kolit(+)	2(66,7)	1(33,3)	3	0.565	3(100)	0(0)	3	1.00
Ülseratif kolit(-)	11(40,7)	16(59,3)	27		26(96,3)	1(3,4)	27	
Anjiyolenfatik invazyon (+)	6(46.2)	7(53,8)	13	1.00	12(92.3)	1(7.7)	13	0.394
Anjiyolenfatik invazyon (-)	9(45)	11(55)	20		20(100)	0(0)	20	
Perinöral inv. (+)	6(50)	6(50)	12	0.731	12(100)	0(0)	12	1.00
Perinöral inv. (-)	9(42.9)	12(57.1)	21		20(95.2)	1(4.8)	21	
Konstipasyon (+)	7(35)	13(65)	20	0.255	20(100)	0(0)	20	0.33
Konstipasyon (-)	6(60)	4(40)	10		9(90)	1(10)	10	
Perforasyon (+)	1 (50,0)	1(50,0)	2	1.000	2(100)	(0)	2	1.000
Perforasyon (-)	9(50,0)	9(50,0)	18		17(94.4)	1(5.6)	18	
Obstruksiyon (+)	2(50.0)	2(50.0)	4	1.000	4 (100)	0(0)	4	1.000
Obstruksiyon (-)	8(50.0)	8(50.0)	16		15(93.8)	1(6.3)	16	
Farklılaşma iyi	1(20)	4(80)	5	0.611	5(100)	0(0)	5	1.00
Farklılaşma orta/az	8(44.4)	10(55.6)	18		17(94.4)	1(5.6)	18	

n:birey sayısı; gruplararası analiz Kikare (χ^2) testi ile gerçekleştirilmiştir.

Kolorektal kanserli hastalarda CDKN1A C+20T CC genotipi taşımanın erkek hastalarda (%53.6) kadınlara göre (%36.4) daha yüksek olduğu gözlenmiş olup, istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır ($p=0.226$). Hasta grubumuzda CDKN1A C+20T genotiplenmesi ile 50 ve 50 den küçük yaştaki ve 50 den büyük kolorektal kanserli hastalarda anlamlı bir fark elde edilememiştir. CDKN1A C+20 T genotiplenmesi sonrası sigara kullananlarda CC genotipinin (%80) içmeyenlere göre (%42.2) daha yüksek olarak gözlendiği saptanmış olup, istatistiksel anlamlılık mevcut değildir ($p=0.167$). CDKN1A C+20T gen polimorfizmi bölgesel lenf nod metastaz parametresiyle değerlendirildiğinde T alleli taşımanın lenf nod pozitif olan hastalarda (%50), olmayanlara göre (%41.2) daha yüksek saptanmıştır ($p=0.611$), TT genotipi taşımanın ise lenf pozitif (%6.3) olanlarda negatif olma durumuna göre (%0) yüksek olarak saptanmış olup, C alleli taşıma açısından da lenf nod pozitif hastalar ile (%93.8), negatif olanlar (%100) arasında fark gözlenmemiştir ($p=0.485$).

CDKN1A C+20 T genotiplenmesi sonrası T alleli perinöral invazyon var olanlarda (%50) olmayanlara göre (%42.9) daha yüksek, ancak istatistiksel anlamlı bulunmamıştır. ($P=0.731$). CDKN1A C+20T genotiplenmesi sonrasında, anjiyolenfatik invazyon taşıyan hastalarda TT genotipi frekansının (%7.7) ,taşımayanlara göre (%0) daha yüksek olduğu saptanmış olup, istatistiksel anlamlı bulunmamıştır ($p=0.394$).

CDKN1A C+20T gen polimorfizmi sonrası, T allelinin T3 veya T4 evresinde olan hastalarda (%45.8) T1 veya T2 de olanlara göre (%44.4) farklı frekansta gözlenmediği, C alleli açısından da yine T3 veya T4 olanlarda (%95.8) T1 veya T2 olanlarda %100 olarak gözlenmiştir, aradaki farklar ise istatistiksel anlamlı bulunmamıştır.

Karsinom dışı polip varlığı olan hastalarda CDKN1A C+20T CC genotipinin (%83.3), olmayanlara göre (%50) daha yüksek olduğu gözlenmiş olup, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.196$).

CDKN1A C+20 T genotiplenmesi ve uzak metastaz varlığı incelemesinde, uzak metastaz varlığı olan tüm hastaların C alleli taşıdığı gözlenmiş olup, bulgu istatistiksel olarak anlamlı değildir ($P=1.00$).

Tümör farklılaşması açısından kolorektal kanserli hastalar değerlendirildiğinde CDKN1A C+20T genotiplenmesi ile farklılaşma arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 4-5).

Tablo 4-6: CDKN1A (Ser/Arg) Allel Dağılımları ile Hastaların Klinik ,Prognostik Parametrelerinin Değerlendirilmesi

CDKN1A Ser31Arg genotipi	Ser/Ser N(%)	Ser/Arg + Arg/Arg (N%)	N	P	Arg/Arg N(%)	Ser/Ser+ Ser/Arg N(%)	N	P
Cins								
Kadın	4(18.2)	18(81.8)	22	0.718	1(4.5)	21(95.5)	22	0.440
Erkek	4(14.3)	24(85.7)	28		0(0)	28(100)	28	
Sigara kullanımı								
Sigara içen	1(20)	4(80)		1.000	0(0)	5(100)	5	1.000
Sigara içmeyen	7(15.6)	38(84.4)			1 (2.2)	44(97.8)	45	
Yas								
50<	4(13.3)	26(86.7)	30	0.146	1(3.3)	29(96.7)	30	1.000
50 ≥	3(37.5)	5(62.5)	8		0(0)	8(100)	8	
Tumor								
T3+T4	6(25)	18(75)	15		1(4.2)	23(95.8)	24	
T1+T2	0	9(100)	16	0.156	0	9 (100)	9	1.00
Lenf nodu tutulumu								
N(+)	3(18.8)	13 (81.3)	16	1.000	1(6.3)	15(93.8)	16	0.485
N(-)	3(17.6)	14(82.4)	17		0(0)	17(100)	17	
Uzak metastaz								
Var	0(0)	5(100)	5	0.556	0(0)	5(100)	5	1.000
Yok	6(21.4)	22(78.6)	28		1(3.6)	27(96.4)	28	
Ülseratif kolit(+)	0(0)	3(100)	3		0(0)	3(100)	3	
Ülseratif kolit(-)	5 (18.5)	22(81.5)	27	1.000	0(0)	27(100)	27	
Anjiyolenfatik invazyon (+)	3(23.1)	10(76.9)	13	0,659	1(7.7)	12(92.3)	13	0,394
Anjiyolenfatik invazyon (-)	3(15)	17(85)	20		0(0)	20(100)	20	
Perinöral inv. (+)	2(16.7)	10(83.3)	12	1.00	1(8.3)	11(91.7)	12	0,364
Perinöral inv. (-)	4(19)	17(81)	21		0(0)	21(100)	21	
Konstipasyon (+)	3(15)	17(85)	20	1.000	0(0)	20(100)	20	
Konstipasyon (-)	2(20)	8(80)	10		0(0)	10(100)	10	
Perforasyon (+)	1(50)	1(50)	2	0.447	0(0)	2 (100)	2	
Perforasyon (-)	4(22.2)	14(77.8)	18		0(0)	18(100)	18	
Obstrüksiyon (+)	1(25)	3(75)	4		0(0)	4(100)	4	
Obstrüksiyon (-)	4(25)	12(75)	16	1.000	0(0)	16(100)	16	
Farklılaşma iyi	2(40)	3(60)	5	0.291	0(0)	5(100)	5	
Farklılaşma orta/az	3(16.7)	15(83.3)	18		0(0)	18(100)	18	

n:birey sayısı; gruplararası analiz Kikare (χ^2) testi ile gerçekleştirilmiştir.

Kolorektal kanserli hastalarda CDKN1A Ser31Arg taşımanın erkek hastalarda (%100) kadınlara göre (%95.5) daha yüksek olduğu gözlenmiş olup, istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır ($p=0.440$). CDKN1A SerArg, genotipleme ile 50 ve 50 den küçük yaştaki ve 50 den büyük kolorektal kanserli hastalarda anlamlı bir fark elde edilememiştir. Kolorektal kanserli hastalarda CDKN1A SerArg genotipleme sonrası gerek allel gerekse genotip dağılımı açısından anlamlı bir bulguya rastlanmamıştır. Hasta grubumuzda CDKN1A SerArg genotipleme sonuçları sonrası, Ser allelinin T3 veya T4 evresinde olan hastalarda (%95.8) T1 veya T2 de olanlara göre (%100) farklı frekansta gözlenmediği, Arg alleli açısından da yine T3 veya T4 olanlarda (%75) T1 veya T2 olanlarda %100 olarak gözlenmiştir, aradaki farklar ise istatistiksel anlamlı bulunmamıştır. CDKN1A SerArg genotipleme, bölgesel lenf nodu tutulumu açısından incelendiğinde, Arg allelinin nod tutulumu olmayan hastalarda (%82.4) olanlara göre hafif düşük (%81.3) olarak saptanmış, fark istatistiksel anlamlı bulunmamıştır ($p=1.00$) Ser alleli taşıma açısından ise, nod tutulumu olmayan tüm hastaların Ser allelini taşıdıkları gözlenmiş olup, nod metastazı olanların %93.8'i Ser alleli taşımaktaydı. ($p=0.485$). SerArg heterozigot olma durumu göz önüne alındığında ise nod metastazı mevcut olan hastalarda (%31.3) heterozigotluğun, olmayanlara göre (%11.8) daha yüksek olduğu gözlenmiş olup, fark istatistiksel anlamlı bulunmamıştır ($p=0.225$). CDKN1A SerArg gen polimorfizminde, uzak metastaz taşıyan tüm hastaların Ser alleli taşıdığı, taşımayanlarda bu oran %96.4 gözlenmiş olup, uzak metastaz varlığı pozitif olan hiçbir hasta ArgArg genotipi taşımamakta olup, fark anlamlı bulunmamıştır ($P=1.00$). CDKN1A SerArg gen polimorfizmine ait ArgArg genotipi perinöral invazyon varlığında (%8.3) yokluğu durumuna göre daha yüksek Ser alleli taşımanın ise düşük olduğu saptanmış olup, istatistiksel olarak anlamlı veri elde edilememiştir ($p=0.364$). Anjiyolenfatik invazyon varlığı CDKN1A SerArg gen polimorfizmi birlikte değerlendirildiğinde, anjiyolenfatik invazyonu mevcut olanlarda SerSer genotipi (%23.1) olmayanlara göre (%15) daha yüksek, Arg alleli taşımak ise daha düşük olarak saptanmış olup, fark istatistiksel anlamlı değildir ($p=0.659$). CDKN1A SerArg genotip sonuçları ile karsinom dışı alanda polip varlığı arasında herhangi bir anlamlı veriye ulaşılamamış olup, polip varlığı olan tüm hastaların Ser alleli taşıdığı gözlenmiştir. Tümör farklılaşması açısından kolorektal kanserli hastalar değerlendirildiğinde CDKN1A SerArg genotipleme ile farklılaşma arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 4-6).

Tablo 4- 7: CDKN1B (Val109Gly) Allel Dağılımları ile Hastaların Klinik ,Prognostik Parametrelerinin Değerlendirilmesi

CDKN1B Val109Gly genotipleri	TT N(%)	TG+GG N(%)	N	P	GG N(%)	TG+TT (%)	N	P
cins								
kadın	11(50)	11(50)	22	1.00	3(13.6)	19(86.4)		0.308
erkek	13(46.4)	15(53.6)	28		1(3.6)	27(96.4)		
Sigara kullanımı								
Sigara içen	2(40)	3(60)	5	1.00	0(0)	5(100)	5	
Sigara içmeyen	22(48.9)	23(51.1)	45		4(8.9)	41(91.1)	45	1.00
Yas								
50<	16(53.3)	14(46.7)	30	0.05*	1(3.3)	29(96.7)	30	0.024*
50 ≥	1(12.5)	7(87.5)	8		3(37.5)	5(62.5)	8	
Tumor								
T3+T4	11(45.8)	13(54.2)	24	1.00	2(8.3)	22(91.7)	24	1.00
T1+T2	4(44.4)	5(55.6)	9		1(11.1)	8(88.9)	9	
Lenf nodu tutulumu								
N(+)	7(43.8)	9(56.3)	15	1.00	2(12.5)	14(87.5)	16	0.601
N(-)	8(47.1)	9(52.9)	17		1(5.9)	16(94.1)	17	
Uzak metastaz								
Var	2(40)	3(60)	5	1.00	0(0)	5(100)	5	1.00
Yok	13(46.4)	15(53.6)	28		3(10.7)	25(89.3)	28	
Ülseratif kolit(+)	1(33.3)	2(66.7)	3	1.00	0(0)	3(100)	3	1.00
Ülseratif kolit(-)	13(48.1)	14(51.9)	27		3(11.1)	24(88.9)	27	
Anjiyolenfatik invazyon (+)	5(38.5)	8(61.5)	13	0.722	0(0)	13(100)	13	0.261
Anjiyolenfatik invazyon (-)	10(50)	10(50)	20		3(15)	17(85)	20	
Perinöral inv. (+)	5(41.7)	7(58.3)	12	1.00	0(0)	12(100)	12	0.284
Perinöral inv. (-)	10(47.6)	11(52.4)	21		3(14.3)	18(85.7)	21	
Konstipasyon (+)	10(50)	10(50)	20	0.709	2(10)	18(90)	20	1.00
Konstipasyon (-)	4(40)	6(60)	10		1(10)	9(90)	10	
Perforasyon (+)	1(50)	1(50)	2	1.00	0(0)	2(100)	2	1.00
Perforasyon (-)	8(44.4)	10(55.6)	18		1(5.6)	17(94.4)	18	
Obstrüksiyon (-)	7(43.8)	9(56.3)	16		1(6.3)	15(93.8)	16	
Obstrüksiyon (+)	2(50)	2(50)	4	1.00	0(0)	4(100)	4	1.00
Farklılaşma iyi	5(100)	0(0)	5	0.037*	0(0)	5(100)	5	1.00
Farklılaşma orta/az	7(38.9)	11(61.1)	18		2(11.1)	16(88.9)	18	

n:birey sayısı; gruplararası analiz Kikare (χ^2) testi ile gerçekleştirilmiştir.

