

**KOLOREKTAL KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNE (İN
VİTRO) İRİNOTECAN VE KUKURBİTASİN I
KOMBİNE TEDAVİSİNİN ETKİSİ**

Zübeyde TANRIVERDİ

**İnönü Üniversitesi ve Ankara Üniversitesi
Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı
Ortak Yüksek Lisans Programı
Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Songül ÜNÜVAR
Ortak Tez Danışmanı : Prof. Dr. Mümtaz İŞCAN
Yüksek Lisans Tezi – 2015**

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK
BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KOLOREKTAL KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNE (İN
VİTRO) İRİNOTECAN VE KUKURBİTASİN I KOMBİNE
TEDAVİSİNİN ETKİSİ**

Zübeyde TANRIVERDİ

**İnönü Üniversitesi ve Ankara Üniversitesi
Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı
Ortak Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Songül ÜNÜVAR**

**Ortak Tez Danışmanı
Prof. Dr. Mümtaz İŞCAN**

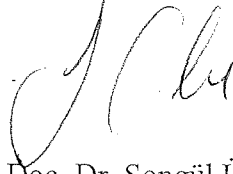
**MALATYA
2015**

Sevgili eşim ve çocuklarıma ithaf ediyorum

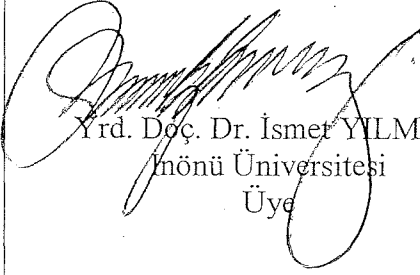
KABUL VE ONAY SAYFASI

İnönü Üniversitesi ile Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüleri Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Ortak Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Zübeyde TANRIVERDİ'nin "Kolorektal Kanser Hücreleri Üzerine (İn Vitro) İrinotecan ve Kukurbitasin I Kombine Tedavisinin Etkisi"** konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

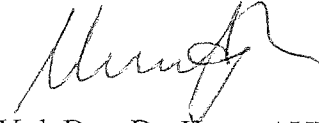
Tez Savunma Tarihi: 22/06/2015



Yrd. Doç. Dr. Songül ÜNÜVAR
İnönü Üniversitesi
Tez Danışmanı
Jüri Başkanı



Yrd. Doç. Dr. İsmet YILMAZ
İnönü Üniversitesi
Üye



Yrd. Doç. Dr. Hasan AYDIN
Adıyaman Üniversitesi
Üye

ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/....../2015 tarih ve 2015/..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanser	3
2.2. Kolonun Anatomisi	4
2.3. Kolon Kanseri	6
2.4. Kolon Kanserinin Epidemiyolojisi	6
2.5. Kolon Kanserinin Etyolojisi	7
2.5.1. Adenomatöz Polipler	7
2.5.2. Genetik Faktörler	8
2.5.3. Çevresel Faktörler ve Diyet	9
2.5.4. Kronik İnflamatuvar Barsak Hastalıkları	10
2.5.5. Radyasyon	10
2.6. Kolon Kanserinde Evreleme	10
2.7. Kolon Kanserinde Klinik Bulgular	13
2.7.1. Kolorektal Karsinomlarda Laboratuvar Tetkikleri	13
2.7.2. Kolorektal Karsinomlarda Radyolojik Tanı	14
2.8. Kolon Kanserinde Prognostik Faktörler	16
2.9. Kolon Kanserinin Tedavisi	18
2.9.1. Cerrahi Tedavi	18
2.9.2. Radyoterapi	19
2.9.3. Kolon Kanserlerinde RT Tedavisinin Avantaj ve Dezavantajları	19
2.9.4. Kemoterapi	19
2.10. İrinotekan	21
2.11. Kukurbitasin I	22
3. MATERYAL ve METOT	25
3.1. Kullanılan Cihazlar ve Sarf Malzemeleri	25
3.2. Kullanılan Kimyasallar	25
3.3. Hücreler (SW620 ve LS174T)	26

3.4. Hücre Kültürü	26
3.5. Hücre Pasajı	26
3.6. Tümör Hücrelerinin Dondurulması	26
3.7. MTT Testi	27
3.8. Wound Healing Testi	27
3.9. Klonogenik Test	28
3.10. İstatistiksel Analiz	28
4. BULGULAR	29
4.1. MTT Test Sonuçları	29
4.1.1. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle İrinotekan ile Tedavisi İçin MTT Test Sonuçları	29
4.1.2. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle Kukurbitasin I ile Tedavisi İçin MTT Test Sonuçları	31
4.1.3. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyonu ile Tedavisi İçin MTT Test Sonuçları	33
4.2. Wound Healing Test Sonuçları	35
4.2.1. SW620 Hücre Hattı İçin Wound Healing Test Sonuçları	35
4.2.2. LS174T Hücre Hattı İçin Wound Healing Test Sonuçları	41
4.3. Klonogenik Test Sonuçları	47
4.3.1. SW620 Hücre Hattının İrinotekan ile Tedavisinin Klonogenik Test Sonuçları	47
4.3.2. SW620 Hücre Hattının Kukurbitasin I ile Tedavisinin Klonogenik Test Sonuçları	48
4.3.3. SW620 Hücre Hattının İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyonu ile Tedavisinin Klonogenik Test Sonuçları	49
4.3.4. LS174T Hücre Hattının İrinotekan ile Tedavisinin Klonogenik Test Sonuçları	50
4.3.5. LS174T Hücre Hattının Kukurbitasin I ile Tedavisinin Klonogenik Test Sonuçları	51
4.3.6. LS174T Hücre Hattının İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyonu ile Tedavisinin Klonogenik Test Sonuçları	52
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	58
EKLER	68
EK-1. Özgeçmiş	68
EK-2. Etik Kurul Onayına Gerek Olmadığına Dair Belge	69
EK-3. Turnitin Dijital Makbuz	70
EK-4. Turnitin Orijinallik Raporu	71

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca önümüzde bir ışık gibi durup bize yol gösteren, engin bilgi, beceri ve tecrübelerini bizden esirgemeyip her fırsatta bize aktaran ve bilimsel, etik ve huzurlu bir çalışma ortamı oluşturan İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü ve Ankara Üniversitesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nın tüm değerli öğretim üyesi hocalarına teşekkür ederim.

Bitmez tükenmez enerjileri, gayretleri ve gülyüzlülükleri ile bütün laboratuvar çalışmalarına ve büyük bir özveri ve titizlikle tezin tüm aşamalarına katkı sağlayan çok değerli tez danışmanı öğretim üyesi hocalarım Yrd. Doç. Dr. Songül ÜNÜVAR ve Yrd. Doç. Dr. Ergül EYOL'a ve ortak tez danışmanı öğretim üyesi hocam Prof. Dr. Mümtaz İŞCAN'a en içten duygularıyla şükranlarımı sunarım.

Ayrıca tezimi teknik olarak destekleyen İnönü Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Birimi'ne ve Doç. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ'e de teşekkür ederim.

Tüm laboratuvar çalışmalarım boyunca hiçbir zaman desteklerini eksik etmeyen, bilgi ve tecrübelerini emekle ve sabırla benimle paylaşan değerli arkadaşlarım Fuat KARAKUŞ, Neşe BAŞAK ve Kadir YILMAZ'a çok teşekkür ediyorum.

Yaşamım boyunca sonsuz sevgi ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, beni maddi manevi her türlü destekleyerek bugünlere gelmeme sebep olan, akademik kariyer yapmamı belki de benden daha çok isteyen canım annem, babam ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Elbette ki bu zorlu süreçte her zaman yanımda olan, vermiş oldukları destek ve göstermiş oldukları sabır ve anlayış için sevgili eşim Halis'e ve canlarım Ahmet ve Akif'e de teşekkürler...

ÖZET

Kolorektal Kanser Hücreleri Üzerine (İn Vitro) İrinotekan Ve Kukurbitasin I Kombine Tedavisinin Etkisi

Amaç: Kolon kanseri, dünyada kadın ve erkeklerde gözlenen en yaygın kanserlerden biri olup, günümüzde birçok ülkede, ölüme neden olan hastalıklar sıralamasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırayı almaktadır. Metastatik ve tekrarlayan kolorektal kanserlerde çok sık kullanılan kemoterapötik ilaçlardan bir tanesi de topoizomeraz I inhibitörü olan irinotekandır. Kukurbitasin I ise JAK2/STAT3 sinyal yolağının seçici kuvvetli bir inhibitörüdür. Bu çalışmada, Kukurbitasin I'nin tek başına ve irinotekan ile birlikte kullanımının SW620 ve LS174T kolon kanser hücre hatları üzerine olan apoptotik ve anti-proliferatif etkilerini araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metod: Bu amaç kapsamında SW620 ve LS174T hücre hatlarına, hücre kültürü tekniği olan MTT testi, Wound Healing testi ve Klonogenik test uygulandı.

Bulgular: SW620 ve LS174T hücrelerinde Kukurbitasin I ve irinotekanın ayrı ayrı uygulandıkları zaman hücre çoğalmasını engelleyerek hücreleri apoptoza yönlendirdikleri belirlendi. Yine Kukurbitasin I ve irinotekanın birlikte uygulanması sonrasında antikanserojenik etkide daha fazla artış gözlemlendi.

Sonuç: Sonuç olarak çalışmamız, kanser tedavisinde, Kukurbitasin I'nin kemoterapötik ajanlarla birlikte kullanılmasının, uygun apoptotik ve anti-proliferatif etkiye düşük doz ve sürede ulaştırabilmesine bağlı olarak, klinik açıdan yararlı olabileceğine dikkat çekmektedir. Buna ek olarak, kukurbitasinlerin moleküler etkilerinin tam olarak belirlenmesi kolon kanser tedavisi için yeni moleküler hedeflerin tanımlanmasına olanak sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: İrinotekan, Klonogenik test, Kolorektal kanser hücreleri (SW620 ve LS174T), Kukurbitasin I, MTT testi, Wound Healing testi.

ABSTRACT

The Effect of the Combined Therapy, Irinotecan and Cucurbitacin I, on Colorectal Cancer Cells (In Vitro)

Aim: Colon cancer is one of the most common cancers observed in men and women in the world, today in many countries after cardiovascular disease it is leading cause of death in the ranking of second place. One of the many commonly chemotherapeutic drugs used in metastatic and recurrent colorectal cancer is irinotecan, which is also been the topoisomerase I inhibitor. As to Cucurbitacin I is a selective strong inhibitor of the JAK2 / STAT3 signaling pathway. In this the study we aimed to investigate the effects of use of Cucurbitacin I alone and together with irinotecan which have apoptotic and antiproliferative effects on SW620 and LS174T colon cancer cell lines.

Material and Method: Under this purpose MTT test which is a cell culture techniques, Wound Healing and Clonogenic tests were performed in SW620 and LS174T cell lines.

Results: It was determined that when administered separately, Cucurbitacin I and irinotecan led the cells to apoptosis In SW620 and LS174T cells by blocking cell proliferation. It was observed that further increase anticarcinogenic effect after the implementation of Cucurbitacin I and irinotecan together.

Conclusion: In conclusion, our study remarks in cancer treatment, use of Cucurbitacin I with other chemotherapeutic agents to be appropriate, depending on apoptotic and anti- proliferative effect at low dose and duration of reach, it is noteworthy that may be clinically useful. In addition, determination of the exact molecular effects of cucurbitacins, will allow the identification of new molecular targetsfor for colon cancer treatment.

Key words: Clonogenic test, Colorectal cancer cells (SW620 and LS174T), Cucurbitacin I, Irinotecan, MTT test, Wound Healing test.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AJCC : Amerikan Birleşik Kanser Birliği

APC : Adenomatöz Polipozis Coli

BT : Bilgisayarlı Tomografi

CEA : Karsinoembriyogenik antijen

cm : Santimetre

CRP : C Reaktif Protein

CPT : Kamptotesin

CuB : Kukurbitasin B

CuI : Kukurbitasin I

DMEM: Dulbecco's Modified Eagle Medium

DMSO: Dimetilsülfoksit

DNA : Deoksiribonükleik asit

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

EDTA : Etilendiamintetraasetik asit

FBS : Föetal Bovin Serum

5-FU : Florourasil

h : Saat

HCl : Hidroklorik asit

HRAS : İnsan RAS geni

JAK : Janus Family Kinases

KK : Kolon Kanseri

KT : Kemoterapi

mg : Miligram
ml : Mililitre
µl : Mikrolitre
µM : Mikrometre
MPS 1 : Metallo Panstimulin
MRG : Magnetik Rezonans Görüntüleme
MTT : Tetrazolium Boyası
N : Normalite
nM : Nanomolar
p : İstatistiksel anlam düzeyi
PBS : Fosfat Buffer Saline
PET : Pozitron Emisyon Tomografisi
RPMI : Hücre Kültürü medyumu
RT : Radyoterapi
SD : Standart Deviation
SN38 : 7-etil-10-hidroksil-kamptotesin
SPSS : İstatistik Paket Programı
STAT : Signal transducer and activator of transcription
TNM : Tümör Nodül Metastaz
TPA : Tissue Polipeptik Antijen
TPSA : Tissue Polipeptik Spesifik Antijen
UGT1A1: Uridine Diphosphate Glucuronosyltransferase 1A1
UICC : Uluslararası Kanser Birliği
USG : Ultrasonografi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Kolonun bölümleri	4
Şekil 2.2. İrinotekanın kimyasal yapısı	21
Şekil 2.3. Kukurbitasin I	23
Şekil 4.1. SW620 Hücre Hattı Wound Healing Testi (İrinotekan Tedavisi)	36
Şekil 4.2. SW620 Hücre Hattı Wound Healing Testi (Kukurbitasin I Tedavisi)	38
Şekil 4.3. SW620 Hücre Hattı Wound Healing Testi (İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyon Tedavisi)	40
Şekil 4.4. LS174T Hücre Hattı Wound Healing Testi (İrinotekan Tedavisi)	42
Şekil 4.5. LS174T Hücre Hattı Wound Healing Testi (Kukurbitasin I Tedavisi)	44
Şekil 4.6. LS174T Hücre Hattı Wound Healing Testi (İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyon Tedavisi)	46
Şekil 4.7. SW620 Hücre Hattının İrinotekan ile Tedavisinin Klonogenik Test Fotoğrafları	47
Şekil 4.8. SW620 Hücre Hattının Kukurbitasin I ile Tedavisinin Klonogenik Test Fotoğrafları	48
Şekil 4.9. SW620 Hücre Hattının İrinotekan ve Kukurbitasin I ile Kombine Tedavisinin Klonogenik Test Fotoğrafları	49
Şekil 4.10. LS174T Hücre Hattının İrinotekan ile tedavisinin Klonogenik Test Fotoğrafları	50
Şekil 4.11. LS174T Hücre Hattının Kukurbitasin I ile tedavisinin Klonogenik Test Fotoğrafları	51
Şekil 4.12. LS174T Hücre Hattının İrinotekan ve Kukurbitasin I ile Kombine Tedavisinin Klonogenik Test Fotoğrafları	52