Kolorektal kanserli hastalarda CDKN1B Val109Gly T allelini taşımanın erkek hastalarda (%96.4) kadınlara göre (%86.4) daha yüksek olduğu gözlenmiş olup, istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır ($p=0.308$).

Kolorektal kanserli hastalarda CDKN1B Val109Gly G allelini taşımanın 50 ve 50 den küçük yaştaki hastalarda (%87.5) 50 yaşından büyük olanlara göre (%46.7) daha yüksek olduğu gözlenmiş ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.05$; OR:8 %95CI ,0.874;-73.266).

Hasta grubumuzda CDKN1B Val109Gly T alleli taşımanın 50 ve 50 den küçük yaştaki hastalarda (%62.5) 50 yaşından büyük olanlara göre (%96.7) daha düşük olduğu gözlenmiş olup GG genotipinin 50 ve 50' den küçük hastalarda 50' den büyük olanlara göre daha yüksek saptanmış ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.024$, OR:0.057, %95CI :0.005-0.699).

CDKN1B Val109Gly G alleli taşımanın orta veya az farklılaşan tümörlerde (%61.1) iyi farklılaşan tümörlere göre (%0) daha yüksek olarak saptanmış olup, fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p=0.037$, OR:2.57, %95CI:1.441-4.589).

Kolorektal kanserli hastalarda sigara kullanımı ile CDKN1B Val 109Gly genotipleme sonrası gerek allel gerekse genotip dağılımı açısından anlamlı bir bulguya rastlanmamıştır.

CDKN1B Val109Gly genotipleme sonuçları sonrası, T allelinin T3 veya T4 evresinde olan hastalarda (%91.7) T1 veya T2 de olanlara göre (%88.9) farklı frekansta gözlenmediği, G alleli açısından da yine T3 veya T4 olanlarda (%54.2) T1 veya T2 olanlarda %55.6 olarak gözlenmiştir, aradaki farklar ise istatistiksel anlamlı bulunmamıştır.

CDKN1B Val109Gly gen polimorfizmi bölgesel lenf nod metastaz parametresi ile birlikte değerlendirildiğinde GG genotipi taşımanın lenf nod pozitif olan hastalarda (%12.5), olmayanlara göre (%5.9) daha yüksek olduğu, T alleli taşımanın ise lenf pozitif (%87.5) veya negatif olma durumunda (%94.1) fark göstermediği saptanmış olup, fark istatistiksel anlamlı bulunmamıştır ($p=0.601$). G alleli taşıma açısından da lenf nod pozitif hastalar ile (%56.3), negatif olanlar (%52.9) arasında fark gözlenmemiştir ($p=0.849$).

CDKN1B Val109Gly genotipleme sonrasında, anjiyolenfatik invazyon taşıyan hastalarda G allel frekansının (%61.5) ,taşımayanlara göre (%50) daha yüksek olduğu saptanmış olup, istatistiksel anlamlı bulunmamıştır ($P=0.169$) (Tablo 4-7).

CDKN1B Val109Gly genotiplenmesi ve uzak metastaz varlığı beraber incelendiğinde, metastaz varlığı olan tüm hastaların T alleli taşıdığı saptanmış olup, bulgumuz istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=1.00$).

Kolorektal kanserli hastalarda CDKN1B Val109Gly genotiplenmesi sonrasında, perinöral invazyon bulgusu olan hastalarda T alleli taşımanın (%100) olmayanlara göre (%85.7) daha yüksek, ancak istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır ($p=0.284$).

CDKN1B Val 109Gly TT genotipinin karsinoid bölgede adenom varlığı mevcut olanlarda (%83.3) olmayanlara göre (%39.1) daha yüksek olduğu saptanmış olup, fark istatistiksel anlamlılığa yakın bulunmuştur ($p=0.08$).

Kolorektal kanserli adenom bulgusu olan hastalarda CDKN1B Val 109Gly TT genotipinin (%66.7) yokluğu duruma göre (%44.4) daha yüksek olduğu bulunmuş, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.640$) (Tablo 4-7).

Tablo 4-8: CDKN1B (C-79T) Allel Dağılımları İle Hastaların Klinik ,Prognostik Parametrelerinin Değerlendirilmesi

CDKN1B C-79T	CC	CT+TT	N	P	TT	CT+CC	N	P
Genotypes	N(%)	N(%)			N(%)	N(%)		
Cins								
Kadın	12(54.5)	10(45.5)	22	0.283	1(4.5)	21(95.5)	22	1.00
Erkek	11(39.3)	17(60.7)	28		1(3.6)	27(96.4)	28	
Sigara kullanımı								
Sigara içen	4(80)	1(20)	5	0.167	0(0)	5(100)	5	1.00
Sigara içmeyen	19(42.2)	26(57.8)	45		2(4.4)	43(95.6)	45	
Yas								
50<	17(56.7)	13(43.3)	30	1.00	1(3.3)	29(96.7)	30	1.00
50 ≥	4(50)	4(50)	8		0(0)	8(100)	8	
Tumor								
T3+T4	14(58.3)	10(41.7)	24	1.00	1(4.2)	23(95.8)	24	1.00
T1+T2	5(55.6)	4(44.4)	9		0(0)	9(100)	9	
Lenf nodu tutulumu								
N(+)	9(56.3)	7(43.8)	16	1.00	0	16(100)	16	1.00
N(-)	10(58.8)	7(41.2)	17		1(5.9)	16(94.1)	17	
Uzak metastaz								
Var	2(40)	3(60)	5	0.628	0(0)	5(100)	5	1.00
Yok	17(60.7)	11(39.3)	28		1(3.6)	27(96.4)	28	
Ülseratif kolit(+)	3(100)	0(0)	3	0.238	0(0)	3(100)	3	1.00
Ülseratif kolit(-)	14(51.9)	13(48.1)	27		1(3.7)	26(96.3)	27	
Anjiyolenfatik invazyon (+)	7(53.8)	6(46.2)	13		0(0)	13(100)	13	
Anjiyolenfatik invazyon (-)	12(60)	8(40)	20	1.00	1(5)	19(95)	20	1.00
Perinöral invazyon (+)	6(50)	6(50)	12	0.506	1(8.3)	11(91.7)	12	0.364
Perinöral invazyon (-)	13(61.9)	8(38.1)	21		0(0)	21(100)	21	
Konstipasyon (+)	12(60)	8(40)	20	0.705	1(5)	19(95)	20	1.00
Konstipasyon (-)	5(50)	5(50)	10		0(0)	10(100)	10	
Perforasyon (+)	1(50)	1(50)	2	1.00	0(0)	2(100)	2	1.00
Perforasyon (-)	9(50)	9(50)	18		1(5.6)	17(94.4)	18	
Obstrüksiyon (-)	8(50)	8(50)	16		1(6.3)	15(93.8)	16	
Obstrüksiyon (+)	2(50)	2(50)	4	1.00	0(0)	4(100)	4	1.00
Farklılaşma iyi	2(40)	3(60)	5	0.343	1(20)	4(80)	5	0.217
Farklılaşma orta/az	12(66.7)	6(33.3)	18		0(0)	18(100)	18	

n:birey sayısı; Gruplararası analiz Kikare (χ^2) testi ile gerçekleştirilmiştir.

Kolorektal kanserli hastalarda CDKN1B C-79T CT taşımanın erkek hastalarda (%57.1) kadınlara göre (%40.9) daha yüksek olduğu gözlenmiş olup, istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır ($p=0.393$). Hastalarda CDKN1B C-79T T genotipleme ile 50 ve 50' den küçük yaştaki ve 50 'den büyük kolorektal kanserli hastalarda anlamlı bir fark elde edilememiştir. Kolorektal kanserli hastalarda sigara içenlerde CDKN1B C-79T CC genotipini taşıyanlar (%80) içmeyenlere göre (%42.2) daha yüksek olarak gözlendiği saptanmış olup, istatistiksel anlamlılık gözlenmemiştir ($p=0.167$).

Kolorektal kanserli hasta grubumuzda CDKN1B C-79T genotipleme sonuçları sonrası, T allelinin T3 veya T4 evresinde olan hastalarda (%41.7) T1 veya T2 de olanlara göre (%44.4) farklı frekansta gözlenmediği saptanmış olup, C allelinin ise T3 veya T4 olanlarda (%95.8) T1 veya T2 olanlarda %100 olarak gözlenmiştir, aradaki farklar ise istatistiksel anlamlı bulunmamıştır.

Karsinom dışı alanda polip varlığı mevcut olan kolorektal kanserli hastalarda CDKN1B C-79T T allelinin (%83.3), olmayanlara göre (%33.3) daha yüksek sıklıkta görüldüğü gözlenmiş olup, fark istatistiksel olarak anlamlılığa yakın bulunmuştur ($p=0.061$, OR:10, %95CI: 0.994-100.612). CDKN1B C-79T CT genotipinin (%83.3), olmayanlara göre (%29.2) daha yüksek sıklıkta görüldüğü gözlenmiş olup fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p=0.026$, OR:12, %95CI: 1.193-123.618).

Adenom mevcut olan kolorektal kanserli hastalarda CDKN1B C-79T T alleli frekansının (%83.3) yokluğuna göre (%33.3) daha yüksek saptanmış, fark istatistiksel anlamlılığa çok yakın değerde bulunmuştur ($p=0.061$, OR:10, %95CI :0.944-105.921)

Karsinoid bölgede adenom varlığı parametresi değerlendirildiğinde, karsinoid bölgede adenom varlığında CDKN1B C-79T CC genotipinin (%65.2) mevcut olmadığı duruma göre (%33.3) daha yüksek olduğu, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı gözlenmemiştir ($p=0.198$) Bölgesel lenf nod pozitifitesi ele alındığında, CDKN1B -79T genotiplemesinde T allelinin lenf nod metastazı olmayanlarda (%41.2), olanlara göre (%43.8) daha düşük olduğu saptanmış olup, fark istatistiksel olarak anlamlı ($P=0.888$). C alelinin ise lenf metastazı olan hastalarda (%100) olmayanlara göre (%94.1) daha yüksek olduğu gözlenmiş olup, fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=1.00$). Kolorektal kanserli hastalarda uzak metastaz varlığına göre CDKN1B C-79T gen polimorfizmi incelendiğinde, T alleli taşımanın uzak metastaz pozitif olanlarda (%60) olmayanlara göre (%39.3) daha yüksek olduğu saptanmış olup, fark istatistiksel anlamlı bulunmamıştır ($P=0.628$). C allelinin ise metastaz varlığı olan tüm hastalarda (%100)

gözlenirken, olmayanlarda da %96.4 oranında gözlendiği, farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur (P=1.00).

Anjiyolenfatik invazyon ile CDKN1B C-79T gen polimorfizmi birlikte değerlendirildiğinde, anjiyolenfatik invazyonu mevcut olanlarda CT genotipi (%46.2) olmayanlara göre (%35) daha yüksek olarak saptanmış olup, istatistiksel anlamlı değildir (p=0.522).

CDKN1B C-79T gen polimorfizmi birlikte perinöral invazyon parametresi değerlendirildiğinde, T alleli taşımak invazyon pozitif olan hastalarda (%50) olmayanlara göre (%38.1) daha yüksek olarak saptanmıştır (p=0.506). TT genotipinin ise perinöral invazyon pozitif olanlarda (%8.3) olmayanlara göre yine daha yüksek sıklıkta saptanmış olduğu bulgusu elde edilmiş, fark anlamlı bulunmamıştır (p=0.364). Farklılaşmanın orta veya az olduğu tümörlerde CDKN1B C-79T CC genotipi taşımanın (%66.7) , iyi farklılaşan tümörlere göre (%40) daha yüksek olarak saptanmış olup, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.343). CDKN1B C-79T C alleli taşımanın ise orta veya az farklılaşan tümörlerde (%100) , iyi farklılaşan tümörlere göre (%80) daha yüksek olarak saptanmış olup, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.217) (Tablo 4-8).

Konstipasyon bulgusu mevcut olan kolorektal kanserli hastalarda CDKN1A SerArg gen polimorfizmi sonuçlarına göre SerArg heterozigotluğunun (%39), konstipasyon bulgusu olmayanlara göre (%10) daha yüksek saptandığı, farkın ise istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir($p=0.372$) CDKN1B Val 109Gly ve CDKN1B C-79T genotiplemesi ve konstipasyon bulgusu arasında herhangi bir ilgi saptanmamıştır. CDKN1A C+20T CC genotipi konstipasyon bulgusu olanlarda (%65) olmayanlara göre (%40) daha yüksek bulunmuş, fark istatistiksel anlam göstermemiştir ($p=0.225$).

Ülseratif koliti olan kolorektal kanserli hastalarda CDKN1B C-79T CC genotipi (%100), olmayanlara göre (%51.9) daha yüksek olup, istatistiksel bir anlamlılık saptanmamıştır ($P=0.255$). Ülseratif koliti olan kolorektal kanserli hastalarla CDKN1B Val 109Gly gen polimorfizmi arasında bir ilişki saptanmamıştır. Ülseratif koliti olan kolorektal kanserli hastalarda CDKN1A SerArg heterozigotluk taşıma (%66.7) olmayanlara göre (%18.5) daha yüksek frekansta saptanmış olup, fark istatistiksel anlamlı değildir ($p=0.128$). CDKN1A C+20T T allelini taşımanın ülseratif kolitli hastalarda (%66.7) olmayanlara göre (%40.7) daha yüksek saptanmış, anlamlı bir istatistiksel değere ulaşmamıştır ($p=0.565$).

Kolorektal kanserli hastalarda sadece iki hastada perforasyon mevcut olup, genotip analizlerinde ilgi çekici bir bulguya rastlanmamıştır. Obstrüksiyon bulgusu mevcut kolorektal kanserli hastalarda CDKN1B C-79T , CDKN1A SerArg ,CDKN1A C+20T , CDKN1B Val 109Gly gen polimorfizmleri açısından herhangi bir istatistiki anlamlı veriye ulaşamamıştır.

Kolorektal kanserli hastalarımızda sadece üçü diabet hastasıydı. Bu hastaların tümünün CDKN1B C-79T C allelini, CDKN1A Ser allelini, CDKN1B Val 109Gly T allelini, CDKN1A C+20T C allelini taşıdıkları ilginç bir bulgu olmakla beraber, istatistiki anlamlılık mevcut değildir.

Tablo4-9: CDKN1A (C+20T , Ser/Arg) CDKN1B (Val109Gly, C-79T) genotip kombinasyonu

Kombine genotipler	Kolorektal Kanserli Hastalar n(%)	Kontroller n(%)	kikare değeri	P	OR %95 Güven Aralığı (CI)
CDKN1A/CDKN1B					
CTSerSerTGCT	9 (%18)	3(%5)	4.742	0.029*	4.171 (1.063-16.362)
Diğer genotip kombinasyonları	41 (%82)	57(95)			
CCSerSerTTCC	6(%12)	1(%1.7)		0.045*	8.045 (0.935-59.256)
Diğer genotipler	44 (88)	59(%98.3)			

n:birey sayısı;g ruplarası analiz Kikare (χ^2) ile gerçekleştirilmiştir.

Bu sonuçlara göre, CTSerSerTGCT kombine genotipinin Kolorektal kanserli hastalarda (%18) kontrollere (%5) daha yüksek gözleendiği saptanmış olup, bu fark istatistiksel olarak da anlamlı olarak saptanmıştır (p=0.029, OR:4.171 ,%95CI :1.063-16.362). Bu analiz sonucunda elde edilen diğer bulgu da, CCSerSerTTCC genotiplemesinin kolorektal kanserli hastalarda (%12) kontrole göre daha yüksek frekansta gözleendiğidir ve istatistiksel analiz sonrasında bu fark da istatistiksel anlamlı bulunmuştur (p=0.045, OR, 8.045, %95CI: 0.935-59256).

Kombine genotip analiz açısından kolorektal kanserli hastalarda T evrelemesi göz önüne alındığında, CTSerSerTGCT genotip kombinasyonunun T3 veya T4 olan hastalarda (%16.7) T1 veya T2 olan hastalara göre (%22.2) daha düşük bulunduğu ve farkın , istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (p=1.00)

CCSerSerTTCC genotip kombinasyonunun T3 veya T4 olan hastalarda (%12.5) T1 veya T2 olan hastalara göre daha düşük (%22.2) bulunduğu ve farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (p=0.597).

Kolorektal kanserli hasta grubumuzda bölgesel lenf nodu pozitifitesi değerlendirilerek, yapılan kombine genotip analiz sonrası, CTSerSerTGCT genotiplemesinin lenf nod metastazı olmayanlar (%17.6) ile olanlar arasında (%18.8) fark göstermediği saptanmıştır (p=1.00). CCSerSerTTCC genotip kombinasyonunun lenf nod pozitif hastalarda (%12.5) olan hastalara göre (%17.6) daha düşük bulunduğu ve farkın , istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (p=1.000).

Kolorektal kanserli hastalarda tanı zamanı ve takip süresinde uzak metastaz varlığı ile söz konusu genotip kombinasyonları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Perinöral invazyon varlığı pozitif olan hastalarda CTSerSerTGCT genotipi (%25) olmayanlara göre (%14.3) daha yüksek olarak saptanmış olup, istatistiksel anlamlı değere ulaşmamıştır.

Diyabet varlığı mevcut kolorektal hastalarımızda CTSerSerTGCT genotipi (%66.7) diabet bulgusu olmayanlara göre (%14.9) daha yüksek olarak saptanmış, fark istatistiksel anlamlılığa yakın bulunmuştur ($p=0.08$, OR:0.088 , %95CI: 0.007-1.100). CCSerSerTTCC genotipi ise diyabetli kolorektal kanserli hastalarda (%33.3) olmayanlara göre (%10.6) yüksek bulunmuş olup, fark istatistiksel anlamlı değildir ($p=0.324$).

Kolorektal kanserli hastalarda sigara kullanımı açısından CDKN1A ve CDKN1B genotip kombinasyonu analizi değerlendirildiğinde, sigara kullananların (%20) içmeyenlere oranla daha yüksek frekansta CCSerSerTTCC genotip kombinasyonunu taşıdıkları gözlenmiş, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. ($p=0.487$).

Kolorektal kanserli hastalarda obstrüksiyon mevcut olan hastalarda CCSerSerTTCC genotipi (%50) olmayanlara göre (%6.3) daha yüksek bulunmuş olup, fark istatistiksel anlamlılığa ulaşamamıştır ($p=0.08$, OR:15,0, %95CI: 0.896-251.056)

Kolorektal kanserli hastalarda obstrüksiyon mevcut olan hastalarda karsinoid bölgede adenom veya adenom varlığı, karsinoid bölgede polip, ülseratif kolit varlığı ile kombine genotipler arasında anlamlı bir bulguya rastlanmamıştır (Tablo 4-9).

5. TARTIŞMA

Kolorektal kanser gelişen ülkelerde görülen önemli bir sağlık sorunudur. Bu tarz ülkelerde yüksek oranda görülmektedir (146). Kolorektal kanser gelişimi ve bu kanser türünden ölüm riskinin aşırı kilolu bireylerde risk oluşturduğu öne sürülmektedir. Obezite kadın ve erkeklerde riski arttıran bir faktör gibi görünmekle beraber erkeklerde bu faktörün daha etkin bir rol oynadığı düşünülmektedir (16). Guerreiro ve ark yaptıkları çalışmada vücut kütle ağırlığının kolorektal kanserli hastalarda kontrollerden daha düşük olduğu bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu bulguyu çalışmalarına dahil edilen hastaların tedaviye başlamış durumda olması ile açıklamışlardır (147). Kune ve arkadaşlarıda, 715 hasta ve 727 kontrol üzerinde yaptıkları çalışmada, vücut kütle ağırlığı ile kolorektal kanser arasında bir ilişki bulamamışlardır (148). Çalışmamızda kolorektal kanserli hastalar ve kontroller arasında kilo, boy, VKI değerleri açısından anlamlı bir farka rastlanmamıştır. Kolorektal kanserli erkek hastalarımızın kilo ve boy ortalamaları kadınlara göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunmuş olup ($p=0.027$; $p=0.001$), Vücut kütle indeksi (VKI) değerleri arasında böyle bir yüksekliğe rastlanmamıştır. Kolorektal kanserde pozitif aile hikayesinin hastalık risk açısından önemli rol oynadığı bilinmektedir (146). Çalışmamızda kolorektal kanserli hastalarda yaş ve cins, ailede kanser hikayesi parametreleri ile bir ilişki saptanmamıştır.

Siklin bağımlı kinazlar (CDKs) siklinlerle birlikte hücre proliferasyonunda görev alırken Siklin Bağımlı Kinaz inhibitörleri (CDKi) siklin bağımlı kinaz siklin kompleksini inhibe ederek hücre döngüsünün kilitlemesine sebep olurlar (5-6). Kanserlerde G_1 kontrol noktasının düzenlenmesinde görev yapan genler sıklıkla değişime uğramıştır. Ayrıca bu genlerin aktivitelerindeki değişiklik ve aksaklıklar sadece hücre döngüsünün kontrolünü olumsuz yönde etkilemekle kalmayıp DNA tamir genlerini ve özellikle p53'ün DNA hasarına karşı verdiği yanıtı da etkilerler (110,150). İnsan kanserlerinde G_1 den S fazına geçiş yolağı sıklıkla bozulmuş olup (4) Retinoblastoma proteini bu yolağın merkezinde bulunmaktadır (9). CDKN1A (P21) ve CDKN1B (P27) Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitör (CDKi) ailesinin üyeleri olup Siklin bağımlı kinaz ve siklin komplekslerine (Siklin E-CDK2; Siklin A- CDK 2; and Siklin D- CDK 4) bağlanarak Retinoblastoma proteininin fosforilasyonunu engellerler (4,7,11).

CDKN1A ile ilgili yaklaşık olarak 40 tane polimorfizim tespit edilmiştir (149). Bu polimorfizmlerin yaklaşık olarak 35 tanesi intronik bir yerleşim sergilemektedir. CDKN1A genindeki yaygın polimorfizmlerden bir tanesi ikinci ekzonda 31. kodonda C bazının yerine A bazının bulunması sonucu serin aminoasidinin yerine arginin aminoasidinin geçmesine sebep olan Ser31Arg polimorfizmidir. 4 polimorfizm 3' UTR yerleşimli olup, bunlardan bir tanesi 3. ekzonda bitiş kodonunun 20 nükleotid aşağısında C nükleotidi yerine T nükleotidininin gelmesi sonucu oluşan C+20T polimorfizmidir. Belirtilen iki polimorfizmin CDKN1A geninin fonksiyonlarını etkilediği düşünülmektedir. Bu polimorfizmlerin farklı kanser tiplerinde CDKN1A'nın fonksiyonları üzerine etkileriyle ilgili çeşitli epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır (150).

CDKN1B'nin Val109Gly polimorfizmi prostat, meme gibi kanserlerde araştırılmış olup, hastalığa yatkınlıkla ve kötü prognoz ilişkili olduğu rapor edilmiştir (141,142).

CDKN1B 5'UTR bölgesinde yer alan C-79T polimorfizminin proteinin yapı dengesizliği dolayısı ile kazanılan bozulmuş fonksiyondan dolayı olabileceği öne sürülmektedir (136).

Çalışmamızda, CDKN1A C+20T ,CDKN1A Ser31Arg ve CDKN1B C-79T ve CDKN1B Val109Gly gen polimorfizmini kolorektal kanserli hastalarda risk ve klinik parametrelerle ilişkisini araştırmak ve böylece hastalığın etyopatogenezini aydınlatmak amaçlanmıştır. Kolorektal kanserli hastalarımızda CDKN1 C+20T CC genotipinin erkek hastalarda (%53.6) kadınlardan (%36.4) daha yüksek olduğu farkın ise istatistiksel anlamlı olmadığı saptanmıştır (P=0.226). Çalışmamızda kolorektal kanserli hastalar ≤ 50 yaş ve >50 yaş olarak gruplandırıldığında CDKN1A C+20T genotipleme açısından anlamlı bir fark elde edilememiştir. CDKN1A Ser31Arg genotiplemesinde Ser alleli taşımanın ise erkek hastalarımızın tümünde mevcut olduğu, kadınlarda ise bu sıklığın %95.5 oranında olduğu gözlenmiştir (P=0.440). CDKN1A SerArg ve CDKN1B C-79T genotipleme ≤ 50 yaş ve >50 yaş kolorektal kanserli hastalarda fark göstermemiştir. CDKN1B C-79T, CT genotipi taşımanın erkeklerde (%57.1) kadınlardan (%40.9) daha yüksek sıklıkta olması istatistik olarak anlamlı bulunmamıştır. (P=0.393). Kolorektal kanserli hastalarımızda CDKN1B Val109Gly G allelini taşımanın ≤ 50 yaş hastalarda (%87.5) >50 yaş olanlara göre (%46.7) daha yüksek olması, istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur (p=0.05; OR:8 , %95CI: 0.874;-73.266). CDKN1B Val109Gly T

alleli taşımanın ≤ 50 yaş hastalarda (%62.5) >50 yaş olanlara göre düşük olması da (%9.7), istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup, GG genotipinin 50 ve 50' den küçük hastalarda 50' den büyük olanlara göre daha yüksek saptanmış ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.024$, OR:0.057, %95CI :0.005-0.699).

Bazı araştırmalarda sigara ve kolorektal kanser arasında anlamlı bir ilişki bulunduğu belirtilirken, bazılarında ise kolorektal kanser ve sigara kullanımı arasında herhangi bir bağ kurulamamışlardır (151). Bu çelişki çeşitli teorilerle açıklanmaya çalışılmıştır. Bu teorilerden bir tanesi seyreltme teorisidir. Bu düşünceye göre adenomların sadece küçük bir kısmı kanser geliştirmeye meyillidir ve sigaranın daha çok kanser gelişimine yatkın olmayan küçük ve villöz yapıdaki adenomları etkilediği öne sürülmektedir (151) Sigara kullananlarda kolorektal kanserli hastalarımızda CDKN1A C+20 T CC genotipinin (%80) içmeyenlere göre (%42.2) istatistiksel anlamlılık olmaksızın daha yüksek olarak gözlemlendiği saptanmıştır. CDKN1B C-79T genotip analizi sonucu, hastalardan sigara içenlerde CC genotipini taşıyanlar (%80) içmeyenlere göre (%42.2) daha yüksek olup, anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.167$). CDKN1B Val109Gly ve CDKN1A SerArg genotipleme ile sigara içimi arasında ilgi çekici bir veriye rastlanmamıştır. Bu verilerimizin, sigara kullanımının kanser hastalarımızın sadece %10'nunu kapsamı açısından, daha çok sigara parametresinin ön plana alındığı bir kolorektal hasta grubu uygun kontrol grubu seçimiyle daha anlamlı olabileceği kanısına varılmıştır.