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. 1936 Dukes Evrelemesi	10
Tablo 2.2. Aster-Coller ve Turnbull Modifikasyonu Evrelemesi	11
Tablo 2.3. TNM Sınıflandırması	12
Tablo 2.4. TNM Sisteminde Evreleme	13
Tablo 4.1. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle İrinotekan ile Tedavi Sonuçları	29
Tablo 4.2. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle İrinotekan ile Tedavisinin Grup İçi Karşılaştırma Sonuçları	30
Tablo 4.3. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 saat süreyle Kukurbitasin I ile Tedavi Sonuçları	31
Tablo 4.4. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle Kukurbitasin I ile Tedavisinin Grup İçi Karşılaştırma Sonuçları	32
Tablo 4.5. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 saat süreyle İrinotekan ve Kukurbitasin I ile Tedavi Sonuçları	33
Tablo 4.6. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle İrinotekan ve Kukurbitasin I ile Tedavisinin Grup İçi Karşılaştırma Sonuçları	34

1. GİRİŞ

Kanser vücut hücrelerinin kontrolsüz veya anormal bir şekilde çoğalarak komşu dokuları işgal etmesi ya da kaynak aldığı organdan daha uzak bir yere, kan veya lenf yoluyla yayılması ile oluşan bir hastalıktır (1). Son yıllarda görülme sıklığının ve ölüm oranlarının hızla arttığı önemli sağlık sorunlarından biridir. Kanser türleri arasında özellikle kolon kanseri, dünyada kadın ve erkeklerde gözlenen en yaygın kanserlerden biri olup, günümüzde birçok ülkede, ölüme neden olan hastalıklar sıralamasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırayı almaktadır (2). Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda yaklaşık 150.000 yeni olgu tespit edildiği ve hastaların yaklaşık üçte birinin kansere bağlı nedenlerden öldüğü belirtilmektedir (3). Ülkemizde Sağlık Bakanlığı istatistiklerine göre kolon kanseri tüm kanserler içinde %6.2 görülme sıklığı ile dördüncü sırayı almaktadır (4).

Kanser tedavisinde ölüm oranını azaltmak ve sağkalımı artırmak için cerrahi yöntemler, radyoterapi, kemoterapi, hormon tedavisi ve yeni tedavi yöntemlerinden immünoterapi, gen tedavisi, anjiyogenez inhibitörleri ve sinyal ileti sistemi inhibitörleri kullanılmaktadır (5, 6).

Sinyal iletim sistemlerinden biri olan JAK2 (Janus Family Kinases)/STAT3 (Signal transducer and activator of transcription) sinyal yolağının, yapılan birçok in vitro ve in vivo çalışmalarda kolorektal kanserlerde sürekli aktive olduğu bildirilmiştir. JAK ailesi, JAK-STAT yolağı ile, sitokin aracılı sinyallerin dönüşümünü sağlayan bir grup tirozin kinaza verilen isimdir. Bu yolaktaki transkripsiyon faktörleri ise STAT'lar olarak bilinir. JAK aktivasyonunu takiben STAT fosforilasyonu ve aktivasyonu sonucu, STAT'lar reseptörden ayrılıp hücre çekirdeğine göç ederek hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder (7). STAT aktivasyonu karsinogenez ile ilişkilidir. Örneğin STAT1, STAT3 ve STAT5 ekspresyonu kanserin neredeyse her tipinde belirlenmiştir (8). Bu yolağın yeni geliştirilecek ilaçlarla inhibe edilmesi kolon kanseri tedavisinde hedefler arasında yer almaktadır. Kanser hücrelerinde bozulmuş JAK2/STAT3 sinyal yolağının birçok inhibitörü bulunur. Bunlardan biri de kukurbitasin I (CuI)'dir.

CuI, JAK2/STAT3 sinyal yolağının seçici ve kuvvetli bir inhibitörüdür. CuI'nın akciğer kanseri, göğüs kanseri, anaplastik lenfoma gibi bazı insan kanser hücre hatlarında da JAK2 ve STAT3 fosforilasyonunu baskılayarak apoptozisi uyardığı ve hücre proliferasyonunu baskılayarak tümör gelişimini inhibe ettiği gözlenmiştir (9).

Normal hücrelerde olduğu gibi kanserli hücrelerde de DNA'nın tüm fizyolojik fonksiyonları tersiyer konfigürasyonuna bağlıdır ve bu nedenle DNA içeren tüm hücreler için topoizomeraz enzimlerinin aktivitesi hayati önem taşımaktadır. Replikasyon ve gen ekspresyonu işlemleri için DNA süper sarmalının polimerazlara veya transkripsiyon mekanizmasının bileşenlerinin girişine açık olması gerekmektedir. Bu değişim DNA topoizomerazların gevşeme ve dolaşık DNA ipliklerinin çözülmesi işlemlerini gerçekleştirmesini gerektirmektedir. Bu süreçte görev alan enzimlerden biri de topoizomeraz I'dir. Metastatik ve tekrarlayan kolorektal kanserlerde çok sık kullanılan ilaçlardan bir tanesi de topoizomeraz I inhibitörü olan irinotekandır (10).

İrinotekan, kamptotesin türevidir olan topoizomeraz I inhibitörü bir kemoterapötik ajandır. Metastazlı kolorektal kanserli hastalarda kullanımını onaylanmıştır. Akciğer kanseri ve bazı solid tümörlerde de klinik etkinliği gösterilmiştir. CPT11 karaciğerde karboksilesterazlar tarafından aktif metabolitine (SN38) çevrilen bir ön ilaçtır. SN38 ise UGT1A1 tarafından konjugasyona uğrayarak, inaktif SN38 glukronide (SN38G) metabolize olur. Bu metabolit ise safra ve idrar ile atılır (11).

Bu bilgilerin ışığında yaptığımız çalışmada, kolon kanseri hücre hatlarında (SW620 ve LS174T), topoizomeraz I inhibitörü olan İrinotekan ile JAK2/STAT3 inhibitörü olan CuI'nın ayrı ayrı ve birlikte belirli doz ve sürelerde uygulanması sonucunda, kanserli hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerinin araştırılması amaçlandı. Bu amaç kapsamında SW620 ve LS174T hücre hatlarına, hücre kültürü tekniği olan MTT testi, Wound Healing testi ve Klonogenik test uygulandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Kanser vücut hücrelerinin büyümesini ve bölünmesini kontrol eden genlerin mutasyonu, aşırı aktivasyonu veya fonksiyon kaybı sonucunda hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde çoğalarak komşu dokuları işgal etmesi veya kaynağını aldığı organdan daha uzak bir yere, kan veya lenf yoluyla yayılması ile oluşan genetik bir hastalıktır. Son yıllarda görülme sıklığı ve neden olduğu ölüm oranlarındaki artış nedeniyle önemli sağlık sorunlarından biridir (1).

Kanser gelişiminde hücreler; genomik dayanıksızlık, kromozom kaybı, nokta mutasyonları, gen amplifikasyonları, hücresel onkogen aktivasyonu, tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu, kromozomların yeniden düzenlenmesi, translokasyonlar veya insan kromozomlarının lokuslarına yabancı DNA dizilerinin girmesi gibi genetik değişikliklerin ve radyasyon, beslenme tarzı gibi kişisel alışkanlıklar, mesleki maruziyet gibi çevresel faktörlerin etkisiyle farklı aşamaları olan bir süreç içinde bağımsız çoğalabilme, kontak inhibisyon kaybı, anjiyogenez, ölümsüzlük, invazyon ve metastaz yeteneği kazanırlar (6, 12, 13). Bu değişimler, kanser hücrelerinin kontrolsüz biçimde çoğalmasına ve çevre doku ve organlara yayılmasına neden olur (14).

Tümörün köken aldığı dokunun tipine göre kanserin; karsinoma, sarkoma, lenfoma ve lösemi gibi birkaç temel çeşidi vardır:

Karsinoma deri veya iç organları çevreleyen epitel hücrelerden kaynaklanan malign tümörlerdir ve tüm kanser türlerinin %85'ini oluştururlar. En yaygın görülen karsinoma türleri meme, kolon, prostat ve akciğer kanserleridir.

Sarkoma kemik, kıkırdak, yağ, kas, kan damarları ve diğer bağ ve destek dokusunda görülen kanser çeşididir.

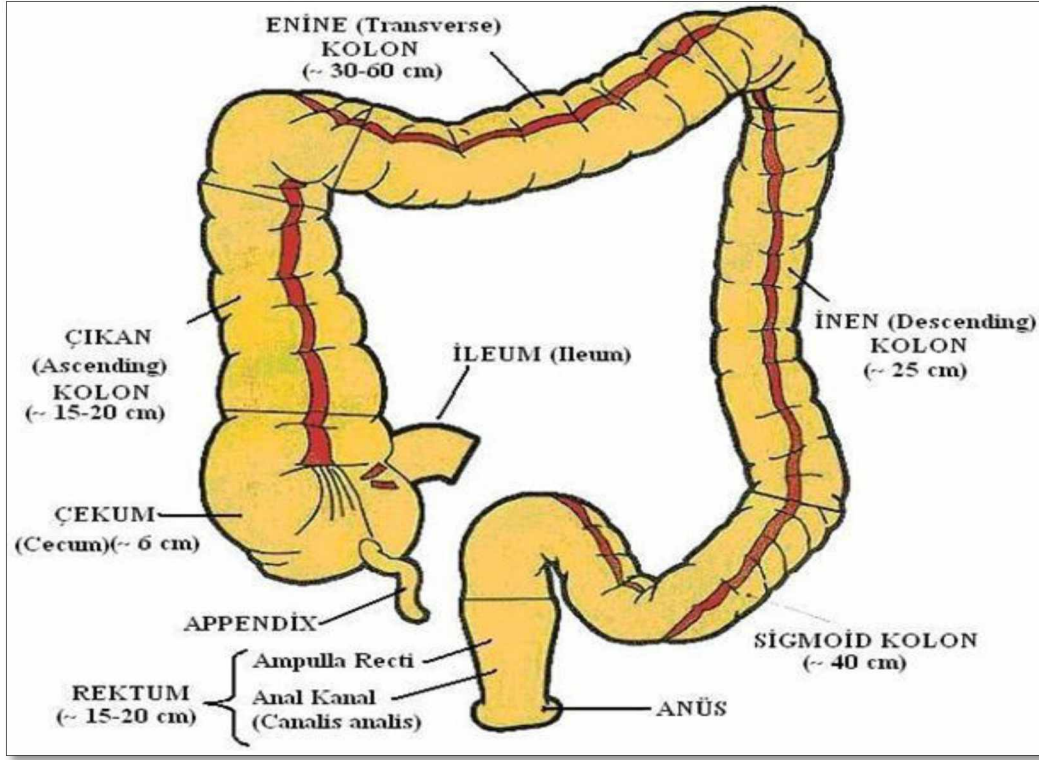
Lenfoma savunma sistemi hücrelerinde görülen kanser türüdür.

Lösemi ise kan oluşturan kemik iliği gibi dokularda başlayan ve çok sayıda anormal kan hücrelerinin üretilip dolaşıma girdiği kanserdir (15).

Bazı kanser türlerinin tanı ve tedavisinde son yıllardaki ilerlemelere karşın, kanserin erken tanı ve tedavisi halen önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (16).

2.2. Kolonun Anatomisi

Kalın bağırsak gastrointestinal sistemin ileoçekal valv ile anüs arasında kalan yaklaşık 2 m uzunluğundaki bölümüdür. Bu mesafe, toplam gastrointestinal sistem uzunluğunun hemen hemen 1/5'ini teşkil eder. Kalın bağırsak; çekum, kolon, rektum ve anüs bölümlerinden meydana gelir. Şekil 2. 1.'de kolonun kısımları verilmiştir. Kolon ise çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon ve sigmoid kolon isimli kısımlardan oluşmaktadır (17).



Şekil 2. 1: Kolonun bölümleri (17).

Çekum kalın barsağın başlangıç bölümüdür. Sağ iliyak fossada intraperitoneal yerleşmiştir. Uzunluğu 4-8 cm, çapı 7.5-8.5 cm olup kolonun en geniş yeridir. Kolonun çapı sigmoid kolona doğru giderek küçülür. Sigmoid kolonda çap 2.5 cm olur ve burası kolonun en dar kısmıdır. Bu çap farklılığı, semptomlar görülmeden önce çekal tümörlerin büyük hacimlere ulaşırken, sigmoid tümörlerin daha küçük çaplarda semptomatik hale gelebildiğini açıklar. Daha geniş çapa sahip olması nedeniyle çekum distal obstrüksiyonun olduğu durumlarda kolon rüptürünün en sık görüldüğü bölgedir. (18) Çekum hareketli bir organ olup, tüm yüzeyleri peritonla kaplıdır. Çekumun iç yan ve arka bölümüne ileoçekal valv açılır. Terminal ileumun sirküler ve longitudinal kas liflerinin oluşturduğu bu sfinkter mekanizması ileum içeriğinin çekuma doğru hızlı geçişini engellediği gibi, çekumdan ileuma doğru reflüyü de önler. Çekumun iç yan ve arka yüzüne ileoçekal valvin 2 cm altına apendiks açılır.