Mah ve ark. Mah ve arkadaşları 368 meme kanserli ve 467 kontrolden oluşan Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada kontrol grubunda CDKN1A C+20T genotip dağılımında CC:%27.6, CT:%54.2, TT:%18.2 olarak, allel dağılımı açısından analiz edildiğinde ise, T allelini 0.453, C allelini ise 0.547 olarak saptamışlardır.(136).

Li ve arkadaşları 712 küçük hücreli baş ve boyun kanserlerinde beyaz ırkta yaptıkları çalışmada, 1222 kontrol bireyi çalışmalarına dahil etmişlerdir. CDKN1 A C+20T gen polimorfizmi analizinde CC: %88.4, CT :%11.1, TT: %0.5, C allel ve T allel frekanslarını ise sırasıyla %94 ve %6 olarak saptamışlardır (150).

CDKN1A C+20T ile yapılan çalışmalardan biri de, Kibel ve arkadaşlarının (140) beyaz ırkta yaptıkları 96 prostat kanseri ve 106 kontrolden oluşan, prostat kanserinde risk ve prognozu belirlemede CDKN1 A C+20T 'nin önemli olup olmadığını araştıran çalışmadır. Bu çalışmaya dahil edilen kontrollerde genotip dağılımını CC:%90 CT:%8 ve %2 TT olarak , C allelini % 93.86, T allelini ise % 6.13 olarak saptamışlardır. Bu

bulgular Mah ve arkadaşlarının CDKN1 A C+20T için saptadıkları allel frekansları ile uyumludur. Kibel ve arkadaşları CDKN1 A C+20T T allelinin ilerlemiş prostat kanserlerinde yaklaşık 2 kat artmış frekansta bulunduğunu bildirmişlerdir (OR: 2.24 %95CI:1.2-4.95). CDKN1A C+20T genotiplerinin dağılımı açısından kolorektal kanserli hastalarımız değerlendirildiğinde, kontrol grubu ve kolorektal kanserli hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır, T allel taşımanın kolorektal kanserli hastalarda (%54) kontrole göre (%63.3) düşük, C alleli taşımanın ise hasta grubunda (%96) kontrole göre (%90) daha yüksek frekansta olduğu gözlenmiş olup, bulgumuz istatistiksel anlamlılığa ulaşmadığı gözlenmiştir (p=0.228). Çeşitli araştırmalarda ülseratif kolit bulgusu taşıyan bireylerin normal popülasyona göre 2-8.2 kat daha fazla risk taşıdıkları belirtilmiştir. Bu riski arttıran faktörlerden bir tanesinin ülseratif kolitin devam süresi diğerinin ise yerleşimi olduğu ve transvers kolon ,sağ kolon yerleşiminin kolorektal kanser açısından daha riskli olduğu belirtilmektedir (20). Çalışmamızdaki hastaların sadece %10 'nunda ülseratif kolit bulgusu mevcuttu. Ülseratif koliti olan hastalarımızın ikisinde tumor yerleşimi sağ kolon olduğu gözlenmiştir. Ülseratif kolit bulgusu olan tüm hastaların CDKN1A C+20T için C allelini, CDKN1A Ser/Arg için Ser allelini, CDKN1B Val109Gly T allelini, CDKN1B C-79T T allelini taşıdıkları gözlenirse de, istatistiksel olarak anlamlı bir veri elde edilmemiştir.

CDKN1A Ser-Arg polimorfizmi p21 genindeki çok korunmuş bölgede lokalize olmuştur. Bu polimorfizminin fenotipik protein ekspresyonunu endometrial kanserde etkilediği ancak meme ve over kanserinde herhangi bir etkilenmenin söz konusu olmadığı ileri sürülmüştür (134). Mah ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Ser31Arg genotip dağılımı SerSer:%26.8, SerArg %54.6, ArgArg:%18.6 A allel p=0.459 şeklinde bulunmuştur.Bu çalışmada meme kanseri ile bu polimorfizm arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır.(136).Bir diğer çalışmada ise hastaların sadece 7'sinde (%10) Ser/Arg polimorfizmi tespit edilmiştir bu nedenle herhangi bir anlamlılık bulunamamıştır.(101). Çin popülasyonunda yapılan son çalışmalarda POAG (primary open angle glaucoma) hastalarında Ser31Arg polimorfizminin Arg formuyla ilişkili olduğu öne sürülmüştür. Rassinotis ve arkadaşlarının yaptıkları 140 POAG hastası 73 sağlıklı kontrol bireyini kapsayan çalışmada Ser ve Arg allelik frekansları açısından hasta ve kontroller arasında bir farklılık bulunamamış olup Arg/Arg genotipine hiç rastlamamışlardır [SerSer:%83.6 SerArg:%16.4 ArgArg:%0].

Çeşitli çalışmalarda Arg allelinin Çin popülasyonunda daha yaygın olduğu tespit edilmiştir. Rassinotis ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada bulunan sonuç, İsveç ve Fransız popülasyonundaki Arg allel frekansı ile $p=0.05$ bağdaşmış bulunmaktadır (144). Bir başka çalışmada ise Ser/Arg genotip dağılımı Ser/Ser=%87.9, Ser/Arg= %11.5; Arg/Arg=%0.6 olarak bildirmiştir (150).

Çalışmamızda CDKN1A Ser31Arg genotiplerinin dağılımı ise kolorektal kanserli hasta ile kontrol grubumuz arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık göstermiştir ($p=0.036$). Kolorektal kanserli hastalarımızda CDKN1A Ser31Arg polimorfizmine ait Ser/Ser ve Ser/Arg genotipleri (%98), kontrol grubuna göre (%93.3) daha yüksek frekansta saptanmış olup, fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır ($\chi^2=1.369, p=0.374, OR: 3.500, %95CI:0.378-32.374$). Kolorektal kanserli hastalarımızda CDKN1A Ser31Arg polimorfizmine ait Arg/Arg ve Ser/Arg genotipleri (%84), kontrol grubuna göre (%95) daha düşük frekansta saptanmış olup, fark istatistiksel anlamlılığa yakın değerdedir ($\chi^2=3.667; p=0.056, OR:0.276, %95 CI : 0.069-1.104$).

Val109Gly varyantının p27 ve onun negatif düzenleyicisi p38^{Jab1} arasındaki bağı etkilediği ve p27'nin parçalanmasını yönettiği düşünülmektedir. Mah ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Val109Gly genotip dağılımı TT:%94.7 TG:%5.4 GG:%0 G allel frekansı 0.027 olarak bulunmuştur. Bazı moleküler epidemiyolojik çalışmalarda Val109Gly ve prostat kanseri, SCCHN kanseri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Val109Gly varyantının p27 ve onun negatif düzenleyicisi p38^{Jab1} arasındaki bağı etkilediği ve p27'nin parçalanmasını yönettiği düşünülmektedir. Ma H. ve arkadaşlarının çalışmasında Val109Gly polimorfizminin Çin toplumunda major bir rol oynamadığı öne sürülmüştür. Çalışma grubunda varyant allel olarak kabul edilen G allelinin çalışma grubunda oranı oldukça seyrek saptanmıştır (136).

Kibel ve arkadaşlarının çalışmasında Val109Gly polimorfizmi genotip dağılımı TT:%54 TG:%36 GG:%10 olarak bulunmuş olup VV Genotipinin ilerlemiş prostat kanserlerinde risk oluşturduğu ileri sürülmüştür (140). Bir diğer çalışmada ise beyaz ırkta Val109Gly polimorfizmi genotip dağılımı TT:%58.7 TG:%35.9 GG:%5.39 olarak bulunmuştur (145). G alleli beyaz ırkta 0.348, Afrika kökenli Amerikalılarda 0.326, Çin toplumunda ise 0.043 şeklinde bir dağılım göstermektedir (136).

Çalışmamızda CDKN1B Val109Gly genotiplerinin dağılımı, kolorektal kanserli hasta ile kontrol grubumuz arasında farklılık bulunmamıştır ($\chi^2=1.307; p=0.540$). Kolorektal kanserli hastalarımızda CDKN1B Val109Gly polimorfizmine ait TT ve TG

genotipleri (%92), kontrol grubuna göre (%96.7) daha düşük frekansta saptanmış olup, fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır ($\chi^2=1.152$; $p=0.408$, OR: 0.397, %95 CI: 0.70-2.261). Kolorektal kanserli hastalarımızda CDKN1B Val109Gly polimorfizminde GG ve TG genotipleri (%52), kontrol grubuna göre (%53.3) fark göstermemiş olup, istatistiksel olarak da anlamlı değildir ($\chi^2=0.019$; $p=0.889$, OR: 0.948, %95 CI: 0.447-2.010).

Ma H. ve arkadaşları çalışmalarında CDKN1A C-79T polimorfizmi genotip dağılımı CC:%30 TC:%48 TT:%22 olarak saptanmış T allel frekansı:0.460, C alleli ise 0.540 olarak bulunmuş olup, C-79T polimorfizminin meme kanseri etiolojisinde rol oynayabileceği kanısına varılmıştır. Ma ve ark çalışmalarında, p27 protein düzeylerinin gen transkripsiyonu oranından etkilenebileceği ileri sürülmüştür. CDKN1B transkriptinin 5'UTR bölgesindeki varyant bölümle bu durumun ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Tek lokus analizinde C-79T heterozigot durumunun meme kanseri ile ilişkili olabileceği tespit edilmiştir (136).

Chang ve arkadaşlarının yaptığı prostat kanseri çalışmalarında C-79T polimorfizminde C alleli taşımanı aileden kalıtım gösteren prostat kanseri vakalarında yaygın olduğu ve bu bulgunun anlamlılık gösterdiği tespit edilmiştir. CDKN1B'nin genel bir tümör baskılayıcı gen olarak rol oynadığı ve fonksiyonunun özellikle prostat kanserinde etkili olduğu kanısına varılmıştır (152).

Klinik çalışmalar ve laboratuvar deneyleri CDKN1B geninin prostat kanseri etiolojisinde önemli bir tümör baskılayıcı gen olduğunu göstermektedir. Bazı kalıtsal prostat kanseri (HPC) popülasyonlarında prostat kanserine duyarlılık ve CDKN1B geninin kromozomal lokasyonu arasındaki ilişkinin ışığında, CDKN1B geninin sekans varyantlarının HPC'de rol oynadığı düşünülmektedir. C-79T polimorfizminde C alleli hasta aile bireylerinden anlamlı şekilde kalıtım gösterdiği bulunmuştur (152).

Çalışmamızda CDKN1B C-79T genotiplerinin dağılımında kontrol grubu ve kolorektal kanserli hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($\chi^2=0.421$; $p=0.810$). CDKN1B C-79T gen polimorfizminde TT ve CT genotipleri kolorektal kanserli hastalarda (%54), kontrol grubuna göre yüksek frekansta gözlenmiş (%46) ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir ($\chi^2=0.005$; $p=0.944$, OR:1.027 %95 CI 0.484-2.180). CDKN1B C-79T gen polimorfizminde CT ve CC genotipleri kolorektal kanserli hastalarda (%96), kontrol grubuna göre yüksek frekansta

gözlenmiş (%93.3.) olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($\chi^2=0.376$; $p=0.687$, OR: 1.714, %95 CI : 0.301-9.773)

Ma H. ve arkadaşlarının yaptığı CDKN1A C+20T ,Ser/Arg ve CDKN1B C-79T,Val 109 Gly 4 lokus için kombine genotip analizinde 3 veya daha fazla variant alleli taşıyan meme kanserli bayanlarda özellikle menapoz öncesi dönemlerde yüksek risk (OR:2.30 ,%95CI: 1.45-3.66) 0-2 variant allel taşıyanlara oranla daha yüksek bulunmuştur (136). Kibel ve arkadaşlarının 96 prostat kanseri 106 kontrolde yaptıkları kombine genotip çalışmasına göre C+20T polimorfizminde CT ve TT genotipleri prostat kanserinde daha sık (OR:2.24, %95CI: 1.2.-4.95) olarak bulunmuştur. Val109Gly genotip dağılımı TT:%54 TG:%36 GG:%10 olarak saptanmış olup Val109 VV genotipi prostat kanserinde daha sık (OR:1.95, %95CI:1.09.-3.47) olarak bulunmuştur. Yüksek riskli genotiplerden en az 1'ini taşıma durumunun ilerlemiş prostat kanseri için risk faktörü olarak değerlendirilebileceği öne sürülmüştür (OR:1.48, %95CI :0.56-3.92), C+20T için CT ve TT ile CDKN1B Val109Gly için VV genotipi taşımanın beyaz ırk popülasyonunda ilerlemiş prostat kanseri açısından riskli olduğu bildirilmiştir (140). Bizim çalışmamızda CDKN1A ve CDKN1B allel frekansı sonuçlarına göre, kolorektal kanserli hastalarda CDKN1A için C ve Ser alleli, CDKN1B için C ve G alleli kontrole daha yüksek frekansta saptanmış olup, hasta ve kontrol grubunda bu allelleri bir arada taşıma durumu, variant alleller olarak kabul edilen CDKN1A T alleli ve Arg alleli ile CDKN1B T alleli ve G alleleline göre değerlendirmeye alınmıştır. Bu analiz sonucunda iki ve ikiden fazla variant allel taşıma durumu incelendiğinde, kolorektal kanserli hastalarda 2 veya ikiden fazla allel taşıma (%34) kontrole göre (%21.7) daha yüksek frekansta gözlenmiş olup , fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.148$). Kolorektal kanserli hastalarda üç ve üçten fazla variant allel taşıyanlar (%24) kontrol bireylere göre (%28.3) çok hafif bir düşme gözlenmiş olup, istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır ($p=0.608$). Hiç variant allel taşıma durumu ise kolorektal kanserli hastalarda (%12) kontrol grubuna göre (%1.7) daha yüksek olarak saptanmış olup, aynı zamanda en az bir variant allel taşıma durumuna bakıldığında kolorektal kanserli hastalarda (%88) kontrole göre (%98.3) daha düşük bulunmuştur, farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0.045$, OR:0.124 , %95CI :0.014-1.070).

Tümör farklılaşması,tümör perforasyonu ,T evre değeri ve lenf nodu tutulumunun kolorektal kanser sürecini etkilediği ileri sürülmektedir.Mikrosatellit instabilizasyonunun ve allelik kararsızlığın bu süreçte iyi yada kötü yönde rol oynadığı düşünülmektedir.Histolojik tümör evresi ve lenf nodu tutulumu ise en çok bilinen prognostik faktörlerdir (153).Lenf nodu metastazının, kolorektal kanser açısından negatif prognoz uyarısı olduğu öne sürülmektedir.Fakat bazı araştırmacılar lenf nodu metastazının prognoz ile korelasyon göstermediğini de ileri sürmüşlerdir (154). Çalışmamızda kolorektal kanserli hastalarda T evre değerleri,lenf nod metastazı, tümör perforasyonu ile CDKN1A Ser/Arg, C+20T ve CDKN1B Val 109Gly, C-79T genotipleme sonrası gerek allel gerekse genotip dağılımı açısından anlamlı bir bulguya rastlanmamıştır. Tümör farklılaşması açısından kolorektal kanserli hastalar değerlendirildiğinde ise CDKN1A C+20T , CDKN1A SerArg genotipleme ile farklılaşma arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Farklılaşmanın orta veya az olduğu tümörlerde CDKN1B C-79T CC genotipi taşımanın (%66.7) , iyi farklılaşan tümörlere göre (%40) daha yüksek olarak saptanmış olup, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (P=0.343). CDKN1B Val109Gly G alleli taşımanın ise orta veya az farklılaşan tümörlerde (%61.1) iyi farklılaşan tümörlere göre (%0) istatistiksel olarak anlamlı yüksek olarak saptanmıştır (p=0.037,OR:2.57,%95CI :1.441-4.589).

Sonuç olarak;

Çalışmamız Türk Toplumunda CDKN1A (Ser/Arg,C+20T) ve CDKN1B (Val109Gly,C-79T) gen polimorfizlerine ait genotip ve allel frekanslarının araştırıldığı ve hastalığın klinik ve prognostik parametreleri ile bir arada değerlendirildiği ilk çalışmadır.

CDKN1A ve *CDKN1B* gen polimorfizmi sonuçları değerlendirildiğinde, CDKN1A Ser31Arg genotip dağılımı kolorektal kanserli hasta ile kontrol grubumuz arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık göstermiştir (p=0.036). CDKN1A Ser31Arg polimorfizmine ait Arg alleli taşıma (%84), kontrol grubuna göre (%95) daha düşük frekansta ve istatistiksel anlamlılığa yakın değerde saptanmıştır ($\chi^2=3.667$; p=0.056, OR:0.276 ,%95 CI: 0.069-1.104).

CDKN1A C+20T, *CDKN1B C-79T* ve Val109Gly genotiplerinin dağılımında kontrol grubu ve kolorektal kanserli hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

CTSerSerTGCT kombine genotipinin ise kolorektal kanserli hastalarda (%18) kontrollere göre (%5) istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek gözleendiği saptanmıştır ($p=0.029$, OR:4.71 , %95CI: 1.063-16.362). Bu analiz sonucunda elde edilen diğere bulgu da, CCSerSerTTCC genotiplemesinin kolorektal kanserli hastalarda (%12) kontrole göre da istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek frekansta gözleendiğidir ($p=0.045$, OR: 8.045 ,%95 CI :0.935-59256).

Kolorektal kanserli hastalarda *CDKN1B Val109Gly G* allelini taşımanın 50 ve 50 den küçük yaşdaki hastalarda (%87.5) 50 yaşından büyük olanlara göre (%46.7) daha yüksek olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.05$; OR:8 %95CI: 0.874;-73.266).

CDKN1B Val109Gly G alleli taşımanın orta veya az farklılaşan tümörlerde (%61.1) iyi farklılaşan tümörlere göre (%0) istatistiksel olarak da anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0.037$, OR:2.57 , %95 CI: 1.441-4.589).

Çalışmamız *CDKN1A (Ser/Arg,C+20T)* ve *CDKN1B (Val109Gly,C-79T)* genotip ve allel frekanslarına ait Türk Toplumundaki ilk verileri sağlayan bir araştırmadır. Çalışmamız sonucunda elde edilen verilerin bu konuda yapılacak daha kapsamlı araştırmalara ışık tutabileceği düşüncesindeyiz.

6. KAYNAKLAR

- 1-Weitz J. , Koch M, Debus J, Höhler T, Galle Peter R, Büchler Markus W. Colorectal cancer Lancet 2005; 365: 153–65
- 2-Hanahan D.Weinberg RA The hallmarks of cancer. Cell:2000:100-57-70
- 3- Morgan DO. Principles of CDK regulation. Nature 1995;374:131–4.
- 4- Sherr CJ. Cancer cell cycles. Science 1996;274:1672–1677.
- 5-Cordon-Cardo,C. Mutations of cell cycle regulators. Biological and clinical implications for human neoplasia. Am. J. Pathol.1995: 147, 545--560.
- 6-MacLachlan,T.K., Sang,N. and Giordano,A. Cyclins, cyclindependentkinases and cdk inhibitors: implications in cell cycle control and cancer. Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr 1995: 5, 127--156.
- 7-Xiong,Y., Hannon,G.J., Zhang,H., Casso,D., Kobayashi,R. and Beach,D. p21 is a universal inhibitor of cyclin kinases. Nature 1993: 366, 701--704.
- 8-Pardee, A. B. G1 events and regulation of cell proliferation Science 1989: 246, 603–608
- 9-Weinberg, R. A. The retinoblastoma protein and cell cycle control. Cell 1995:81, 323–330
- 10-Sherr, C.J. and Roberts, J.M. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. Genes Dev 1999:. 13, 1501–1512 .
- 11-Polyak K, Lee MH, Erdjument-Bromage H, Koff A, Roberts JM, Tempst P, Massague J. Cloning of p27Kip1, a cyclin-dependent kinase inhibitor and a potential mediator of extracellular antimitogenic signals. Cell 1994;78:59–66.
- 12-Colorectal Cancer. In: Steward BW, Kleihues P, eds. World CancerReport. Lyon: IARC Press, 2003: 198–202.
- 13-Russo MW, Wei JT, Thiny MT, et al. Digestive and liver diseases statistics, 2004. Gastroenterology 2004; 126: 1448–53.
- 14-Jemal A, Tiwari RC, Murray T, et al. Cancer statistics, 2004. CA Cancer J Clin 2004; 54: 8–29.
- 15-Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer.N Engl J Med 2003: 348: 919–32.

- 16-What are the risk factors for colorectal cancer. www.cancer.org/docroot/CRI/content
Erişim tarihi 03.06.2008. American Cancer Society
- 17-Topuz E. İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, Dizdaroğlu F. İ.T.F Patoloji A.B.D. Sindirim Sistemi Kanseri, İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları.(1998).
- 18-Lynch JP, Hoops TC. The genetic pathogenesis of colorectal cancer. *Hematol Oncol Clin N Am* 2002; 16: 775–810.
- 19-Kondo Y, Issa JPI. Epigenetic changes in colorectal cancer. *Cancer Met Rev* 2004; 23: 29–39.
- 20-G Hardy Robert, J Meltzer Stephen and A Jankowski Janusz. ABC of colorectal cancer: Molecular basis for risk factors *BMJ* 2000;321;886-889 .
- 21-Krok KL, Lichtenstein GR. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2004; 20: 43–48.
- 22-Jass JR, Whitehall VLJ, Young J, Leggett BA. Emerging concepts in colorectal neoplasia. *Gastroenterology* 2002; 123: 862–76.
- 23-Soetikno RM, Kahng LS, Ono A, Fujii T. Flat and depressed colorectal neoplasms. *Curr Opin Gastroenterol* 2003; 19: 69–75.
- 24-Itzkowitz SH, Yio X. Inflammation and cancer IV. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: the role of inflammation *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G7–G17.
- 25-Rao M, Yang W, Seifalian AM, Winslet MC. Role of cyclooxygenase-2 in the angiogenesis of colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2004; 19:1–11.
- 26-Sinicropo FA, Gill S. Role of cyclooxygenase-2 in colorectal cancer.*Cancer Met Rev* 2004; 23: 63– 75.
- 27-Harman FS, Nicol CJ, Marin HE, Ward JM, Gonzalez FJ, Peters JM. Peroxisome proliferator-activated receptor-delta attenuates colon carcinogenesis. *Nat Med* 2004; 10: 481–83.
- 28-Calvert PM, Frucht H. The genetics of colorectal cancer. *Ann Intern Med* 2002; 137: 603–12.
- 29-Akbulut H, Akbulut KG. Karsinogenez In: İçli F, ed. Tıbbi Onkoloji Ankara, ANTİP Afi Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınlar 1997:23-38
- 30--Lecture GFF. Molecular mechanisms of lung cancer. Interaction of environmental and genetic factors. *Chest* 1996;109 (Suppl): 14S-19S.
- 31-Kinzler K, Vogelstein B. Gatekeepers and caretakers. *Nature* 1997;386: 761–63. 34

- 32-Ay M- E , Terzioğlu O ,Terzi C , Ay Öİ The detection of p21, p27, p57 cyclin dependent kinase inhibitor gene (CDKI) expression in colorectal cancer. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 2006; 5 (1): 20-25 .
- 33-Grady WM. Genomic instability and colon cancer. *Cancer Met Rev* 2004; 23: 11–27.
- 34-Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD: *Molecular Biology of the Cell*. Garland, New York, NY, 1983
- 35-Sandal T. Molecular Aspects of the Mammalian Cell Cycle and Cancer *The Oncologist* 2002;7:73-81.
- 36-Schafer K.A , Chazy NY. Wyeth-Ayerst Research *The Cell Cycle Vet Path* 1998;01 35:461-478 .
- 37-Pines J: Cyclins and cyclin-dependent kinases: theme and variations. *Adv Cancer Res* 1995: 66:181-212.
- 38-Devault A, Cavadore JC, Fesquet D, Labbe JC, Lorca T, Picard A, Strausfeld U, Doree M: Concerted roles of cyclin A, cdc25+ mitotic inducer, and type 2A phosphatase in activating the cyclin B/cdc2 protein kinase at the G₂/M phase transition. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1991;56:503-513.
- 39-Parker LL, Piwnicka-Worms H: Inactivation of the p34cdc2/cyclin B complex by the human WEE1 tyrosine kinase. *Science* 1992;257:1955-1957.
- 40- van den Heuvel S, Hat-low E: Distinct roles for cyclin-dependent kinases in cell cycle control. *Science* 1993;262:2050-2054.
- 41- Drapkin R, LeRoy G, Cho H, Akoulitchev S, Reinberg D: Human cyclin-dependent kinase-activating kinase exists in three distinct complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:6488-6493.
- 42- Honda R, Ohba Y, Nagata A, Okayama H, Yasuda H: Dephosphorylation of human p34cdc2 kinase on both Thr-14 and Tyr-15 by human cdc25B phosphatase. *Fed Eur Biochem Soc Lett* 1993;318:331-334.
- 43- Sebastian B, Kakizuka A, Hunter T: Cdc25M2 activation of cyclin-dependent kinases by dephosphorylation of threonine-14 and tyrosine-15. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ;90:3521-3524,.
- 44- Villa-Moruzzi E: Activation of the cdc25C phosphatase in mitotic HeLa cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;196:1248-1254.
- 45-David-Pfeuty T, Nouvian-Dooghe Y Human cyclin B1 is targeted to the nucleus in G₁ phase prior to its accumulation in the cytoplasm. *Oncogene* 1996;13: 1447- 1460.