Çıkan kolon çekumdan karaciğer sağ lobuna kadar uzanır, hepatik fleksura oluşur ve transvers kolonla devam eder. Doğrultusu aşağıdan yukarıya ve önden arkaya doğru eğiktir. Yaklaşık 20 cm uzunluğundadır. Ön ve yan yüzleri peritonla kaplıdır.

Transvers kolon hepatik ve splenik fleksuralar arasında uzanır ve yaklaşık 50 cm uzunluğundadır. Tüm yüzeyi periton ile kaplıdır. Transvers mezokolon karın boşluğunu kolon üstü ve kolon altı olmak üzere iki bölüme ayırır. Bu anatomik yapı bir bölgedeki infeksiyonun diğerine yayılmasına karşı doğal bir engel oluşturur.

İnen kolon Splenik fleksuradan başlayıp pelvis girişinde sigmoid kolona kadar uzanır. Ortalama 25 cm uzunluğundadır, yan ve ön yüzü periton ile kaplı olup retroperitoneal yerleşimlidir.

Sigmoid kolon krista iliyaka hizasında psoas major kasının iç kenarından başlar ve üst rektumda sonlanır. Yaklaşık 40 cm uzunluğunda olup iç çapı ortalama 2.5 cm ile kolonun en dar kısmıdır. Pelviste bulunan üst ve alt kenarları fikse, orta kısmı çok mobildir. Bu özelliğinden dolayı volvulus en sık sigmoid kolonda görülür. Tamamen periton ile sarılıdır.

Sindirim sisteminin son kısmı olan **rektum**, kalın bağırsağın genişlemesi sonucu oluşan son 15 cm'lik bölümüdür ve anüsle dışarı açılır (17). Rektumun üst 1/3 bölümü ön ve yan yüzeylerinde peritonla kaplıdır. Orta 1/3 bölümünün yalnızca önyüzü periton tarafından çevrilir ve alt 1/3 bölümü peritoneal izdüşümün altındadır.

Anal kanal pelvik diyaframdan başlar ve anal sınırdaki biter. Yaklaşık olarak 4 cm uzunluğundadır. Anal kanal, birlikte anal sfinkter mekanizmasını oluşturdukları internal ve eksternal bir sfinkter tarafından çevrilmiştir. Internal sfinkter rektumun iç sirküler düz

kasının devamından meydana gelmiştir. İstemsiz bir kastır ve istirahat halinde iken kasılı durumdadır. Eksternal sfinkter U şeklinde üç halkadan oluşan (subkutanöz, süperfisial, derin) çizgili, istemli bir kastır (17, 18).

2.3. Kolon Kanseri

Kolon kanseri, bağırsak iç yüzeyini kaplayan ve epitel tabakayı oluşturan hücrelerde gelişen bir kanser türüdür. Kalın bağırsağın iç yüzeyini örten tabakadan bağırsak içine doğru gelişen kabartı ve şişliklere polip adı verilir (20). Kalın bağırsağın adenom yapılarının %90'dan fazlası lümene uzanım göstererek polip oluşturur. Bir adenomatöz polipin kanserleşmesi için yaklaşık 8-10 yıl kadar bir sürecin geçmesi gerekir. Polipler kanser öncüsü oldukları için kanserleşmeden önce cerrahi yöntemlerle alınması gerekir. Zamanla polipi oluşturan hücreler çeşitli sebeplerle kanser hücrelerine dönüşerek çoğalır ve tümör kitlesini oluştururlar. Oluşan kitle bağırsak duvarını işgal ederek, kontrolsüz büyümeye ve çoğalmaya devam eden hücreler bağırsağı tıkar. Buradan vücudun diğer hücrelerine ve organlarına metastaz yaparak ilerler (16, 20).

2.4. Kolon Kanserinin Epidemiyolojisi

Kolon Kanseri (KK) ülkemizde ve dünyada sık görülen kanserlerden biridir. KK, özellikle gelişmiş ülkelerde erişkin yaştaki toplumu etkileyen bir kanser türü olması nedeni ile önemli onkolojik sorunlardan biridir (16). KK, görülme sıklığı bakımından tüm kanserler arasında akciğer, meme ve prostat kanserlerinden sonra dördüncü sırada yer alırken, kansere bağlı ölüm nedenleri arasında akciğer ve meme kanserinden sonra üçüncü sırada yer almaktadır ve tüm kansere bağlı ölümlerinin %10'undan sorumludur (21). Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) verilerine göre dünya genelinde her yıl 1 milyondan fazla kişi kolon kanserine yakalanmakta ve yaklaşık 650.000 kişi kolon kanseri nedeniyle hayatını kaybetmektedir (16, 22). Erkeklerde görülme sıklığının kadınlardaki görülme sıklığına oranı 1,3'tür (19).

Son yıllarda kanser tanısında kullanılan yöntemlerin gelişmesi, tarama programlarının uygulanmaya başlanması, yeni cerrahi tekniklerin keşfi ve radyoterapi (RT), kemoterapi (KT)'de yeni kemoterapötik ajanların adjuvan tedavide kullanıma girmesi kolorektal kanserlerin daha erken dönemde teşhis edilmesine, daha etkin olarak tedavi edilmesine ve ölüm oranlarının azalmasına katkı sağlamıştır. Kolorektal kanserli hastaların %70'ine küratif amaçlı radikal cerrahi tedavi uygulanabilmektedir.

Lokal invazyon nedeniyle vakaların %10'unda rezeksiyon mümkün olmamakta ve vakaların %20'sinde de teşhis esnasında uzak metastaz saptanmaktadır. Kolorektal kanserde 5 yıl yaşama oranı hastalığın evresine bağlı olmakla birlikte, ortalama %50 civarındadır. Teşhis anında uzak metastazı olmayan ve küratif amaçlı cerrahi tedavi uygulanan hastalarda bu oran %75-80'e kadar yükselebilmektedir (19).

2.5. Kolon Kanserinin Etiyolojisi

Kolon kanseri gelişimi birçok faktörle ilişkili olduğu bilinen farklı aşamaları olan bir süreçtir. Kolon kanserinin kesin etiyojisi bilinmemekle birlikte, bazı adenomlar, genetik ve çevresel faktörler, diyet, kronik inflamatuvar barsak hastalıkları ve radyasyonun önemli rol oynadığı düşünülmektedir (16, 21). Diğer risk faktörleri arasında ileri yaş, erkek cinsiyet, obezite, sigara ve hareketsizlik yer almaktadır (23).

2.5.1. Adenomatöz Polipler

Kolorektal karsinomların büyük çoğunluğunun adenom zemininden geliştiği kabul edilir (24, 25). Adenomlar displastik kalın barsak epiteli ve destekleyici stroma içeren benign tümörlerdir. Tek ya da çok sayıda olabilirler. Adenomlar boyutlarına, makroskopik görünümüne (sesil, saplı, düz), yapısal oranlarına (tübüler, villöz, tubülovillöz) ve displazi derecelerine (hafif, orta, ağır) göre sınıflandırılabilirler. Elli yaş altında sık görülmemekle birlikte, yetmiş yaş ve üstünde görülme sıklığı %53-63 arasındadır. Kanser gelişme sıklığı benzer olmakla birlikte adenomlar erkeklerde kadınlardan üç kat fazla görülür (19).

Kolon poliplerinde malignite potansiyeli taşıyanlarda ortalama %10 oranında malign değişim görülmektedir. Geniş sesil adenomlarda malignite riski 4 kat daha fazladır. Villöz adenomlarda bu oran %30'a kadar çıkmaktadır. Çapı 2 cm üzerinde olanlarda %15-20, 1 cm ve altında olanlarda %1 oranında kansere rastlanmaktadır. Klinik olarak kolorektal polipten şüphe edildiğinde, kesin tanı ve tedavisi için en iyi yöntem tam bir kolonoskopi ile polipektomi yapılmasıdır. Endoskopik polipektomi ciddi displazi mevcut olan adenomatöz poliplerin büyük bir kısmının yeterli bir şekilde tedavisini sağlar. Kötü prognostik özellikleri olan malign poliplerde ise cerrahi rezeksiyon gerekebilir. Polipozis sendromlarındaki polipler dışında, neoplastik olmayan poliplerin malignite potansiyelleri çok az veya yoktur. Submukozal lezyonların malignite potansiyelleri ise bunların altta yatan etiyojilerine bağlıdır (18, 26, 27).

2.5.2. Genetik Faktörler

Normal hücrenin neoplastik şekle dönüşümünde onkojenlerde, tamir genlerinde ve tümör baskılayıcı genlerde genetik değişiklikler olmaktadır. Kolon kanserinde gözlenen en önemli değişiklik K-ras protoonkogen değişikliğidir (18). Protoonkogenler, sinyal iletiminde ve mitogenik sinyallerin düzenlenmesinde görev alırlar. Bunlardan biride Ras genidir. Ras geni 12 nolu kromozomun kısa kolunda (p) yer alır (28). Ras gen ailesinden olan K-ras geninin (Kirsten rat sarcoma) kolorektal tümörlerin %30-50'sinde mutasyona uğradığı bildirilmiştir (29). Yine Ras familyasının üçüncü üyesi olan HRAS genindeki mutasyonlara da kolorektal kanserlerde sık rastlanılmaktadır (30). Ras onkogenlerindeki mutasyonlar ile APC genindeki mutasyonlar ard arda gelince polipler büyür ve parmaklı uzantılara sahip bir hal alır. Bu aşama orta seviye adenom aşamasıdır.

Kolon kanserlerinde etkili olan baskılayıcı gen p53 olup, 17p kromozomunda yerleşmiştir. P53 geninin inaktivasyonu adenomun karsinoma dönüşümüne aracılık etmektedir. Bu olay kolorektal karsinogenezin geç dönemlerinde ortaya çıkan önemli bir basamaktır. Kolon kanserinde kromozom 17p nin delesyona uğrayan kısmı P53 genini içeren kısımdır ve sıklıkla P53 geninin bir alleli delesyona uğramışken diğer allelde de nokta mutasyonu bulunmaktadır (23, 28). P53'teki değişiklikler, kanser oluşmasında önemli bir etken olup, DNA-fosfoprotein bileşimini oluşturarak, hücrenin yaşamasında, proliferasyonu ve farklılaşmasında önemli rol oynar (18, 26).

Bunlar dışında birkaç genetik sendrom da kolorektal kanser ile ilişkilidir. Bu hastalıklar; herediter kolorektal kanserler vakalarının %6-10'unu oluşturmaktadır ve klasik olarak çok sayıda polip ile karakterize polipozis sendromları, polip içermeyen ya da çok az sayıda polip içeren nonpolipozis sendromları ve hamartamatöz polipozis sendromları şeklinde sınıflandırılmaktadır (19, 24, 25).

a.Herediter polipozis kolorektal kanserler: Familial Adenomatöz Polipozis, Gardner sendromu ve Turcot sendromu zemininde gelişir. Sporadik vakalara oranla daha genç yaşta ortaya çıkarlar (19).

Familial polipozis kolu: Kanser gelişmesinde etkili olan ve APC adı verilen bir gen 5q21 kromozomda saptanmıştır. Oftalmolojik muayenede retinal pigment epitelinin konjenital hipertrofisi tespit edildiğinde hastalığın varlığı belirlenebilir. Tüm gastrointestinal sistemi tutabilen, daha çok kolon ve rektumda çok sayıda polipoid oluşumla karakterize otozomal dominant geçiş gösteren ailevi bir hastalıktır. Bu adenomlar 10 yaş civarında görülür ve 30-40 yaşlarında adenokarsinom gelişme riski %80'dir.

Gardner Sendromu: Bu sendromda görülen adenomlar yalnız kolonda değil mide, duodenum ve ince barsakta da oluşabilir. Gastrointestinal adenomatoz polipozise eşlik eden lezyonları bulunan otozomal dominant geçişli bir sendromdur. Eşlik eden lezyonları, osteom (mandibula ve kraniumda), fibrom epidermoid kist, desmoid tümör, diş anomalileri, glioblastoma, tiroid papiller karsinom, hepatoblastoma, safra yolları kanserleri ve pankreas karsinomu bunlardan bazılarıdır.

Turcot Sendromu: Otozomal dominant olarak geçiş gösterir. Kolon yerleşimli adenomatozis polipozise, nöroepitelyal santral sinir sistemi tümörleri (medullablastoma) eşlik etmektedir.

b. Herediter non-polipozis kolorektal kanserler: Otozomal dominant geçiş gösteren, genellikle sağ kolon kanseriyle karakterize, erken yaşta ortaya çıkan bir hastalıktır. Lynch I, Lynch II Sendromu olarak bilinmektedir. Lynch I'de kolon ve rektumda kanserler olmasına karşın, Lynch II sendromunda mide, kolorektal, jinekolojik, üriner sistem ve meme kanserleri birlikte görülebilir. Bu hastaların %25'inde metakron, %20'sinde senkron tümörler görülür (18, 26, 27).

c. Familial Hamartamatöz Polipozis Sendromları:

Peutz-Jeghers Sendromu: Gastrointestinal sistem boyunca en çok ince barsaklarda, daha az oranda mide ve kolonda olmak üzere 1-4 cm büyüklüğünde hamartamatöz polipler ile birlikte dudaklar ve ağız mukozasında melanin lekeleri benekleri ile karakterizedir. Kanser gelişme riski %2-3 oranındadır.

Familial Juvenil Polipozis: Polipler genellikle kolon ve rektumdadır, puberte sırasında kaybolabilir. Hastaların %70'inde soliter, geri kalanlarda 2-3 polip olabilir, nadiren sayı 10'dan fazla olduğunda hastalık juvenil polipozis olarak nitelendirilir. Kanser bakımından risk taşır (18, 26).

2.5.3. Çevresel Faktörler ve Diyet

Kolorektal kanser sıklığı bölgelere göre değiştiğinden hastalığın etyopatogenezinde ve önlenmesinde çevresel faktörler önemlidir. Ülkelere göre görülme sıklığındaki farklılıklardan çevresel faktörler özellikle de beslenme alışkanlıkları sorumlu tutulmuştur. Bitkisel liflerden fakir, karbohidrat ve yağdan zengin, antioksidan içermeyen, vitamin ve eser elementlerden yoksun beslenme tarzı, karsinojenlerle temas, safra asitleri, sigara, alkol, iyonize radyasyon, katkı maddeleri kolorektal kanser gelişiminde etkili olmaktadır (19, 24).