- 46-Darzynkiewicz Z, Gong JP, Juan G, Ardel B, Traganos F: Cytometry of cyclin proteins. *Cytometry* 1996;25:1-13.
- 47 Pines J: Cyclins: wheels within wheels. *Cell Growth Differ* 1991; 2:305-310.
- 48-Luca FC, Shibuya EK, Dohrmann CE, Ruderman JV: Both cyclin A-delta-60 and B-delta-97 are stable and arrest cells in M-phase, but only cyclin B-delta-97 turns on cyclin destruction. *Eur Mol Biol Organ J* 1991;10:4311-4320.
- 49-Markiewicz DA, McKenna WG, Flick MB, Maity A, Muschel RJ: The effects of radiation on the expression of a newly cloned and characterized rat cyclin B mRNA. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 28: 135-144.
- 50-Rechsteiner M, Rogers SW: PEST sequences and regulation by proteolysis. *Trends Biochem Sci* 1996;21:267-271.
- 51-Kill IR, Hutchison CJ: S-phase phosphorylation of lam in B2. *Fed Eur Biochem Soc Lett* 1995;377:26-30.
- 52-Lyttle DJ, Fraser KM, Fleming SB, Mercer AA, Robinson AJ: Homologs of vascular endothelial growth factor are encoded by the poxvirus orf virus. *J Virol* 1994;68:84-92.
- 53-Kato J, Matsushime H, Hiebert SW, Ewen ME, Sherr CJ: Direct binding of cyclin-D to the retinoblastoma gene product (pRb) and pRb phosphorylation by the cyclin D-dependent kinase cdk4. *Genes Dev* 1993;7:331-342.
- 54-Arroyo M, Raychaudhuri P: Retinoblastoma-repression of E2F-dependent transcription depends on the ability of the retinoblastoma protein to interact with E2F and is abrogated by the adenovirus E1A oncoprotein. *Nucleic Acids Res* 1992; 20:5947-5954,
- 55-Mudrak I, Ogris E, Rotheneder H, Wintersberger E: Coordinated trans-activation of DNA synthesis- and precursor-producing enzymes by polyomavirus large T antigen through interaction with the retinoblastoma protein. *Mol Cell Biol* 1994; 14:1886-1892.
- 56-Guan KL, Jenkins CW, Li Y, Nichols MA, Wu XY, O'Keefe CL, Matera AG, Xiong Y: Growth suppression by ~18, a p16(INK4/MTS1)- and p14(INK4B/MTS2)-related CDK6 inhibitor, correlates with wild-type pRb function. *Genes Dev* 1994; 8:2939-2952.
- 57-Hirai H, Roussel ME, Kato JY, Ashmun RA, Sherr CJ: Novel INK4 proteins, p19 and ~18, are specific inhibitors of the cyclin D-dependent kinases cdk4 and cdk6. *Mol Cell Biol* 1995;15:2672-2681.
- 58-Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, Liu Q, Harshman K, Tavtigian SV, Stockert E, Day RS III, Johnson BE, Skolnick MH: A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. *Science* 1994;264:436-440,

- 59-Washimi O, Nagatake M, Osada H, Ueda R, Koshikawa T, Seki T, Takahashi T, Takahashi T In vivo occurrence of p16 (MTS 1) and ~15 (MTS2) alterations preferentially in non-small cell lung cancers. *Cancer Res* 1995;55:514-517.
- 60-Toyoshima H, Hunter T ~27, a novel inhibitor of Glycyclin-cdk protein kinase activity, is related to p21. *Cell* 1994;78:67-74.
- 61-Xiong Y: Why are there so many cdk inhibitors? *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 1996;1288:1-5.
- 62-Deng CX, Zhang PM, Harper JW, Elledge SJ, Leder P: Mice lacking p21(C/PI/WAF1) undergo normal development, but are defective in G₁ checkpoint control. *Cell* 1995;82:675-684.
- 63-Harper JW, Elledge SJ, Keyomarsi K, Dynlacht B, Tsai LH, Zhang P, Dobrowolski S, Bai C, Connell-Crowley L, Swindell E, Fox MP, Wei N: Inhibition of cyclin-dependent kinases by ~21. *Mol Biol Cell* 1995; 6:387-400.
- 64-Resnitzky D, Hengst L, Reed SI: Cyclin A-associated kinase activity is rate limiting for entrance into S phase and is negatively regulated in G₁ by p27Kip1. *Mol Cell Biol* 1995; 15:4347-4352.
- 65-Russo, A.A. et al. Crystal structure of the p27Kip1 cyclin-dependent-kinase inhibitor bound to the cyclin A-Cdk2 complex. *Nature* 1996;382, 325-331.
- 66-Chen JJ, Saha P, Kornbluth S, Dynlacht BD, Dutta A: Cyclin-binding motifs are essential for the function of p21 (CIP1). *Mol Cell Biol* 1996;16:4673-4682.
- 67-Hall M, Bates S, Peters G: Evidence for different modes of action of cyclin-dependent kinase inhibitors: ~15 and p16 bind to kinases, p21 and p27 bind to cyclins. *Oncogene* 1995;11:1581-1588.
- 68-Pan ZQ, Reardon JT, Li L, Flores-Rozas H, Legerski R, Sancar A, Hurwitz J: Inhibition of nucleotide excision repair by the cyclin-dependent kinase inhibitor ~21. *J Biol Chem* 1995;270:22008-22016.
- 69-Waldman T, Kinzler KW, Vogelstein B: p21 is necessary for the p53-mediated G₁ arrest in human cancer cells. *Cancer Res* 1995;55:5187-5190.
- 70-Zetterberg A, Larsson O, Wiman KG: What is the restriction point? *Curr Opin Cell Biol* 1995;7:835-842.
- 71-Elledge SJ: Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis. *Science* 1996;274:1664-1672.
- 72-Hayles J, Nurse P: Cell cycle regulation in yeast. *J Cell Sci Suppl* 1986

- 4:155-170.
- 73-Hirst K, Fisher E, McAndrew PC, Goding CR: The transcription factor, the cdk, its cyclin and their regulator: directing the transcriptional response to a nutritional signal. *Eur Mol Biol Organ J* 1994;13:5410-5420.
- 74-. Shambaugh GE III, Lee RJ, Watanabe G, Erfurth E, Karnezis AN, Koch AE, Haines GK III, Halloran M, Brody BA, Pestell RG: Reduced cyclin D1 expression in the cerebella of nutritionally deprived rats correlates with developmental delay and decreased cellular DNA synthesis. *J Neuropathol Exper Neurol* 1996;55:1009-1020.
- 75-Maity A, McKenna WG, Muschel RJ: The molecular basis for cell cycle delays following ionizing radiation: a review. *Radiother Oncol* 1994; 31:1-13.
- 76-Little JB, Nagasawa H, Keng PC, Yu Y, Li CY: Absence of radiation-induced G₂ arrest in two closely related human lymphoblast cell lines that differ in p53 status. *J Biol Chem* 1995; 270:11033-11036.
- 77-Yao SL, Akhtar AJ, McKenna KA, Bedi GC, Sidransky D, Mabry M, Ravi R, Collector MI, Jones RJ, Sharkis SJ, Fuchs EJ, Bedi A: Selective radiosensitization of p53-deficient cells by caffeine-mediated activation of p34(cdc2) kinase. *Nat Med* 1996;2:1140-1143.
- 78-McIlwraith AJ, Vasey PA, Ross GM, Brown R: Cell cycle arrests and radiosensitivity of human tumor cell lines: dependence on wild-type p53 for radiosensitivity. *Cancer Res* 1994; 54:3718-3722.
- 79-Russell KJ, Wiens LW, Demers GW, Galloway DA, Plon SE, Groudine M: Abrogation of the G₂ checkpoint results in differential radiosensitization of G₂ checkpoint-deficient and G₂ checkpoint-competent cells. *Cancer Res* 1995; 55:1639-1642.
- 80- Bakalkin G, Selivanova G, Yakovleva T, Kiseleva E, Kashuba E, Magnusson KP, Szekely L, Klein G, Terenius L, Wiman KG: p53 binds single-stranded DNA ends through the C-terminal domain and internal DNA segments via the middle domain. *Nucleic Acids Res* 1995;23:362-369.
- 81- Lee S, Elenbaas B, Levine A, Griffith J: p53 and its 14 kDa C-terminal domain recognize primary DNA damage in the form of insertion/deletion mismatches. *Cell* 1995;81:1013-1020.
- 82-Obersler P, Hloch P, Rasperger U, Stahl H: p53-catalyzed annealing of complementary single-stranded nucleic acids. *Eur Mol Biol Organ J* 1993;12:2389-2396.

- 83-El-Deiry WS, Tokino T, Velculescu VE, Levy DB, Parsons R, Trent JM, Lin D, Mercer WE, Kinzler KW, Vogelstein B: WAF1, a potential mediator of ~53 tumor suppression. *Cell* 1993;75:817-825.
- 84-Clarke AR, Gledhill S, Hooper ML, Bird CC, Wyllie AH: ~53 dependence of early apoptotic and proliferative responses within the mouse intestinal epithelium following gamma-irradiation. *Oncogene* 1994; 9:1767-1773.
- 85-Nataraj AJ, Trent JC II, Ananthaswamy HN: ~53 gene mutations and photocarcinogenesis. *Photochem Photo-biol* 1995;62:218-230.
- 86-Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, McArthur MJ, Montgomery CA Jr, Butel JS, Bradley A: Mice deficient for ~53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours. *Nature* 1992;356:215-221.
- 87-Harvey M, Vogel H, Morris D, Bradley A, Bernstein A, Donehower LA: A mutant ~53 transgene accelerates tumour development in heterozygous but not nullizygous p53-deficient mice. *Nat Genet* 1995; 9:305-311.
- 88-Kemp CJ, Wheldon T, Balmain A: p53-deficient mice are extremely susceptible to radiation-induced tumorigenesis. *Nat Genet* 1994; 8:66-69.
- 89-Lavigne A, Maltby V, Mock D, Rossant J, Pawson T, Bernstein A: High incidence of lung, bone, and lymphoid tumors in transgenic mice overexpressing mutant alleles of the ~53 oncogene. *Mol Cell Biol* 1989;9:3982-3991.
- 90-Li G, Ho VC, Berean K, Tron VA: Ultraviolet radiation induction of squamous cell carcinomas in ~53 transgenic mice. *Cancer Res* 1995; 55:2070-2074.
- 91-Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/CDKN1AID139.html>. erişim tarihi:25.7.2008
- 92-Staalesen Vidar, Knappskog Stian, Chrisanthar Ranjan, Nordgard Silje H. Nordgard at all The Novel p21 Polymorphism p21G251A Is Associated with Locally Advanced Breast Cancer *Clin Cancer Res* 2006;12(20) October 15, 2006
- 93-Dogliani C, Pelosio P, La & no L, Macri E, Meggiolaro E, Favretti E, Barbareschi M: p21/WAF1/CIPI expression in normal mucosa and in adenomas and adenocarcinomas of the colon: its relationship with differentiation. *J Pathol* 1996;179:248-253.
- 94-Shi Y, Zou M, Farid NR, Al-Sedairy ST: Evidence of gene deletion of p21 (WAF1/CIPI), a cyclin-dependent protein kinase inhibitor, in thyroid carcinomas. *Br J Cancer* 1996;74:1336-1341.

- 95-Yasui W, Akama Y, Kuniyasu H, Yokozaki H, Semba S, Shimamoto E, Tahara E: Expression of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 (WAF1/CIP1) in non-neoplastic mucosa and neoplasia of the stomach: relationship with p53 status and proliferative activity. *J Pathol* 1996;180:122-128.
- 96-Malkowicz SB, Tomaszewski JE, Linnenbach AJ, Cangiano TA, Maruta Y, McGarvey TW: Novel p21(WAF1/CIP1) mutations in superficial and invasive transitional cell carcinomas. *Oncogene* 1996;13: 1831-1837.
- 97- Yang Z. Y., Perkins N. D., Ohno T., Nabel E. G., and Nabel G. J. The p21 cyclin-dependent kinase inhibitor suppresses tumorigenicity in vivo. *Nat. Med* 1995; 1: 1052-1056.
98. Chen Y. Q., Cipriano S. C., Arenkiel J. M., and Miller F. R. Tumor suppression by p21(WAF1) *Cancer Res* 1995; 55: 4536-4539.
- 99- Chedid M., Michieli P., Lengel C., Huppi K., and Givol D. A single nucleotide substitution at codon 31 (Ser/Arg) defines a polymorphism in a highly conserved region of the p53-inducible gene WAF1/CIP1. *Oncogene* 1994; 9, 3021-3024.
- 100-Shiohara M., El-Deiry W., Wada M., Nakamaki T., Takeuchi S., Yang R., Chen D.-L., Vogelstein B., and Koeffler H. P. Absence of WAF1 mutations in a variety of human malignancies. *Blood* 1994; 84, 3781-3784.
- 101-Li Y. J., Laurent-Puig P., Salmon R. J., Thomas G., and Hamelin R. *Oncogene* 1995b; 10, 599-601
- 102- Mousses S., Ozelik H., Lee P. D., Malkin D., Bull S. B., and Andrulis L. Two variants of the CIP1/WAF1 gene occur together and are associated with human cancer. *Hum. Mol. Genet.* 1995; 4, 1089-1092
- 103-Cox L. S., and Lane D. P. Tumour suppressors, kinases and clamps: how p53 regulates the cell cycle in response to DNA damage. *Bioessays* 1995;17, 501-508.
- 104-Dulic V., Kaufman W. K., Wilson S., Tlsty T. D., Lees E., Harper J. W., Elledge S. J., and Reed S. I. *Cell* 1994; 76, 1013-1023
- 105-Miyashita T., and Reed J. C. Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene. *Cell* 1995;80, 293-299
- 106-Brugarolas J., Chandrasekaran C., Gordon J. I., Beach D., Jacks T., and Hannon G. J. Radiation-induced cell cycle arrest compromised by p21 deficiency. *Nature* 1995;377, 552-557.