2.5.4. Kronik İnflamatuvar Barsak Hastalıkları

Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı kronik inflamatuvar barsak hastalıklarının en önemli örnekleridir. Ülseratif koliti olan hastalarda kalın barsak karsinomu görülme sıklığı artmaktadır. Bu oran geçmişte %5-10 oranında olup günümüzde %2'ye yakındır ve tüm kolorektal karsinomların yalnızca %1'ini oluşturmaktadır. Bu risk çocukluk çağında başlayan, 10 yıldan uzun süre ve aralıksız devam eden tüm kolonu tutmuş vakalarda daha yüksektir. Yapılan bir çalışmada karsinom gelişme riski 10 yıl içinde %3, 20 yıl içinde %23, 35 yıl içinde %43 olarak bulunmuştur (24). Kalın barsak karsinomu Crohn hastalarının da önemli bir komplikasyonudur. Crohn hastalarında kalın barsak karsinomu gelişme riski, normal populasyondan yaklaşık üç kat daha yüksek iken ülseratif kolitte bu oran daha düşüktür (19, 25, 27).

2.5.5. Radyasyon

Karsinomun oluşmasında radyasyon tedavisi nadir fakat iyi tanımlanmış etyolojik bir nedendir (19, 25).

2.6. Kolon Kanserinde Evreleme

Kolorektal karsinomlarını evrelemede üç farklı sistem kullanılmaktadır. Bunlar, Dukes sistemi, Astler-Coller sistemi ve TNM sistemidir. Kolorektal kanserlerde ilk kez patolojik evrelendirmeyi; Londra'da St.Mark's hastanesinin patoloğu, Cuthbert E. Dukes 1932 yılında yapmıştır. Daha sonra Dukes 1936'da kendi sınıflamasını modifiye etmiştir (Tablo 2.1). 1954 yılında Aster- Coller tarafından tümör derinliğinin önemine dayanarak Dukes klasifikasyonu modifiye edilmiştir. 1967 yılında Turnbull, Dukes sistemine uzak metastazla ilgili olan evre D' yi eklemiştir (18) (Tablo 2.2).

Tablo 2.1. 1936 Dukes Evrelemesi

Evre A: Tümör kolon duvarında sınırlı, muskularis propriayı aşmamış

Evre B: Tümör tüm kolon duvarını tutup muskularis propriayı aşmış, kolonda serozayı invaze etmiştir. Lenf bezi tutulumu yok.

Evre C1: Lenf bezlerinde metastaz yok.

Evre C2: Mezenterik kan damarları etrafındaki lenf bezlerinde metastaz mevcut.

Tablo 2.2. Aster-Coller ve Turnbull Modifikasyonu Evrelemesi

<p>Evre A: Tümör mukazada sınırlıdır.</p> <p>Evre B1: Tümör muskularis propriaya ulaşmış, lenf nodu tutulumu yoktur.</p> <p>Evre B2: Tümör muskularis propriayı aşmış, serozaya ulaşmış, lenf nodu tutulumu yoktur.</p> <p>Evre C1: Tümör barsak duvarında sınırlı, fakat tümöre yakın lenf nodu tutulumu mevcuttur.</p> <p>Evre C2: Tümör barsak duvarını aşmış, fakat tümörden uzak lenf nodu tutulumu mevcuttur.</p> <p>Evre D1: Komşu organlara invazyon.</p> <p>Evre D2: Uzak metastaz (26).</p>
--

Daha ayrıntılı fakat prognozla Dukes kadar ilişkili olmayan başka bir evreleme sistemi olan TNM; Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (AJCC) ve Uluslararası Kanser Birliği (UICC)'nin tümör invazyon derinliği, lenf bezi tutulumu ve metastaz komponentlerini gruplandırmasıyla ortaya konmuştur (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. TNM Sınıflandırması

T= Primer tümör invazyon derinliği

TX : Primer tümörü bilinmeyen.

T0 : Primer tümörü yönünde bulgu yok.

Tis : Karsinoma in situ.

T1 : Tümör submukozaya invaze.

T2 : Tümör muskularis propria'ya invaze

T3 : Tümör muskularis propria'yı subserozaya ya da non-peritonealize perikolik dokuya kadar invaze eder.

pT3a : Muskularis propria sınırından <1 mm öteye invazyon.

pT3b : Muskularis propria sınırından 1-5 mm öteye invazyon.

pT3c : Muskularis propria sınırından 5-15 mm öteye invazyon.

pT3d : Muskularis propria sınırından >15 mm öteye invazyon.

T4 : Tümör komşu organ ya da yapılara invazyon göstermekte (pT4a) ve/veya visseral peritonu perforare etmektedir (pT4b).

N= Bölgesel lenf bezleri

NX : Bölgesel lenf bezleri değerlendirilememekte.

N0 : Lenf bezi metastazı yok.

N1 : 1-3 lenf bezi metastazı mevcut.

N2 : 4 ya da daha fazla lenf bezi metastazı mevcut.

N3 : Ana vasküler truncuslar boyunca bulunan tüm bezlerde metastaz.

M= Uzak metastaz

MX : Uzak metastaz değerlendirilememekte.

M0 : Uzak metastaz yok.

M1 : Uzak metastaz mevcut.

TNM sisteminde evreleme aşağıdaki gibidir (Tablo 2.4).

Tablo 2.4. TNM Sisteminde Evreleme

Evre I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
Evre II	T3	N0	M0
	T4	N0	M0
Evre III	Herhangi T	N1	M0
	Herhangi T	N2,N3	M0
Evre IV	Herhangi T	Herhangi N	M1 (31).

2.7. Kolon Kanserinde Klinik Bulgular

Genellikle görülen klinik bulgular şunlardır; dışkılama alışkanlığında değişiklik, rektal kanama ve akıntı, dışkının özelliklerinde değişiklik, ishal, kabızlık, dışkıyla karışık mukus sekresyonu, tenezm, yaş ve kötü kokulu gaz, anorektal ağrı, karın ağrısı, obstrüksiyon, distansiyon, perforasyon, apse, fistül, kilo kaybı, halsizlik, iştahsızlık ve anemi görülmektedir. Fiziki muayenede ele gelen kitle, rektal tuşede tümörün tespit edilebilmesi mümkündür. Rektum tümörlerinin 1/3'ü tuşe mesafesindedir (18, 32).

Hastaların yaklaşık %5'i hastaneye, kemik ağrısı, sarılık, patolojik kırık, nörolojik bulgular, tromboflebitler ve deri nodülleri gibi metastaz bulguları ile başvururlar. Ne yazık ki bu semptomlar ileri evre hastalıkta görülmektedir. Bu nedenle tümörün erken evrede yakalanabilmesi için 40 yaş üstü erkek ve kadınlara belli aralıklarla proktosigmoidoskopik inceleme yapılmalıdır. Bu tip araştırma ile olguların yaklaşık yarısı saptanabilmektedir (19, 25, 31).

2.7.1. Kolorektal Karsinomlarda Laboratuvar Tetkikleri

Kan sayımı, karaciğer fonksiyon testleri, CRP, dışkıda gizli kan, Galaktosiltransferaz II, Procalcitonin, CEA, CA-19-9, CA 50, CA 242, TPA (Tissue polipeptit antijen) ve TPSA (Tissue polipeptit spesifik antijen) yapılan tetkikler arasında sayılabilir. En sık kullanılanları CEA, CA 19-9 ve TPA' dır. Primer tümörün rezeksiyonundan önce CEA düzeyi tespit edilirse prognoz açısından yol gösterici olabilir.

Ancak bunların hiçbiri tek başına tanı için yeterli değildir, diğer radyolojik tetkiklerle desteklenmesi gerekmektedir (18, 27, 32).

2.7.2. Kolorektal Karsinomlarda Radyolojik Tanı

Kolorektal karsinom yavaş gelişim gösterir. Vakaların birçoğunda başlangıçta benign adenom mevcuttur ve yaklaşık 10 yıl gibi uzun bir sürede malign transformasyona uğrar. Semptomatik dönem öncesi tanı koymak prognoz açısından çok önemlidir.

a. Akciğer Grafisi: Kolorektal karsinomlar karaciğerden sonra en sık akciğere metastaz yaparlar. Bu nedenle cerrahi girişim öncesi ve takipler esnasında akciğer grafisi çekilmelidir (33).

b. Baryumlu Kolon Grafisi: Solid kontrast ile veya air kontrast ile (Double kontrastlı) grafiler çekilebilir. Tercih edilmesi gereken mukozal paterni değerlendirme olanağı sağlayan ve küçük milimetrik boyutlu polipleri saptayabilen çift kontrast kolon grafisidir. Dijital radyografi cihazları ile yapılan çift kontrast yöntemle saptanabilen en küçük polip çapı 2 mm olarak ölçülmüştür. En etkin primer başvurulması gereken radyolojik görüntüleme yöntemidir.

c. Ultrasonografi (USG): Batın içi kitlelerin değerlendirilmesinde, karaciğer metastazlarının saptanmasında ve rektum tümörlerinin evrelendirilmesinde kullanılmaktadır. Kısa zamanda yapılması, ucuz olması ve radyasyon riski taşımaması nedeniyle tercih sebebidir. Endorektal USG ile stenotik olmayan olgularda 14 cm'ye kadar tümörün yayılım derinliği, perirektal lenf tutulumu, etraftaki organ ve dokulara invazyon derecesi gösterilebilir. Endorektal USG, BT ve MRG ile rektum kanserinin evrelendirilmesi açısından karşılaştırılacak olursa hem duyarlılığı, hemde özgüllüğü daha fazladır. Endoskopi yoluyla USG yapmak mümkündür. Mukoza, muskularis serozada tümörün penetrasyonunu saptayabilir.

d. Bilgisayarlı Tomografi (BT): Kolorektal karsinomlu hastalarda kolonun rektal yollu su veya dilüe iyotlu kontrast madde ile opasifikasyonunu takiben gerçekleştirilen abdominopelvik bilgisayarlı tomografik inceleme rutinde en sık kullanılan kesitsel radyolojik yöntemdir. Cerrahi girişim öncesi abdominal kavitenin değerlendirilmesine imkan tanır. Karaciğer, adrenal, over, lenf nodu ve pelvis içi organlardaki metastazları gösterir. Ayrıca nüks veya rezidü kanser araştırılmasında da yardımcı olur. Anjiyografi ile BT'nin birlikte yapıldığı dinamik BT'de karaciğerdeki metastazların görülme oranı %95'lere ulaşmaktadır. Tek dezavantajı barsak duvarı katmanlarında invazyon derinliğini ayırt edememesidir.

e. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG): Yumuşak dokunun görüntülenmesinde BT'ye göre daha üstün bir yöntem olması ve multiplanar inceleme olanağı sağlaması yönünden daha avantajlıdır. T1 ve T2 ağırlıklı incelemeler söz konusudur. T1 ağırlıklı inceleme primer tümörle perirektal alanı ortaya koymakta ve normal doku ile fibrotik dokuyu ayırt edebilmektedir. Cerrahi girişim öncesi evrelendirmede ve karaciğer metastazının ortaya konulmasında tomografiye eşdeğerken, nükslerin saptanması açısından BT'den daha üstündür (32, 33).

f. Pozitron Emisyon Tomografisi (PET): Özellikle pelvisteki nüks tümör ile fibröz dokuyu ayırt etmekte kullanılır. Temeli hastaya fluorodeoksiglukoz adlı substrat enjekte edilerek doku metabolizmasındaki farklılığı ortaya koymaya dayanır. Kansersiz hücrelerde hipermetabolizma olması nedeniyle kanser hücrelerinin bulunduğu yerde aktivite tutulumu olacaktır (33). PET ve BT küçük rekürrensleri veya lenfadenopatilerdeki tümör odaklarını gösterebilir. Helikal BT ise artefaktları az olması ve birçok planda üç boyutlu görüntü verebilmesi ile farklı avantajlar sunmaktadır (34).

Endoskopik incelemeler: Endoskopik tetkik öncesi iyi bir barsak temizliği yapılması şarttır.

a. Rektosigmoidoskopi: Linea dentatanın 20-25 cm proksimalindeki lezyonlar görüntülenebilir. 40 yaş altı düşük riskli bireylerin taraması için uygundur.

b. Fleksibl sigmoidoskop: 60 cm uzunluğunda olup sol fleksuraya kadar olan lezyonların ortaya çıkarılmasında kullanılır. Kolorektal kanserlerin %50'si bu bölgede olduğu için çift kontrastlı baryum enema ile birlikte yapılırsa kolonoskopiye alternatif olabilir.

c. Kolonoskopi: Tüm kolon, rektum ve terminal ileumun değerlendirilebilmesi için kolonoskopik inceleme yapılmalıdır. Standart kolonoskop 160 cm uzunluğunda olup 1 cm den küçük polipleri de gösterebilir. Kolonoskopi ile inflamatuvar barsak hastalığı, kolonda iskemi, kolon divertikülü, sigmoid volvulus, gastrointestinal kanama, nontoksik megakolon, endometriozis, kolonda yabancı cisim, kolonik striktür, neoplazm ve sebebi anlaşılamayan diyarenin tanısı konulabileceği gibi, biyopsi, polipektomi, kanama kontrolü ve striktür dilatasyonu da yapılabilmektedir. En önemli komplikasyonları perforasyon, kanama ve anestezi komplikasyonları olup bunlar %0.2'den daha az sıklıkta görülür. Diğer radyolojik teşhis metotlarına karşın endoskopik tetkikin en önemli üstünlüğü; biyopsi alma, tanıyı doğrulama ve gereğinde tedaviyi aynı anda gerçekleştirmesidir (18, 33).

2.8. Kolon Kanserinde Prognostik Faktörler

Kolorektal karsinomlarda tümör muskularis propriayı tamamen penetre etmemişse 5 yıllık sağkalım %95, tamamını penetre etmiş, fakat lenf nodu yayılımı yoksa 5 yıllık sağkalım %80, nodal metastaz varsa 5 yıllık sağkalım % 20-40'dır.