- 107- Balbin M, Hannon G J. , Pendas A M. Ferrandos Adolfo A. Vizoso F, Fueyo A, and Lopez-Otin C. Functional Analysis of p21WAF1,CIP1,SDI1 Mutant (Arg94 → Trp) Identified in a human breast carcinoma evidence that the mutation impairs the ability of P21 to inhibit cyclin-dependent kinases. *The Journal of Biochemistry* 1996: Vol. 271, No. 26, Issue of June 28, pp. 15782–15786.
- 108-Choi HR, Tucker SA, Huang Z, et al. Differential expressions of cyclin-dependent kinase inhibitors (p27 and p21) and their relation to p53 and Ki-67 in oral squamous tumorigenesis. *Int J Oncol* 2003;22: 409–14.
- 109-Koufos A, Grundy P, Morgan K, et al. Familial Wiedemann-Beckwith syndrome and a second Wilms tumor locus both map to 11p15.5. *Am J Hum Genet* 1989;44:711–9.
- 110-Kuropkat C, Rudolph P, Frahm SO, Parwaresch R, Werner JA. Proliferation marker Ki-S11—a prognostic indicator for squamous cell carcinoma of the hypopharynx. *Virchows Arch* 1999;435:590–5.
- 111-Kawamata N, Morosetti R, Miller CW, et al. Molecular analysis of the cyclin-dependent kinase inhibitor gene p27/Kip1 in human malignancies. *Cancer Res* 1995;55:2266–9.
- 112-Claret FX, Hibi M, Dhut S, Toda T, Karin M. A new group of conserved coactivators that increase the specificity of AP-1 transcription factors. *Nature (Lond)* 1996;383:453–7.
- 113-Pagano M, Tam SW, Theodoras AM, et al. Role of the ubiquitin-proteasome pathway in regulating abundance of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27. *Science (Wash D C)* 1995;269:682–5.
- 114-Tomoda K, Kubota Y, Kato J. Degradation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 is instigated by Jab1. *Nature (Lond)* 1999;398:160–5
- 115-Cordon-Cardo, C., Koff, A., Drobnjak, M., Capodiceci, P., Osman, I., Millard, S. S., Gaudin, P. B., Fazzari, M., Zhang, Z. F., Massague, J., and Scher, H. I. Distinct altered patterns of p27KIP1 gene expression in benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst. (Bethesda)* 1998: 90: 1284–1291.
- 116.-Cote, R. J., Shi, Y., Groshen, S., Feng, A. C., Cordon-Cardo, C., Skinner, D., and Lieskovosky, G. Association of p27Kip1 levels with recurrence and survival in patients with stage C prostate carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst. (Bethesda)* 1998:90: 916–920.
- 117-Di Cristofano, A., De Acetis, M., Koff, A., Cordon-Cardo, C., and Pandolfi, P. P. Pten and p27KIP1 cooperate in prostate cancer tumor suppression in the mouse. *Nat. Genet* 2001;.27: 222–224.

- 118- Nakayama K., Ishida N., Shirane M., Inomata, A. Inoue T., Shishido N., Horii I., and Loh D. Y. Mice lacking p27(Kip1) display increased body size, multiple organ hyperplasia, retinal dysplasia, and pituitary tumors. *Cell* 1996: 85:707–720.
- 119- Fero M. L., Rivkin M., Tasch M., Porter P., Carow C. Polyak E., K., Firpo, E. Tsai, L. Broudy V., Perlmutter R. Kaushansky M., K., and Roberts J. M.. A syndrome of multiorgan hyperplasia with features of gigantism, tumorigenesis and female sterility in p27Kip1-deficient mice. *Cell* 1996:85:733–744.
- 120- Fero M. Randel, L., E. Gurley K. E., . Roberts J. M, and Kemp C. . The murine gene p27Kip1 is haplo-insufficient for tumour suppression. *Nature* 1998:396:177–180.
- 121- Winston J. T., Coats S. R., Wang, Y-Z. and Pledger W. J.. Regulation of the cell cycle machinery by oncogenic ras. *Oncogene* 1996:12:127–134.
- 122- Kato J. Y., Matsuoka, M. Polyak K., Massague, J. and Sherr C. J. Cyclic AMP-induced G1 phase arrest mediated by an inhibitor (p27Kip1) of cyclin-dependent kinase 4 activation. *Cell* 1994:79:487–496.
- 123- Assoian R. K. . Anchorage-dependent cell cycle progression. *J. Cell Biol* 1997:136:13.
- 124- Folkman J. and Moscona A.. Role of cell shape in growth control. *Nature* 1978: 273:345–349.
- 125.- Becker K. F., Atkinson M. J., Reich U., Becker I., Nekarda H., Siewert J. R., and Hofler H. E-cadherin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinomas. *Cancer Res.* 1994:54:3845–3852.
- 126- Berx G. Berx, Cleton-Jansen A. Strumane M., K., de Leeuw W. J., Nollet F., van Roy F., and Cornelisse C. E-cadherin is inactivated in a majority of invasive human lobular breast cancers by truncation mutations throughout its extracellular domain. *Oncogene* 1996:13:1919–1925.
- 127- Behrens, J. von Kries J. P., Kuhl M., Bruhn L., Wedlich D., Grosschedl R., and Birchmeier W. Functional interaction of beta-catenin with the transcription factor LEF-1. *Nature* 1996:382:638–642.
- 128- Molenaar M., van de W. Oosterwegel, M., Peterson-Maduro M. Godsave J., S., Korinek V., Roose J., Destree O., and Clevers H.). XTcf-3 transcription factor mediates betacatenin- induced axis formation in *Xenopus* embryos. *Cell* 1996: 86:391–399.

- 129- Huber O., Korn, R. McLaughlin J., Ohsugi M., Herrmann B. G., and Kemler R. Nuclear localization of beta-catenin by interaction with transcription factor LEF-1. *Mech. Dev.* 1996; 59:3–10.
- 130- Pietenpol J. A., Bohlander S. K., Sato Y., Papadopoulos N., Liu B., Friedman C., Trask B. J., Roberts, J. M. Kinzler KW., Rowley, J. D. and Vogelstein B. Assignment of human p27Kip1 gene to 12p13 and its analysis in leukemias. *Cancer Res.* 1995;55:1206–1210.
- 131- Ponce-Castaneda M. V., Lee M. Latres H., Polyak E., K., Lacombe L., Montgomery K., Mathew S., Krauter K., Sheinfeld J., Massague J., and Cordon-Cardo C. p27Kip1 : Chromosomal mapping to 12p12–12p13.1 and absence of mutations in human tumours. *Cancer Res.* 1995;55:1211–1214.
- 132- Slingerland J. and Pagano M. Regulation of the cdk inhibitor p27 and its deregulation in cancer. *J. Cell Physiol.* 2000;183:10–17.
- 133- Viglietto G. and Fusco A.. Understanding p27(kip1)deregulation in cancer: Down-regulation or mislocalization? *Cell Cycle* 2002;.1:394–400.
134. Lukas, J., Groshen, S., Saffari, B., Niu, N., Reles, A., Wen, W. H., Felix, J., Jones, L, A., Hall, F. L., and Press, M. F. WAF1/Cip1 gene polymorphism and expression in carcinomas of the breast, ovary, and endometrium. *Am. J. Pathol.* 1997;150: 167–175..
- 135--Roh, J-W., Kim, M-H., Kim, J-W., Park, N-H., Song, Y-S., Kang, S-B., and Lee, H-P. Polymorphisms in codon 31 of p21 and cervical cancer susceptibility in Korean women. *Cancer Lett.* 2001;165: 59–62.
- 136- Ma H, Jin G, Hu Z, Zhai X, Chen W, Wang S, Wang X, Qin J, Gao J, Liu J, Wang X, Wei Q and Shen H. Variant genotypes of CDKN1A and CDKN1B are associated with an increased risk of breast cancer in Chinese women. *Int. J. Cancer* 2006;119, 2173–2178
- 137-Keshava C, Frye BL, Wolff MS, McCanlies EC, Weston A. Waf-1(p21) and p53 polymorphisms in breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11:127–30.
- 138-. Powell BL, van Staveren IL, Roosken P, Grieu F, Berns EM, Iacopetta B. Associations between common polymorphisms in TP53 and p21WAF1/Cip1 and phenotypic features of breast cancer. *Carcinogenesis* 2002;23:311–5.
- 139-Cave H, Martin E, Devaux I, Grandchamp B. Identification of a polymorphism in the coding region of the p27Kip1 gene. *Ann Genet* 1995;38:108.39.

- 140-Kibel AS, Suarez BK, Belani J, Oh J, Webster R, Brophy-Ebbers M, Guo C, Catalona WJ, Picus J, Goodfellow PJ. CDKN1A and CDKN1B polymorphisms and risk of advanced prostate carcinoma. *Cancer Res* 2003;63:2033–6.
- 141-Sehondorf T, Eisele L, Gohring UJ, Valter MM, Warm M, Mallmann, P, Becker M, Fechteler R, Weisshaar MP, Hoopmann M. The V109G polymorphism of the p27 gene CDKN1B indicates a worse outcome in node-negative breast cancer patients. *Tumour Biol* 2004; 25: 306 – 12.
- 142-Tigli H, Buyru N, Dalay N. Molecular analysis of p27/kip1 gene in breast cancer. *Mol. Diagn* 2005;9:17-21.
- 143-Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16:1215.
- 144- Ressiniotis T, Griffiths G P, Keers M.F, Chinnery Pa, Birch M. A polymorphism at codon 31 of gene p21 is not associated with primary open angle glaucoma in Caucasians, *BMC Ophthalmology* 2005 5:5
- 145--Li Guojun, Sturgis Erich M., Li-E. Wang, Robert M. Chamberlain, Margaret R. Spitz, Adel K. El-Naggar, Waun K. Hong, and Qingyi Wei Association between the V109G Polymorphism of the p27 Gene and the Risk and Progression of Oral Squamous Cell Carcinoma, *Clinical Cancer Research* 2004:10, 3996–4002.
- 146- Hlavaty T, Lukac L, Huorka M, Bezayova T, Duris I. Positive family history promotes participation in colorectal cancer screening *Bratisl Lek Listy* 2005;106(10):318-23.
- 147-Guerreiro CS, Cravo ML, Brito M, Vidal PM, Fidalgo PO, Leitão CN. The D1822V APC polymorphism interacts with fat, calcium, and fiber intakes in modulating the risk of colorectal cancer in Portuguese persons. *Am J Clin Nutr.* 2007 Jun;85(6):1592-7.
- 148-Kune GA, Kune S, Watson LF. *Nutr Cancer.* Body weight and physical activity as predictors of colorectal cancer risk. 1990;13(1-2):9-17.
- 149-National Institute of Environmental Health Sciences, Environmental Genome Projects. NIEHS SNPS, Dec. 2004.
- 150 Li G., Liu Zhensheng, Sturgis Erich M. et al. Genetic polymorphisms of p21 are associated with risk of squamous cell carcinoma of the head and neck *Carcinogenesis* 2005;26 ;1596-1602.

151-Terry MB, Neugut AI. Cigarette smoking and the colorectal adenoma-carcinoma sequence: a hypothesis to explain the paradox. *Am J Epidemiol.* 1998 ;15;147(10):903-10.

152-Chang BL, Zheng SL, Isaacs SD, Wiley KE, Turner A, Li G, Walsh PC, Meyers DA, Isaacs WB, Xu J. A polymorphism in the CDKN1B gene is associated with increased risk of hereditary prostate cancer. *Cancer Res* :2004;15;64(6):1997-9.

153-Buhmeida Abdelbaset StageII Colorectal cancer:Lack of prognostic model Libyan J. Med, AOP:061221

154-Mehrkhani F, Nasiri S, Donboli K, Meysamie A, Hedayat A. Prognostic factors in survival of colorectal cancer patients after surgery. *Colorectal Dis.*2008 March 31.(yeni kabul).

7. HAM VERİLER

hastagrup * C79Tpoly

Crosstab						
			C79Tpoly			Total
			1,00 TT variant	2,00 CT variant	3,00 CC	1,00 TT variant
hastagrup	,00 kontrol	Count	4	28	28	60
		% within hastagrup	6,7%	46,7%	46,7%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	2	25	23	50
		% within hastagrup	4,0%	50,0%	46,0%	100,0%
Total		Count	6	53	51	110
		% within hastagrup	5,5%	48,2%	46,4%	100,0%

	p
Fisher	,810

1. HASTAGRUP * ESASSERARGPOLY

Crosstab						
			esasserargpoly			Total
			1,00 SerSer	2,00 SerArg variant	3,00 ArgArg variant	1,00 SerSer
hastagrup	,00 kontrol	Count	33	23	4	60
		% within hastagrup	55,0%	38,3%	6,7%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	39	10	1	50
		% within hastagrup	78,0%	20,0%	2,0%	100,0%
Total		Count	72	33	5	110
		% within hastagrup	65,5%	30,0%	4,5%	100,0%

	p
Fisher	,036

2. HASTAGRUP * VAL109POLY

Crosstab						
			Val109poly			Total
			1,00 TT	2,00 TG variant	3,00 GG variant	1,00 TT
hastagrup	,00 kontrol	Count	28	30	2	60
		% within hastagrup	46,7%	50,0%	3,3%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	24	22	4	50
		% within hastagrup	48,0%	44,0%	8,0%	100,0%
Total	Count		52	52	6	110
	% within hastagrup		47,3%	47,3%	5,5%	100,0%

	p
Fisher	,540

3. HASTAGRUP * C20TPOLY

Crosstab						
			C20Tpoly			Total
			1,00 TT variant	2,00 CT variant	3,00 CC	1,00 TT variant
hastagrup	,00 kontrol	Count	6	32	22	60
		% within hastagrup	10,0%	53,3%	36,7%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	2	25	23	50
		% within hastagrup	4,0%	50,0%	46,0%	100,0%
Total		Count	8	57	45	110
		% within hastagrup	7,3%	51,8%	40,9%	100,0%

	p
Fisher	,380

4. HASTAGRUP * C79TALLELİ

Crosstab					
			C79Talleli		Total
			,00 CC	1,00 CT+TT	,00 CC
hastagrup	,00 kontrol	Count	28	32	60
		% within hastagrup	46,7%	53,3%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	23	27	50
		% within hastagrup	46,0%	54,0%	100,0%
Total		Count	51	59	110
		% within hastagrup	46,4%	53,6%	100,0%

Chi-Square Tests		
	Value	p
Pearson Chi-Square	,005	,944

Risk Estimate			
	Value	95% Confidence Interval	
	Lower	Upper	Lower
Odds Ratio for hastagrup (,00 kontrol / 1,00 kolorektal ca)	1,027	,484	2,180

5. HASTAGRUP * C79CT C79TPOLY = 2 (FILTER)

Crosstab					
			C79CT C79Tpoly = 2 (FILTER)		Total
			0 CC+TT	1 CT	0 CC+TT
hastagrup	,00 kontrol	Count	32	28	60
		% within hastagrup	53,3%	46,7%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	25	25	50
		% within hastagrup	50,0%	50,0%	100,0%
Total		Count	57	53	110
		% within hastagrup	51,8%	48,2%	100,0%

Chi-Square Tests		
	Value	p
Pearson Chi-Square	,121	,728

Risk Estimate			
	Value	95% Confidence Interval	
	Lower	Upper	Lower
Odds Ratio for hastagrup (,00 kontrol / 1,00 kolorektal ca)	1,143	,539	2,423

6. HASTAGRUP * C79C C79TPOLY = 2 | C79TPOLY = 3 (FILTER)

Crosstab					
			C79C C79Tpoly = 2 C79Tpoly = 3 (FILTER)		Total
			0 TT	1 CT+CC	0 TT
hastagrup	,00 kontrol	Count	4	56	60
		% within hastagrup	6,7%	93,3%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	2	48	50
		% within hastagrup	4,0%	96,0%	100,0%
Total	Count		6	104	110
	% within hastagrup		5,5%	94,5%	100,0%

Chi-Square Tests	
	p
Fisher's Exact Test	,687

Risk Estimate			
	Value	95% Confidence Interval	
	Lower	Upper	Lower
Odds Ratio for hastagrup (,00 kontrol / 1,00 kolorektal ca)	1,714	,301	9,773

7. HASTAGRUP * ESASSER

Crosstab					
			esasser		Total
			,00 ArgArg	1,00 SerSer+SerArg	,00 ArgArg
hastagrup	,00 kontrol	Count	4	56	60
		% within hastagrup	6,7%	93,3%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	1	49	50
		% within hastagrup	2,0%	98,0%	100,0%
Total		Count	5	105	110
		% within hastagrup	4,5%	95,5%	100,0%

Chi-Square Tests		
	Value	p
Pearson Chi-Square	(b)	
Fisher's Exact Test		,374
a Computed only for a 2x2 table		
b 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,27.		