Kolorektal karsinomun prognozu çok sayıda klinik ve patolojik parametrelerle ilişkili olup bu faktörler aşağıda sıralanmıştır (19, 35).

Yaş: Tümör çok genç ve yaşlılarda görüldüğünde prognoz genellikle kötü seyredir.

Cinsiyet: Prognoz kadınlarda erkeklerden daha iyidir (24, 31).

Tümör lokalizasyonu: Prognoz üzerine etkisi tartışmalıdır. Yapılan bir çalışmada, sol kolon karsinomlarının daha iyi prognozlu olduğu, sigmoid kolon ve rektumda yerleşen tümörlerin ise kötü seyirli olduğu gösterilmiştir. Başka çalışmalarda ise tümör lokalizasyonunun sağkalım ve lokal nüks üzerine etkisinin çok az olduğu sonucu elde edilmiştir (24, 31).

Tümör belirleyicileri: Kolorektal karsinomlar için 6 değişik tümör belirleyicisinden bahsedilmektedir. Bunlar TPA (Tissue Polipeptit Antijen), CEA, CA 19-9, CA 50, CA 242, ve TPSA (Tissue Polipeptit Spesifik Antijen)'dir. En sık kullanılanları CEA, CA 19-9 ve TPA'dır. 4.0 ng/ml den yüksek serum CEA seviyelerinin, tümörün evresinden bağımsız olarak prognoz üzerine kötü etkisi olduğu gösterilmiştir (24, 31). TPA ve TPSA tümör DNA'sının S fazını dolayısıyla proliferasyon hızını gösterir. CEA, CA 19-9 ve TPA primer tümörün tanısı, nükslerin saptanması ve gerek cerrahi gerekse adjuvan tedaviye tümörün verdiği cevabın gösterilmesinde rol oynar. İlk cerrahi operasyonda safra kesesi içinden alınan örnekte yapılan CEA ölçümlerinde yüksek değer tespit edilmesi gizli karaciğer metastazlarının ortaya konulmasına yardımcı olmaktadır. Ayrıca ameliyat sonrası yapılan kolonoskopik tetkiklerde anastomoz kenarlarından alınan biyopsilerde, İnsan Metallo Panstimulin'in (MPS-I) yüksek oluşu kolon tümörünün daha agresif özellikte olduğunu ortaya koyar. Adenomatöz polipi olanların rektal biyopsilerinde trozinaz artışının kanser gelişmesinin en erken belirtisi olduğu bildirilmektedir (36, 37).

Birden Fazla Tümör Odağı Varlığı: Kolorektal karsinomlar multifokal olabilirler. Senkron ya da metakron malignitesi olan hastaların sağkalım oranı, soliter kolorektal karsinomlu hastalarınki ile benzerdir.

Tümörün Boyutu: Tümör boyutu ile prognoz arasında ilişki olmasına rağmen, bunun güvenilir prognostik faktör olmasını engelleyecek kadar çok istisna vardır. Tümör boyutu ve lenf nodu metastazı arasındaki ilişkisi de zayıftır (31).

Lokal Yayılım: Poliplerde insidental olarak bulunan fokal mikroskopik karsinomun prognozu çok iyidir. Mukoza ve submukozada sınırlı olanlarda da prognoz iyidir. Bölgesel lenf nodlarına metastaz yapmış veya barsak duvarını aşmış invazyonu olan tümörlerde prognoz kötü seyretmektedir.

Tümörün Sınırları: Ekspansif sınırlı ve tümör ile komşu doku arasında inflamatuvar yanıt oluşturan tümörler daha iyi prognozludur. Total mezorektal rezeksiyon sonrası tümör, radyal cerrahi sınıra 2 cm'den yakınsa lokal rekürens olasılığı artar (24, 31).

Perforasyon: Barsak duvarında aşırı tümör invazyonu sonucu oluşan perforasyon kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (38).

Obstrüksiyon: Dukes'e göre evrelenen bazı serilerde obstrüksiyon, bağımsız kötü bir prognostik faktör olarak bulunmuştur (31).

İnflamatuvar Reaksiyon: Stromanın eozinofiller ve S100 protein pozitif dendritik hücrelerle infiltrasyonu, Crohn hastalığındakine benzer özellikteki peritümöral lenfositik infiltrasyon iyi prognozla ilişkilidir.

Mikroskopik Tümör Tipi: Müsinöz karsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom ve anaplastik karsinom genel adenokarsinoma göre kötü prognozludur (31).

Vasküler ve Perinöral İnvazyon: Vasküler invazyon olduğunda 5 yıllık sağkalım belirgin azalır. Perinöral invazyon ilerlemiş bir hastalığın işaretidir ve genellikle kötü bir patolojik bulgudur.

Nöroendokrin Hücre Varlığı: Adenokarsinomlarda endokrin hücre varlığının prognoz yönünden olumsuz etkisi olduğu bildirilmiştir (24, 31).

Hücre Proliferasyonu: Hücre siklusunun S-fazında ölçülmüş yüksek proliferatif aktivitenin kötü prognozla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (31).

Lenf Nodu Tutulumu: Lenf nodu tutulumu günümüzde en güçlü ve en önemli prognostik göstergedir. Tümör lenf düğümlerine yayıldığında beş yıllık sağkalım oranı düşer. Tutulan lenf bezi sayısının fazla olması kötü prognoz göstergeleri arasındadır. Tümörün hemen komşuluğunda tutulan nodlar dışında lenf nodu tutulumu varsa kür çok nadirdir. Apikal nod tutulumu kötü prognozu gösterir. Lenf nodu tutulumu derecesi ve tümörün boyutları arasında bir ilişki bulunmuştur (39).

Tümör Hücrelerinin DNA İndeksi: Flov sitometre ile tümör hücrelerinin DNA indeksi ortaya konulabilir. Bu hücreler daha ziyade diploid nükleoslu olup anöploid nükleoslu tümörlere göre daha az metastaz yaparlar. İleri evre tümörlerin anöploid olma eğilimi vardır. Bazı çalışmalarda tümörün klinik patolojik evresinden bağımsız olarak DNA indeksinin prognostik değeri olduğu ortaya konulmuştur (40).

Anjiyogenez: Neovaskularizasyon tümör büyümesinde kritik bir rol oynar. Mikrodamarlanma yoğunluğundaki artış kötü prognostik faktör olarak yorumlanmıştır. Kolorektal karsinomlarda birbirinden bağımsız çalışmalarda anjiyogenezin, nüks gelişimini öngördüğü ve sağ kalımda azalma ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (24, 25).

Evre: Kolon kanserlerinde klasik tedavi yöntemi cerrahi rezeksiyondur ve patolojik evre en önemli prognostik faktördür (24, 25, 31). İleri evre hastalıkta kemoterapi tedavisi kullanımı yaygındır (19).

2.9. Kolon Kanserinin Tedavisi

Kolorektal karsinomların esas tedavisi cerrahi olmakla beraber sadece cerrahi tedavi ile hastaların önemli bir kısmında cerrahiye takib eden ilk 3 yıl içinde nüksler ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle gerek sistemik ve gerekse lokal etkilerinin olabileceği düşüncesiyle kemoterapi ve radyoterapi tedaviye eklenmektedir. Birçok kanser türünün tedavisinde olduğu gibi kolorektal kanserin tedavisinde de cerrahi, kemoterapi, radyoterapi veya bunların birlikte kullanımı söz konusudur.

2.9.1. Cerrahi Tedavi

Kolorektal kanserlerde cerrahi tedavinin ana hedefi, kanserli kolon kesimi ile birlikte onun lenfatik drenajını içeren mezo ve kanser ile tutulmuş yakın organ ve yapılarını çıkartılması esasına dayanır. Kolonun lenfatik sistemi o kesimi besleyen arterlere eşlik ettiği için çıkartılacak barsağın boyutları onu besleyen damarlara göre ayarlanır (18, 26).

Cerrahi tedavi prensipleri tümörün evresine göre değişir. Uzak organ metastazı olmayan tümörlerde küratif radikal rezeksiyon uygulanır. Karaciğer, kolorektal kanser metastazları tarafından sıkça tutulan bir organdır (%75). Kolorektal kanserlerin %25 kadarında başvuru esnasında, %50'sinde ise 5 yıl içinde karaciğer metastazı saptanır. Tedavi edilmeyen olguların ortalama yaşam süresi 5 ay, 3 yıllık yaşam süresi %20 ve 5 yıllık yaşam süresi %1-2'dir.

Karaciğer rezeksiyonu kolorektal kanser metastazları için kesin tedavi şansı kanıtlanmış olan tek yöntemdir. Karaciğer rezeksiyonu sonrası 5 yıllık yaşam oranı %20-40 ve ortalama yaşam süresi 28-40 aydır (31). Karaciğerde metastaz olması operabilite yönünden en önemli kriterlerden biridir. Karaciğer ve akciğer metastazlarında rezeksiyon için kesin bir kontrendikasyon yoktur. Hatta aksine primer tümör rezeksiyonu ile beraber mümkünse metastatik kitlenin de çıkarılması gerektiği benimsenmiştir.

Karaciğer ve diğer organlardaki izole uzak metastazların cerrahi eksizyonunun bazı vakalarda uzun dönem yaşama şansını artırdığı gösterilmiştir (31).

Kolon kanserlerinin yaklaşık %15'i barsak tıkanması veya tümörlü bölgede delinme ya da tıkanma şeklinde acil bir tablo ile ortaya çıkar. Sağ kolon kanserlerinde rezeksiyon ve ileokolik anastomoz benimsenen yöntemdir. Perfore sol kolon kanserlerinde anastomozun daha sonra yapılacağı rezeksiyon standart bir yöntem olarak kabul edilir (19).

2.9.2. Radyoterapi

Kolon kanserinde ana tedavi yöntemi cerrahi olmakla beraber lokal nüks ve uzak metastaz riski adjuvan tedavileri gerekli kılmaktadır. Kolon kanserlerinde radyoterapi (RT) preoperatif dönemde adjuvan olarak, postoperatif dönemde ise nüksleri önlemek amacıyla kullanılabilir (31).

Adjuvan RT ile amaç lokal rekürensini azaltmak ve sağkalımı artırmaktır. Bununla birlikte adjuvan radyoterapinin erken ve geç etkileri ile maliyeti de göz önüne alındığında hangi hasta grubunun bu tedavilerden yarar göreceğinin belirlenmesi önem kazanmaktadır.

2.9.3. Kolon Kanserlerinde RT Tedavisinin Avantaj ve Dezavantajları

Preoperatif avantajları: Tümörün hacmini küçültür, rezektabilitesini kolaylaştırır. İnce barsak hasarı daha az olur. Lokal tümör nüksünü azaltır ve lenf nodlarında tümör kontrolünü sağlar.

Preoperatif dezavantajları: Erken evre tümörlerde (T1-2N0M0) gereksiz verilebilir. Cerrahi işlem gecikir.

Postoperatif avantajları: Histopatolojik bulgulara göre hastalar daha iyi seçilir. Lokorejiyonel nüks oranları azalır. Yüksek riskli hastalar tesbit edilir ve ameliyat esnasında klipler yerleştirilir. İnce barsakları RT sahasından uzaklaştırarak işlemler yapılır.

Postoperatif dezavantajları: Vaskülarite bozulduğu için RT'ye duyarlılık azalır. Cerrahi operasyon sırasında çevreye yayılan tümör hücrelerine etkisizdir. Cerrahi yapışıklıklar nedeniyle ince barsak hasarları daha fazla olur (19, 41).

2.9.4. Kemoterapi

Kolon kanserleri tanısında hastaların yaklaşık üçte biri cerrahi olarak rezeksiyon şansını kaybetmiş durumdadır. Kalanların yarısı ise potansiyel cerrahi tedaviye rağmen nüks etmektedir. Bu durum, adjuvan olarak etkin bir kemoterapi (KT) uygulamasının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

KT, cerrahi öncesi (neoadjuvan), cerrahi sonrası (adjuvan) veya palyatif amaçlı sistemik ve periton içi olarak uygulanabilmektedir (26).

Kanseri tam olarak rezeke edilmiş hastalarda en önemli prognostik faktör patolojik evre olup, bunu serozal penetrasyon, yüksek tümör derecesi, lenf nodu tutulumu ve lenfovasküler invazyon izlemektedir (42).

Erken evrelerde cerrahi tedavi yeterli olmakla birlikte, cerrahi rezeksiyonun mümkün olduğu daha ileri evredeki hastalara adjuvan tedavilerin eklenmesi ile hastalısız sağkalım ve genel sağkalım sürelerinde uzaması sağlanmaktadır. Randonize klinik çalışmalarda, adjuvan kemoterapinin evre III kolorektal kanserli hastalarda hastalık nüksü ve hastalığa bağlı ölüm riskinde sırasıyla yaklaşık %40 ve %33 oranında azalma sağladığı gösterilmiştir (43, 44).

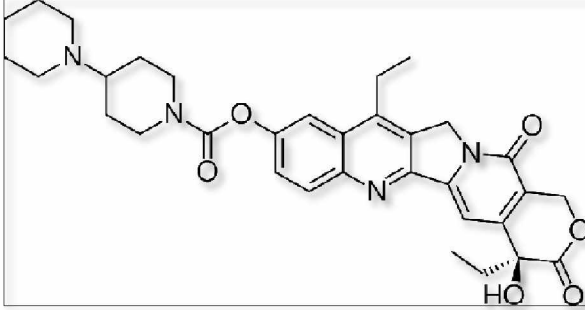
Evre II kolon kanserlerinde adjuvan tedavi yaygın olarak kabul görmüş olmamakla birlikte, bu gruptaki hastaların yaklaşık %20'sinin hastalığın nüksetme riski vardır. Penetrasyon ve perforasyon varlığı, komşu organlara invazyon ve kötü diferansiyasyon yineleme potansiyeline sahip yüksek riskli hastaların belirlenmesi bakımından önem taşıyan prognostik faktörler olarak tanımlanmaktadır. Geniş çaplı randomize çalışma sonuçları bu evrede adjuvan kemoterapinin sınırlı bir katkısının olduğunu göstermektedir (45).