Risk Estimate			
	Value	95% Confidence Interval	
	Lower	Upper	Lower
Odds Ratio for hastagrup (,00 kontrol / 1,00 kolorektal ca)	3,500	,378	32,374

8. HASTAGRUP * ESASARG

Crosstab					
			esasarg		Total
			,00 SerSer	1,00 SerArg+ArgArg	,00 SerSer
hastagrup	,00 kontrol	Count	3	57	60
		% within hastagrup	5,0%	95,0%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	8	42	50
		% within hastagrup	16,0%	84,0%	100,0%
Total		Count	11	99	110
		% within hastagrup	10,0%	90,0%	100,0%

Chi-Square Tests		
	Value	p
Pearson Chi-Square	3,667(b)	,056
a Computed only for a 2x2 table		
b 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,00.		

Risk Estimate			
	Value	95% Confidence Interval	
	Lower	Upper	Lower
Odds Ratio for hastagrup (,00 kontrol / 1,00 kolorektal ca)	,276	,069	1,104

9. HASTAGRUP * ESASSERARG

Crosstab					
			esasserarg		Total
			,00 SerSer+ArgArg	1,00 SerArg	,00 SerSer+ArgArg
hastagrup	,00 kontrol	Count	37	23	60
		% within hastagrup	61,7%	38,3%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	40	10	50
		% within hastagrup	80,0%	20,0%	100,0%
Total	Count		77	33	110
	% within hastagrup		70,0%	30,0%	100,0%

Chi-Square Tests		
	Value	p
Pearson Chi-Square	4,365	,037

Risk Estimate			
	Value	95% Confidence Interval	
	Lower	Upper	Lower
Odds Ratio for hastagrup (,00 kontrol / 1,00 kolorektal ca)	,402	,169	,957

10. HASTAGRUP * VAL109T

Crosstab					
			val109T		Total
			,00 GG	1,00 TT+GT	,00 GG
hastagrup	,00 kontrol	Count	2	58	60
		% within hastagrup	3,3%	96,7%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	4	46	50
		% within hastagrup	8,0%	92,0%	100,0%
Total	Count		6	104	110
	% within hastagrup		5,5%	94,5%	100,0%

Chi-Square Tests		
	Value	Exact Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	(b)	
Fisher's Exact Test		,408
a Computed only for a 2x2 table		
b 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,73.		

Risk Estimate			
	Value	95% Confidence Interval	
	Lower	Upper	Lower
Odds Ratio for hastagrup (,00 kontrol / 1,00 kolorektal ca)	,397	,070	2,261

11. HASTAGRUP * VAL109G

Crosstab					
			val109G		Total
			,00 TT	1,00 GG+GT	,00 TT
hastagrup	,00 kontrol	Count	28	32	60
		% within hastagrup	46,7%	53,3%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	24	26	50
		% within hastagrup	48,0%	52,0%	100,0%
Total		Count	52	58	110
		% within hastagrup	47,3%	52,7%	100,0%

Chi-Square Tests		
	Value	p
Pearson Chi-Square	,019(b)	,889
a Computed only for a 2x2 table		
b 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 23,64.		

Risk Estimate			
	Value	95% Confidence Interval	
	Lower	Upper	Lower
Odds Ratio for hastagrup (,00 kontrol / 1,00 kolorektal ca)	,948	,447	2,010

12. HASTAGRUP * VAL109GT

Crosstab					
			val109gt		Total
			,00 TT+GG	1,00 GT	,00 TT+GG
hastagrup	,00 kontrol	Count	30	30	60
		% within hastagrup	50,0%	50,0%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	28	22	50
		% within hastagrup	56,0%	44,0%	100,0%
Total		Count	58	52	110
		% within hastagrup	52,7%	47,3%	100,0%

Chi-Square Tests		
	Value	p
Pearson Chi-Square	,394(b)	,530
a Computed only for a 2x2 table		
b 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 23,64.		

Risk Estimate			
	Value	95% Confidence Interval	
	Lower	Upper	Lower
Odds Ratio for hastagrup (,00 kontrol / 1,00 kolorektal ca)	,786	,370	1,669

13. HASTAGRUP * C20T C20T = 1 | C20T = 2 (FILTER)

Crosstab					
			C20T C20T = 1 C20T = 2 (FILTER)		Total
			0 CC	1 TT+CT	0 CC
hastagrup	,00 kontrol	Count	22	38	60
		% within hastagrup	36,7%	63,3%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	23	27	50
		% within hastagrup	46,0%	54,0%	100,0%
Total		Count	45	65	110
		% within hastagrup	40,9%	59,1%	100,0%

Chi-Square Tests		
	Value	p
Pearson Chi-Square	,983(b)	,322
a Computed only for a 2x2 table		
b 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 20,45.		

Risk Estimate			
	Value	95% Confidence Interval	
	Lower	Upper	Lower
Odds Ratio for hastagrup (,00 kontrol / 1,00 kolorektal ca)	,680	,316	1,460

14. HASTAGRUP * C20CT C20TPOLY = 2 (FILTER)

Crosstab					
			C20CT C20Tpoly = 2 (FILTER)		Total
			0 TT+CC	1 CT	0 TT+CC
hastagrup	,00 kontrol	Count	28	32	60
		% within hastagrup	46,7%	53,3%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	25	25	50
		% within hastagrup	50,0%	50,0%	100,0%
Total		Count	53	57	110
		% within hastagrup	48,2%	51,8%	100,0%

Chi-Square Tests		
	Value	p
Pearson Chi-Square	,121(b)	,728
a Computed only for a 2x2 table		
b 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 24,09.		

Risk Estimate			
	Value	95% Confidence Interval	
	Lower	Upper	Lower
Odds Ratio for hastagrup (,00 kontrol / 1,00 kolorektal ca)	,875	,413	1,855

15. HASTAGRUP * C20C C20TPOLY = 2 | C20TPOLY = 3 (FILTER)

Crosstab					
			C20C C20Tpoly = 2 C20Tpoly = 3 (FILTER)		Total
			0 TT	1 CT+CC	0 TT
hastagrup	,00 kontrol	Count	6	54	60
		% within hastagrup	10,0%	90,0%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	2	48	50
		% within hastagrup	4,0%	96,0%	100,0%
Total	Count		8	102	110
	% within hastagrup		7,3%	92,7%	100,0%

Chi-Square Tests		
	Value	Exact Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	(b)	
Fisher's Exact Test		,288
a Computed only for a 2x2 table		
b 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,64.		

Risk Estimate			
	Value	95% Confidence Interval	
	Lower	Upper	Lower
Odds Ratio for hastagrup (,00 kontrol / 1,00 kolorektal ca)	2,667	,514	13,842

16. HASTAGRUP * VARYANTALLEL2

Crosstab					
			varyantallel2		Total
			,00 2 den az variant allele	1,00 2 ve 2 den fazla	,00 2 den az variant allele
hastagrup	,00 kontrol	Count	13	47	60
		% within hastagrup	21,7%	78,3%	100,0%
	1,00 kolorektal ca	Count	17	33	50
		% within hastagrup	34,0%	66,0%	100,0%
Total		Count	30	80	110
		% within hastagrup	27,3%	72,7%	100,0%

Chi-Square Tests		
	Value	p
Pearson Chi-Square	2,092(b)	,148
a Computed only for a 2x2 table		
b 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 13,64.		

Risk Estimate			
	Value	95% Confidence Interval	
	Lower	Upper	Lower
Odds Ratio for hastagrup (,00 kontrol / 1,00 kolorektal ca)	,537	,230	1,254

FORMLAR

KOLOREKTAL KANSER ARAŞTIRMA FORMU

Form No:	Protokol No :	Tarih :
Adı Soyadı :	Yaş :	Cinsiyet :
Boy / Kilo :	Meslek :	Kan Grubu:
Memleket:	Yaşadığı yer:	

Öyküsü:

Yakınmanın başlangıç zamanı:

Öz geçmişi:

Sigara tüketimi (süre, miktar)

Alkol kullanımı

İlaç kullanımı

Transfüzyon

İskemik kalp hastalığı

Kronik Böbrek Yetersizliği

Steroid kullanımı

Kronik Karaciğer Hastalığı

Diğer

Diabetes Mellitus

Malign hastalık

Kemoterapi

Radyoterapi

Meyve tüketimi az orta bol

Sebze tüketimi az orta bol

Yağ tüketimi zeytinyağı bitkisel yağ(çiçek yağı vs) Hayvansal Yağ

Öz geçmişinde kolon ile ilgili yakınma / hastalık:

Konstipasyon

Ülseratif kolit

Crohn

Polip (tipini yazınız)

Adenom (tipini yazınız)

Soy geçmişi:

Kolon Ca

Diğer malign hastalıklar

Diabetes Mellitus

Kronik Karaciğer Hastalığı

Ameliyat öncesi Kan Biyokimyası:

Glukoz BUN Prot Alb

ALT AST ALP GGT

LDH T Kolest Trig

LDL HDL Ca P

Hb Htc Löko Tromb

Ameliyat öncesi tanı :

Yapılan Ameliyat :

Histopatolojik incelemeye ait veriler.

Ek belgeler:

ETİK KURUL KARARI



İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ YEREL ETİK KURUL TUTANAĞI

Toplantı Tarihi : 12/09/2007

Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Etik Kurul Toplantı Salonu

Toplantı Sayısı : 8

Sorumlu araştırmacılığını Üniversitemiz Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. İlhan YAYLIM ERALTAN'ın, üstlendiği ve Yüksek Lisans Öğrencisi Canan CACINA'nın yürüteceği 2007/1719 dosya no'lu "Kolorektal Kanserli Hastalarda Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitör Ailesinden CDKN1A ve CDKN1B Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi" başlıklı tez çalışması Araştırma Fonundan Desteklendiği takdirde kurulumuzda incelendi etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Prof.Dr. Zafer ARI
Etik Kurul Başkanı (Dekan Yardımcısı)

Prof.Dr. A.Yağız ÜRESİN (Katılmadı)
Farmakoloji ve Kli.F. A.D

Prof.Dr. Ahmet GÜL
İç Hast. A.D, Romatoloji Bilim Dalı

Prof.Dr. Berrin UMMAN
Kardiyoloji A.D.

Prof.Dr. Cahide GÖKKUŞU
Biokimya A.D

Prof.Dr. Kamil PEMBEÇİ (Katılmadı)
Anesteziyoloji A.D.

Prof.Dr. Sevinç EMRE
Çocuk Sağ. Ve Hast. A.D

Prof.Dr. Nuran YILDIRIM (Katılmadı)
Deontoloji ve Tıp Tarihi A.D.

Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN
Nöroloji A.D.

Prof.Dr. Pınar SAİP
İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü

Prof.Dr. Ümit TÜRKÖĞLU
Biokimya A.D

Prof.Dr. Çiçek BAYINDIR (Katılmadı)
Patoloji A.D., Nöropatolojik B.D

Prof.Dr. Yeşim ERBİL (Katılmadı)
Genel Cerrahi A.D.

Prof.Dr. Neşe ÇOLAK
İç Hast.A.D. End. Ve Metabolizma Hast. B.D.

Prof.Dr. Nurhan ENGİNAR
Farmakoloji ve Kli.F. A.D

Fatma Ceyda DÖNMEZER
Sivil Toplum Örgütü Üyesi

Av. Dilek Temiz ÖZBEK
Hukukçu

PATENT HAKKI İZİNİ

TELİF HAKKI İZİNİ

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Canan	Soyadı	Cacina
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	06.01.1980
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	25904351324
Email	canancacina@gmail.com	Tel	05542032080

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ DETAE MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI	
Lisans	MARMARA ÜNİVERSİTESİ FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ BİYOLOJİ BÖLÜMÜ	2006
Lise	YABANCI DİL AĞIRLIKLI ATAKÖY HASAN POLATKAN LİSESİ	1998

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
					68.75

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Mikrosoft Office	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri**Özel İlgi Alanları (Hobileri):**