Günümüzde kolorektal kanser tedavisinde en çok kullanılan kemoterapötik ajan 5-florourasil (5-FU) dir. Lökovorin, interferon- α veya levamisol ile kombine edilmesi 5-FU'in etkisini arttırmaktadır. 5-FU ile lökovorinin birlikte kullanılmasının nüks oranını azalttığı ve yaşam süresini uzattığı saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda 5-FU, interferon- α ve interlökin 2'nin birlikte kullanılması ile daha iyi sonuçlar elde edildiği savunulmaktadır. Küratif cerrahi rezeksiyon sonrasında nüks ve metastazların önlenmesi amacıyla adjuvan kemoterapi uygulanabilir. Ancak adjuvan kemoterapinin lenf nodu tutulumu olan hastalarda etkili olduğu, lenfatik tutulumun olmadığı olgularda ise prognozu değiştirmedığı ileri sürülmektedir.

Son yıllarda yeni kullanıma giren kemoterapötik ajanlar olan İrinotekan ve Oksaliptin'nin kolon kanser tedavisinde kullanıma girmesi ile 5-FU eski etkinliğini kaybetmiştir. Yeni kuşak kemoterapötik ajanlara biyolojik ajanların da eklenmesiyle kolon kanserlerinin adjuvan tedavilerinde yeni bir dönemin başlangıcı oluşmuştur (19).

2.10. İrinotekan

Suda çözülebilen semisentetik bir kamptotesin (CPT) türevidir Şekil 2.2’de irinotekanın kimyasal yapısı verilmiştir.



Şekil 2.2. İrinotekanın kimyasal yapısı

Çin’deki *Camptotheca Acuminata* adlı bir bitkiden izole edilmiştir. CPT molekülünün lakton halkası, enzimin aktif bölgesi ile tam olarak etkileşebilmesi için gereklidir. Fizyoloji pH’da lakton halkası, inaktif olan karboksilat formuna çevrilmek üzere hidrosillenir ve ayrıca en önemlisi CPT’nin çözünürlüğü azdır. İrinotekan ise CPT’den daha çözünür halde ve lakton formları serumda daha kararlı durumdadır. Farklı sübstitüentlerin değişik pozisyonlarda yapıya eklenmesi ile karboksilat formlarının insan serum albuminine bağlanması engellenmektedir (46,47). İnsan serum albumini, tercihen CPT’nin karboksilat formuna bağlanır. Böylece serumda lakton-karboksilat dengesinin, inaktif karboksilat molekülü lehine değişimi sağlanmış olur. İnsan serum albuminine, irinotekan molekülünün bağlanması ile oluşan direnç sonucu serumda yüksek oranda aktif lakton formu oluşmaktadır. Ayrıca, DNA’nın replikasyon sürecinde bir zincirini keserek ve bunun hemen ardından tekrar o zincire bağlanarak çözülmesine ve yeniden sarılmasına yardım eden Topoizomeraz 1 adı verilen enzimi inhibe eder. Bu inhibisyonu karboksil esteraz enzimi aracılığıyla aktif sitotoksik metaboliti olan 7-etil-10-hidroksil-kamptotesin (SN-38)’e dönüştürerek yapar (48, 49). SN38 ise UGT1A1 tarafından konjuge edilir ve inaktif SN38 glukronidi (SN38G) oluşmuş olur. Bu metabolit ise safra ve idrar ile atılır (11).

İrinotekan kolon kanserlerinde birinci basamak tedavide ve mide kanserinde ikinci basamak tedavide kullanımı onaylanmış önemli bir kemoterapi ilacıdır (6, 50). Akciğer kanseri ve bazı solid tümörlerde de klinik etkinliği gösterilmiştir. Florourasil dirençli metastatik kolektoral kanser hastaları için irinotekan tedavisi, daha kaliteli bir hayat ve destekleyici tedavilerle karşılaştırıldığında daha uzun bir yaşam süresi sağladığı görülmüştür.

Ayrıca irinotekanın inaktif olduğu malignansilerde SN-38 isimli aktif metaboliti oluşturularak daha etkili bir tedavi sağlanmaktadır (51).

2.11. Kukurbitasin I

Bitki özleri, kanser tedavisinde geleneksel ilaç olarak yüzyıllardır kullanılmaktadır. Doğal ürünlerden elde edilen tedavi edici bitkisel kökenli ilaçlar ise kanser tedavisinde uzun yıllar önce yaygın olarak kullanılmaya başlanmış ve kanser tedavisinde önem kazanmıştır (52). Fitokimyasallar, kolon kanseri sıklığını azaltmada önemli rol oynayan biyoaktif bitkisel bileşiklerdir (16, 53). Fitokimyasalların bir grubu olan kukurbitasinler, ülkemizde yaygın olarak mayıs ve eylül ayları arasında çiçek açan, Akdeniz bölgesinde yetişen Cucurbitaceae (kabakgiller) familyasından acı kavun, cırtatan, eşek hıyarı, Ebu Cehil karpuzu, acı hıyar adlarıyla da bilinen çok senelik bir bitki olan Ecballium Elaterium'un yapısında bulunmaktadır (54-56).

Ecballium Elaterium meyvelerinin sıkılmasıyla elde edilen taze usarenin seyreltilip buruna çekilmesi yoluyla, sinüzite karşı kullanılması Anadolu'da halk arasında yaygın kullanılmaktadır. Bitkinin idrar artırıcı ve müshil etkisi bulunmaktadır. Karaciğer sirozu ve hemoroit üzerinde iyileştirici etkisinin olduğu belirtilmektedir. Kabızlığı karşı kullanıldığı, kusturucu etkisinin olduğu, kulak iltihabı ve sıtma tedavisinde kullanıldığı, yılan ve akrep sokmalarına karşı panzehir olduğu bildirilmektedir. Halk arasında buruna suyunun damlatılması suretiyle sarılığı geçirdiğine inanılmaktadır. Köklerinden hazırlanan lapa ve merhemler, haricen tümörlere ve egzema gibi kronik cilt yaralarına, analjezik olarak romatizma ağrılarına karşı kullanılmaktadır. Bitkiden elde edilen ekstrelerin, antitümöral aktivite yönünden incelenmesi ve farklı kanser türlerine karşı kullanılması bitkiye önem kazandırmıştır (57, 58).

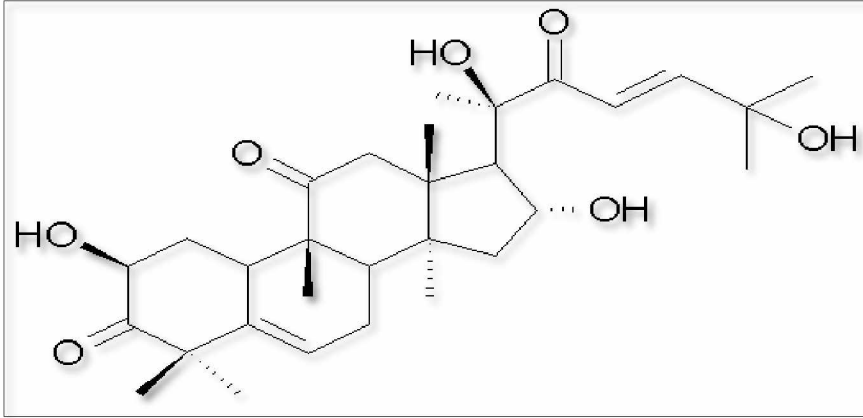
Ecballium Elaterium'dan ilk izole edilen kukurbitasin 1831'de Morries ve Hennel 'in izole ettiği a-Elaterin'dir (Kukurbitasin E). 1906'da Berg, bu bileşiğin C₂₈H₃₈O₇ formülünde olduğunu ileri sürmüştü (59), molekülün kesin formülü ve molekül ağırlığı ancak 1957'de Rivett ve Herbstein tarafından C₃₂H₄₄O₈ olarak bulunmuştur (60).

1909'da Power ve Moor, bitkiden yeni bir kukurbitasin izole etmişler ve buna 3-Elaterin (Kukurbitasin B) adını vermişlerdir (59). Daha sonra Rao ve arkadaşları tarafından izole edilip kanıtlanmıştır (61). Bugüne kadar da, bitkiden Kukurbitasin D, I, R, L, H, G, E diye isimlendirilen bir dizi kukurbitasin ve bunların türevleri izole edilmiştir (58).

Kukurbitasin, acı bir tada ve toksik etkilere sahip ve yüksek oranda oksijenlenmiş bir maddedir. Yapısal olarak, tetrasiklik kukurbitan çekirdek iskeletinin 19-(10→9β)-abeo-

10-lanost-5-ene ile karakterize olan kükurbitasin, kimyasal olarak çok çeşitli bir bileşik olup, yan zincir modifikasyonları ve stereokimya değerlerine göre A'dan T'ye kadar olmak üzere 12 alt gruba ayrılır (55, 62). Serbest veya glikozillenmiş formda bulunabilen bu bileşik ailesi ateş düşürücü, ağrı kesici, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antidiyabetik ve kanser önleyici etkilerinden dolayı Çin ve Hindistan gibi Asya ülkelerinde yüzyıllardır geleneksel tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır (16, 63, 64).

1952'den beri bitkinin antitümoral etkisi bilinmektedir. Belkin ve arkadaşları farelerde insitu olarak yaptıkları deneylerde E. elaterium ekstrelerinin aktif olduğunu tespit etmişlerdir. Subkutan uygulamada a-Elaterin (Kükurbitasin E) nontoksiktir ancak aktivitesi düşüktür. 3-Elaterin (Kükurbitasin B) subkutan uygulamada yüksek aktivite göstermiş, ancak bu bileşiğin de toksisitesinin fazla olduğu anlaşılmıştır (65). Subkutan verildiğinde aktivitesi düşük olan a-Elaterin intraperitoneal uygulamada yüksek aktivite göstermektedir. Ancak her iki uygulamada da aktivitesi çok olan 3-Elaterin'dir. a-Elaterin'den türetilen elateridin bileşiğinde de aktivite bulunmuştur. Daha sonra Kükurbitasin D ve Kükurbitasin I'nın (Şekil 2.3) da aktif oldukları saptanmıştır (66).



Şekil 2.3. Kükurbitasin I

Ulubelen ve ark. bitkinin sulu ekstresinde belirgin aktivite saptamışlar, aktif fraksiyonlarda Elaterisin A ve B yanı sıra bir çok kükurbitasin heteroziti bulmuşlardır. Antitümöral etkiye kükurbitasin heterozitlerinin katkısını gösteren çalışmalar halen devam etmektedir (58, 67).

Kükurbitasin içeren bazı bitki türleri, geleneksel tıpta farklı patolojilerde anti inflamatuvar olarak kullanılmaktadır. Yeşilada ve ark. (68) Ecballium Elaterium meyve suyunun antiinflamatuvar etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Kükurbitasinlerle yapılan araştırmalarda, kükurbitasinlerin hem sitotoksik hem de anti kanser etkiler gösterdiği belirtilmiştir. Jayaprakasam ve arkadaşları (69) Cucurbita

andrena bitkisinden izole edilen kükurbitasinlerin anti kanser aktiviteye sahip olduklarını göstermişlerdir. Kanser hücrelerine karşı bu etkisi muhtemelen yüksek toksisiteye sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. Kükurbitasin B, D, E, I ve türevleri güçlü anti kanser aktiviteye sahiptir (70).

Kükurbitasinlerden en yaygın rastlanılan, *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar için en sık kullanılan kükurbitasin B (CuB)'dir. Önemli bir antiinflamatuvar, antioksidan, antidiyabetik ve düşük ilacı olarak geleneksel tedavide uzun yıllardır kullanılmakta olan CuB gelecek vaat eden bir antikanser ilaç adayı olmasına rağmen, buna rağmen etki mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır (69, 71, 72).

Günümüzde pek çok araştırma CuB'nin kanser üzerindeki inhibe edici etkisine odaklanmaktadır. Son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarda CuB'nin hepatoma, lösemi, lenfoma, multiple myeloma, melanoma, glioblastoma, oral kavite kanserleri, nazofarinks, meme, prostat, kolon, akciğer, pankreas, serviks ve merkezi sinir sistemi dahil olmak üzere *in vitro* insan kanser hücre hatlarında ve *in vivo* tümör ksenograft modellerinde kanserli hücre büyümesini inhibe edici etkisi olduğu gösterilmiştir (69,

71-76). CuB'nin tümör önleyici mekanizması çeşitli sinyal iletim yollarını durdurmasının yanı sıra, hücre iskeletinin bozulması, hücre döngüsünün durması veya bozulması, apoptoz uyarımı ve farklılaşma dahil olmak üzere çeşitli etkileri bulunmaktadır (73-75). CuB'in, antitümöral aktivitesini önemli onkojenik yollardaki JAK/STAT sinyal yolağını inhibe ederek tümör gelişimini baskıladığı gösterilmektedir (76). CuB, STAT3 tirozin (Tyr705) fosforilasyonunu inhibe ederek, JAK2 ve STAT3 aktivasyonunu, STAT3 DNA bağlanmasını ve STAT3 aracılı gen ifadenmesini baskılayarak kanserli hücre büyümesini inhibe etmektedir (77, 78).

CuB, apoptoz ile ilişkili genler ve hücre döngüsünü düzenleyen genler gibi JAK-STAT yolağının downstream genlerini düzenler ve JAK/STAT yolağını baskılar, sonuç olarak tümör büyümesini inhibe ederek apoptozu uyarır (16, 77, 78).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Sarf Malzemeleri

- a. Laminar Flow (Thermo Scientific)
- b. İnkübatör (Thermo Scientific – Heracell 150i)
- c. Santrifüj (Hettich Universal)
- d. Buzdolabı (-20 °C)
- e. Derin Dondurucu (-86 °C) (Nüve)
- f. Mikroskop (Olympus)
- g. Mikropipet Seti (Eppendorf)
- h. Mikroplate-Reader (Biotek) i. Steril cam pipetle
- j. Steril falcon tüpler (15 ml ve 50 ml)
- k. Thoma lamı

3.2. Kullanılan Kimyasallar

- a. RPMI Medyum (Lonza)
- b. DMEM Medyum
- c. FBS (Fetal Bovin Serum)
- d. PBS(Phosphate Buffered Saline)
- e. L-Glutamin
- f. Penicillin/Streptomycin
- g. DMSO (Dimethylsulfoxid)
- h. EDTA (Ethylenediamine-tetraacetic acid)
- i. Etanol
- j. İzopropanol
- k. MTT (3-(4,5-Dimethyl -2 thiazolyl)- 2,5 -diphenyl- 2H-tetrazolium)
- l. HCl
- m. İrinotekan
- n. Kukurbitasin I
- o. Tripsin

3.3. Hücreler (SW620 ve LS174T)

Kullanılan iki hücre hattı da insan kolon kanser hücreleri olup, hücreler Alman Kanser Enstitüsü'nde (The German Cancer Research Center, Heidelberg, German) çalışan Dr. Berger tarafından bize hediye edilmiştir.

3.4. Hücre Kültürü

Bütün hücreler standart şartlarda (%5 CO₂, 37°C) kültür edilmişlerdir. Hücre vasatı olarak tüm hücreler için RPMI1640 medyumunu kullanılmıştır. Bütün hücreler -80°C'de muhafaza edilmiştir. Bu hücreler kullanılmadan önce 37°C'de çözdürülmüş ve 1500 U/dk da 5 dakika santrifüj edilmiştir. Oluşan hücre pelleti taze medyum içine alınarak inkübatöre bırakılmıştır.

3.5. Hücre Pasajı

Hücreler; hücre kültürü şişelerindeki sıklıklarına göre 3-5 gün aralıklarla pasaj yapılmışlardır. Burada hücrelerin kullandığı medyum dökülerek, hücreler bir kez PBS ile yıkanmış ve sonrasında 3-5 ml Tripsin (%0.25) ile muamele edilmiştir. Sonrasında 3 dakika inkübatörde bekletilip, flask içerisine 3-5 ml taze medyum eklenerek tripsinin nötralizasyonu sağlanmıştır. Bu şekilde medyum içine alınan hücreler, tümör hücre süspansiyonunu oluşturur. Hücre süspansiyonu 5 dakika, 1500 U/dak santrifüj edilmiş ve sonrasında 1/10 oranında dilüe edilerek thoma lamında sayılmıştır. (thoma lamının bir tarafına 10 µl'lik hücre süspansiyonu eklenir, lamın ortasında yer alan büyük kare içinde kalan tüm hücreler sayılır ve çıkan sonuç dilüsyon oranında hesaba katılarak 104 ile çarpılır ve toplam hücre sayısı elde edilir). Uygun sayıda hücre alınarak taze hücre medyumuna karıştırılıp yeni deneyler için inkübatöre bırakılmıştır.

3.6. Tümör Hücrelerinin Dondurulması

Yukarıda hücre pasajında belirtilen işlemler hücre peleti elde edilene kadar aynı şekilde yürütülmüştür. Bu hücre peleti hazırlanan özel bir dondurma medyum içine (%20 RPMI-1640 Medyum, %70 FBS ve %10 Dimetilsülfoksit) alınmıştır. 1 ml dondurma medyumuna 1.5 x10⁵ hücre gelecek şekilde hesaplanmıştır ve -81°C derin dondurucuya bırakılarak muhafazası sağlanmıştır.

3.7. MTT Testi

Bu testle SW620 ve LS174T hücrelerinin in vitro proliferasyon yetenekleri belirlenmiştir. Prensipte canlı hücrelerin 3-(4,5 Dimetiltiyazol-2-il)5-difeniltetrazolium-bromid (MTT) ile boyanmasına dayanır. Bu boya canlı hücreler tarafından alınarak formazan kristallerine metabolize edilir ve mor renkli kristaller oluşur. Bu oluşan kristaller asidik 2-izopropanol ile çözülür. Bu test, tedaviden sonra yaşayabilen hücrelerin sayısının fotometrik olarak belirlenmesine yardımcı olmaktadır. Test daha önce Eyol (79, 80) tarafından bildirilen protokole bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır.

Protokol: Laboratuvarımızda yapmış olduğumuz ön denemelerle 96-kuyucuklu plate'in herbir kuyucuğuna 4000 hücre gelecek şekilde hücre ekimi yapılmıştır. (Ön deneme için 96-kuyucuklu plate'in herbir kuyucuğuna sırasıyla 1000, 2000, 3000, 4000 ve 5000 hücre gelecek şekilde hücre ekimi yapılır ve 24, 48, 72 ve 96. saatlerde yaşam oranları kontrol edilerek, yapılacak hücre ekiminin sayısı ve MTT testinin kaç gün uygulanacağı belirlenir). 48 saat inkübasyondan (%5 CO₂, 37°C) sonra belirlenen konsantrasyonlarda (1µM, 5 µM, 25 µM, 125 µM, 250 µM) İrinotekan ile (1.2 nM, 6 nM, 30 nM 150 nM, 750 nM) CuI ve aynı konsantrasyonlarda İrinotekan + CuI kombine tedavi edilmiştir. Tedaviden sonraki ilk 24 saatten sonra 1. 96 kuyucuklu plate için MTT testi uygulanmıştır. Bunun içinde 96 kuyucuklu plate herbir kuyucuğuna 10 µl steril MTT-çözeltisi (5 mg/ml PBS'te hazırlanmış) eklenir ve sonrasında inkübatörde 3-4 saat bekletilir.

İnkübasyondan sonra kuyucuklardaki bütün içerik temizlenir ve boyanmış ve yapışık durumdaki hücreleri kaldırmak için herbir kuyucuğa 100 µl izopropanol eklenir. (0.04 N HCl ve 2-İzopropanol ile hazırlanır).

Kuyucuklardaki çözelti çekilip bırakılarak formazan kristallerinin çözünmesi sağlanır. Absorbanslar, mikroplate reader'da 570 nm'de ölçülür. Tedaviden 48 saat ve 72 saat sonraki plateler içinde aynı işlemler uygulanır. Kullanılan bu test 3 kez tekrarlanmıştır. Tedavi edilmeyen kuyucuklardaki hücreler referans değer olarak (tedavi edilmeyen/kontrol) belirlenmiştir.

3.8. Wound Healing Testi

Hücre etkileşimi ve migrasyonunun belirlendiği bir testtir. Bu test daha önce Kaleağasıoğlu'nun (81) bildirdiği protokole bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır. 24 kuyucuklu platelere hücre ekimi (1 ml içinde 60.000 hücre. Bu sayı hücre hattına göre değişiklik gösterebilir) yapılır. 24 saat inkübasyondan sonra, ya 200µl'lik ya da 10µl'lik pipet ucu ile kuyucuğun ortasından saat 12 yönünden başlayarak saat 6 yönüne düz bir çizgi çizilir.

Sonrasında kuyucuklardaki vasat çekilir ve taze medyum ile birkaç kez yıkama yapılır. Belirlenen konsantrasyonlarda (1 µM, 5 µM, 25 µM, 125 µM, 250 µM) 0.5 ml İrinotekan, (1.2 nM, 6 nM, 30 nM, 150 nM, 750 nM) 0.5 ml CuI ile İrinotekan ve CuI kombine tedavisi eklenir. Tedaviden sonraki 0., 24. ve 48. saatlerde fotoğrafları çekilerek değerlendirilir.

3.9. Klonogenik Test

Bu testle ise bir tek kanser hücresinin koloni oluşturma yeteneği ölçülür. Bu test Tekedereli'nin (82) bildirdiği protokolden bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır. Altı kuyucuklu plateelerin her birine 2 ml içinde 500 hücre ekilir. 24 saat inkübe edildikten sonra belirlenen konsantrasyonlarda İrinotekan, CuI ve İrinotekan + CuI kombine tedavisi yapılır. Her 5 günde bir hücreler tedavi edilir. (Hücre hattına göre değişebilir). Yaklaşık 2 hafta sonra hücreler PBS ile yıkanır ve Kristal viyole ile boyanır. 50 hücreden daha fazla hücreye sahip koloniler sayılarak değerlendirilir (23).

3.10. İstatistiksel Analiz

Araştırma verilerimizin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS for Windows versiyon 15.0 yazılımı kullanıldı. Nicel değişkenler için, aritmetik ortalama (\bar{X}) ± standart sapma (SD) ile sunuldu. Nicel veriler normal dağılım göstermediği için gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi kullanıldı. 0,05'den küçük olan p değerleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Grup içi karşılaştırmalarda ise Bonferoni Mann Witney U testi kullanıldı. 0.05/15 yani 0.0033'ten küçük olan p değerleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Wound Healing testinde ise imageJ 1.48 programı kullanıldı ve değerler mikron olarak ölçüldü.

4. BULGULAR

4.1. MTT Test Sonuçları

Her iki hücre hattı da çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan İrinotekan (1 μ M, 5 μ M, 25 μ M, 125 μ M ve 250 μ M konsantrasyonlarında), CuI (1.2 nM, 6 nM, 30 nM, 150 nM ve 750 nM konsantrasyonlarında) ve İrinotekan + CuI kombinasyonu (1 μ M +1.2 nM, 5 μ M +6 nM, 25 μ M +30 nM, 125 μ M +150 nM ve 250 μ M +750 nM konsantrasyonlarında) ile 48 saat süreyle tedavi edilip, hücre proliferasyonu MTT testi ile değerlendirilmiştir.

4.1.1. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle İrinotekan ile Tedavisi İçin MTT Test Sonuçları

SW620 ve LS174T hücre hatları 48 saat süreyle İrinotekan ile tedavi edildi ve her iki hücre hattında, kontrol grubuna göre 25 μ M dozundan sonra anlamlı bulundu. (sırasıyla $p < 0.002$ ve $p < 0.001$). Elde edilen bulgular Tablo 4.1. ve Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle İrinotekan ile Tedavi Sonuçları

İrinotekan Gruplar	SW620 İrinotecan-48h X \pm SD	LS174T İrinotecan-48h X \pm SD
Kontrol	0.68 \pm 0.09	0.58 \pm 0.09
1 μ M	0.75 \pm 0.07	0.52 \pm 0.09
5 μ M	0.65 \pm 0.07	0.48 \pm 0.07
25 μ M	0.57 \pm 0.07	0.36 \pm 0.06
125 μ M	0.39 \pm 0.11	0.22 \pm 0.09
250 μ M	0.39 \pm 0.07	0.13 \pm 0.03

Tablo 4.2. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle İrinotekan ile Tedavisinin Grup İçi Karşılaştırma Sonuçları

İrinotekan Grup içi karşılaştırma	SW620 İrinotecan-48h p	LS174T İrinotecan-48h p
Kontrol-1 μ M	<0.022	<0.142
Kontrol- 5 μ M	<0.559	<0.006
Kontrol- 25 μ M	<0.002	<0.001
Kontrol- 125 μ M	<0.001	<0.001
Kontrol- 250 μ M	<0.001	<0.001
1 μ M - 5 μ M	<0.002	<0.175
1 μ M - 25 μ M	<0.001	<0.001
1 μ M - 125 μ M	<0.001	<0.001
1 μ M - 250 μ M	<0.001	<0.001
5 μ M - 25 μ M	<0.006	<0.001
5 μ M - 125 μ M	<0.001	<0.001
5 μ M - 250 μ M	<0.001	<0.001
25 μ M - 125 μ M	<0.001	<0.001
25 μ M - 250 μ M	<0.001	<0.001
125 μ M - 250 μ M	<0.867	<0.005

4.1.2. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle Kukurbitasin I ile Tedavisi İçin MTT Test Sonuçları

SW620 ve LS174T hücre hatları 48 saat süreyle CuI ile tedavi edildi ve her iki hücre hattında, kontrol grubuna göre 30 nM dozundan sonra anlamlı bulundu. (sırasıyla $p<0.002$ ve $p<0.001$). Elde edilen bulgular Tablo 4.3. ve Tablo 4.4.'te verilmiştir.

Tablo 4.3. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle Kukurbitasin I ile Tedavisi Sonuçları

Kukurbitasin I Gruplar	SW620 Kukurbitasin I-48h X±SD	LS174T Kukurbitasin I-48h X±SD
Kontrol	0.55±0.03	0.87±0.13
1.2 nM	0.55±0.05	1.01±0.14
6 nM	0.51±0.05	0.93±0.08
30 nM	0.43±0.12	0.74±0.05
150 nM	0.35±0.14	0.31±0.03
750 nM	0.30±0.03	0.32±0.03

Tablo 4.4. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 saat süreyle Kukurbitasin I ile Tedavisinin Grup İçi Karşılaştırma Sonuçları

Kukurbitasin I Grup içi	SW620 Kukurbitasin I-48h p	LS174T Kukurbitasin I-48h p
Kontrol-1.2 nM	<0.664	<0.003
Kontrol- 6 nM	<0.032	<0.018
Kontrol- 30 nM	<0.002	<0.001
Kontrol- 150 nM	<0.001	<0.001
Kontrol- 750 nM	<0.001	<0.001
1.2 nM-6 nM	<0.018	<0.258
1.2 nM- 30 nM	<0.003	<0.001
1.2 nM- 150 nM	<0.001	<0.001
1.2 nM - 750 nM	<0.001	<0.001
6 nM- 30 nM	<0.009	<0.001
6 nM - 150 nM	<0.001	<0.001
6 nM - 750 nM	<0.001	<0.001
30 nM - 150 nM	<0.101	<0.001
30 nM - 750 nM	<0.001	<0.001
150 nM - 750 nM	<0.003	<0.534

4.1.3. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyonu ile Tedavisi İçin MTT Test Sonuçları

SW620 ve LS174T hücre hatları 48 saat süreyle İrinotekan ve CuI kombinasyonu ile tedavi edildi ve her iki hücre hattında, kontrol grubuna göre çok daha düşük bir doz olan 1 μM +1.2 nM dozundan sonra anlamlı bulundu. (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.001$). Elde edilen bulgular Tablo 4.5. ve Tablo 4.6.'da verilmiştir.

Tablo 4.5. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyonu ile Tedavi Sonuçları

Kombinasyon Grupla	SW620 Kombinasyon-48h X \pm SD	LS174T Kombinasyon-48h X \pm SD
Kontrol	0.83 \pm 0.15	0.73 \pm 0.12
1 μM +1.2 nM	0.62 \pm 0.50	0.57 \pm 0.07
5 μM +6 nM	0.58 \pm 0.08	0.44 \pm 0.06
25 μM +30 nM	0.46 \pm 0.10	0.17 \pm 0.02
125 μM +150 nM	0.33 \pm 0.09	0.17 \pm 0.02
250 μM +750 nM	0.30 \pm 0.09	0.16 \pm 0.02

Tablo 4.6. SW620 ve LS174T Hücre Hatlarının 48 Saat Süreyle İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyonu ile Tedavisinin Grup İçi Karşılaştırma Sonuçları

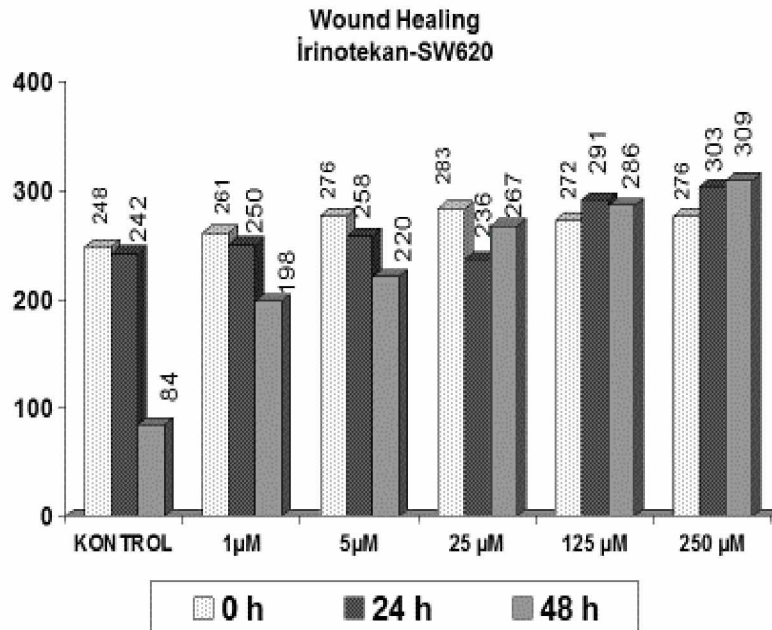
Kombinasyon Grup içi karşılaştırma	SW620 Kombinasyon-48h p	LS174T Kombinasyon-48h p
Kontrol-1 μ M +1.2 nM	<0.001	<0.001
Kontrol- 5 μ M +6 nM	<0.001	<0.001
Kontrol- 25 μ M +30 nM	<0.001	<0.001
Kontrol- 125 μ M +150 nM	<0.001	<0.001
Kontrol- 250 μ M +750 nM	<0.001	<0.001
1 μ M +1.2 nM -5 μ M +6 nM	<0.318	<0.001
1 μ M +1.2 nM -25 μ M +30 nM	<0.001	<0.001
1 μ M +1.2 nM -125 μ M +150 nM	<0.001	<0.001
1 μ M +1.2 nM -250 μ M +750 nM	<0.001	<0.001
5 μ M +6 nM -25 μ M +30 nM	<0.001	<0.001
5 μ M +6 nM -125 μ M +150 nM	<0.001	<0.001
5 μ M +6 nM -250 μ M +750 nM	<0.001	<0.001
25 μ M +30 nM -125 μ M +150 nM	<0.002	<0.001
25 μ M +30 nM -250 μ M +750 nM	<0.001	<0.001
125 μ M +150 nM -250 μ M +750 nM	<0.291	<0.019

4.2. Wound Healing Test Sonuçları

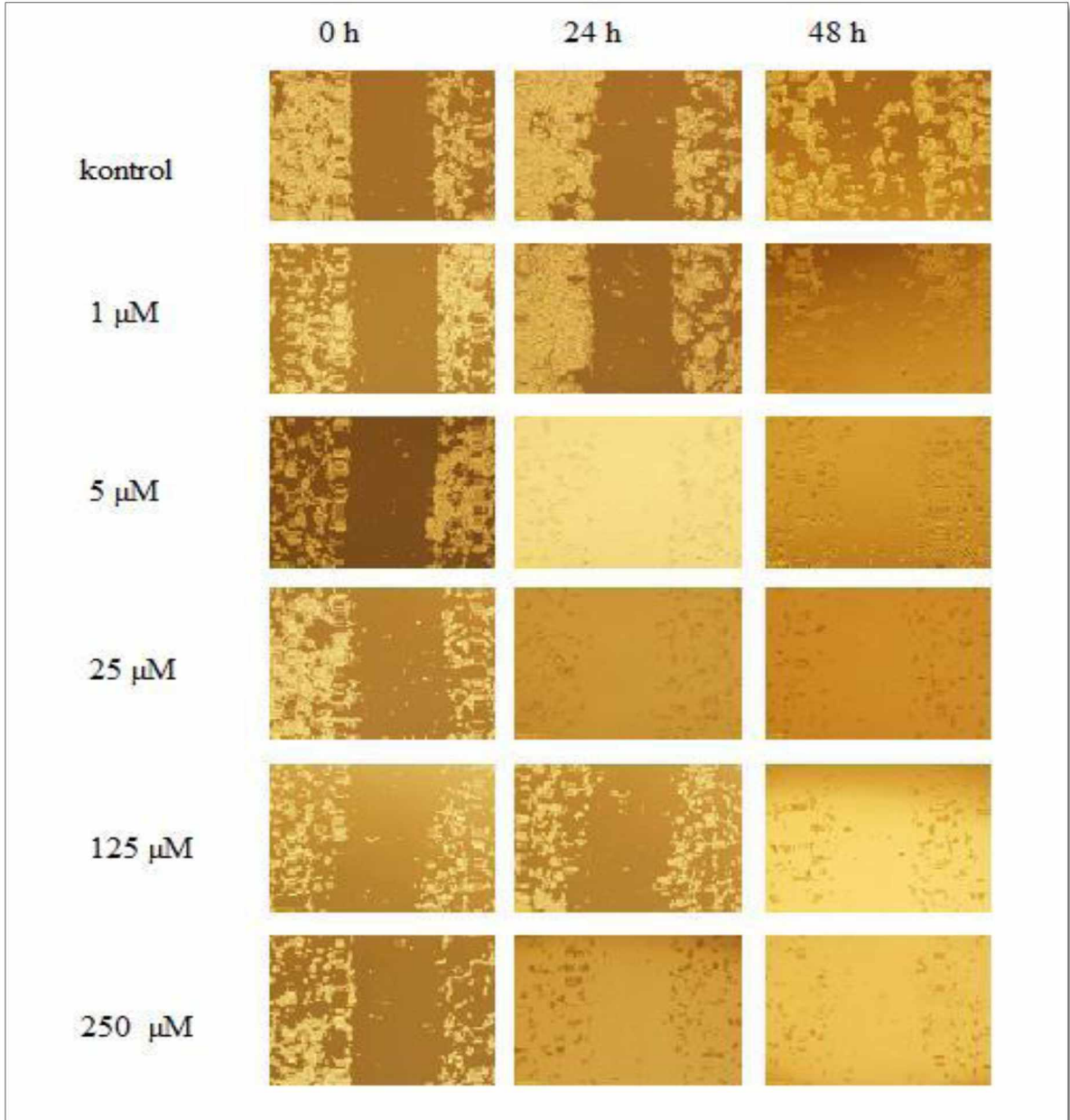
Hücreler ekildikten 24 saat sonra tek bir tabaka halinde 24 kuyucuklu plakanın yüzeyini kapladı ve hücre tabakası 10 µl veya 200 µl'lik pipet ucu ile saat 12 yönünden başlayarak saat 6 yönüne doğru düz bir çizgi ile yarık açıldı. Çizildikten sonra serum içermeyen medyumla yıkandı ve farklı konsantrasyonlardaki İrinotekan, CuI ve her ikisinin kombinasyonu ile tedavi edildi. Devamında ise 0., 24. ve 48. saatlerde fotoğraflandı. Yarıklar ImageJ1.48 programı ile ölçüldü. Sonuçlar MTT test sonuçlarını desteklemektedir. Yani Wound healing test sonuçlarında da ilk 24. ve 48. saatlerde açılan yarık en az seviyede kapanma göstermiştir ve hücrelerin göç yeteneği engellenmiştir. SW620 hücre hattı için Wound Healing test sonuçları Şekil 4.1., Şekil 4.2. ve Şekil 4.3.'te verilmiştir.

4.2.1. SW620 Hücre Hattı İçin Wound Healing Test Sonuçları

A)



B)

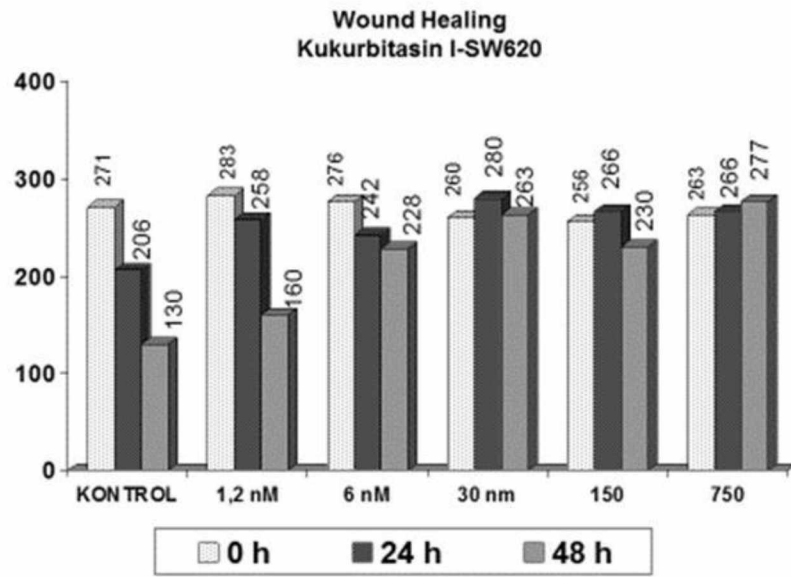


Şekil 4.1. SW620 Hücre Hattı Wound Healing Testi (İrinotekan Tedavisi)

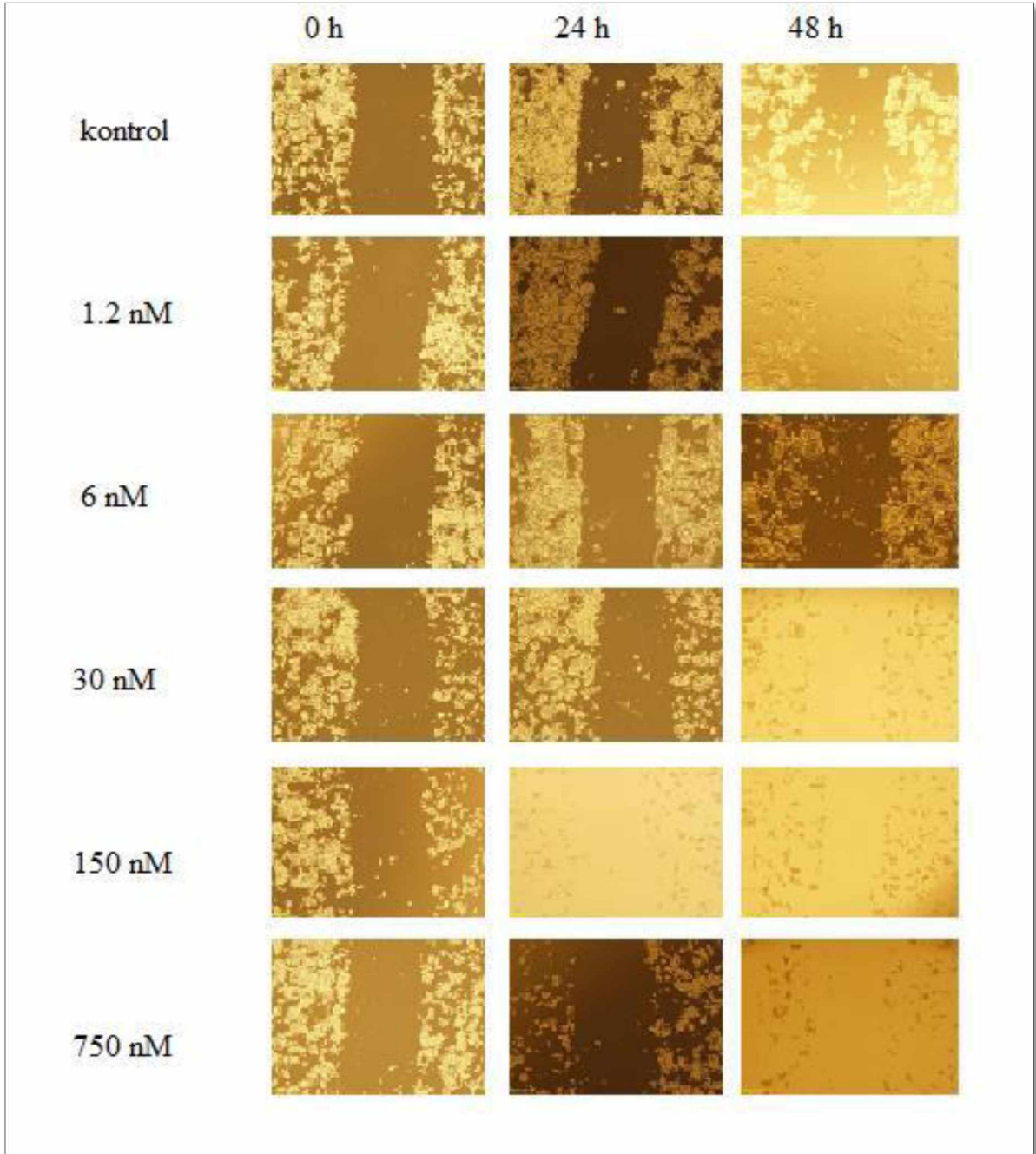
A) SW620 Hücre Hattının 0, 24 ve 48 Saat Süreyle İrinotekan ile Tedavisinin Wound Healing Test Sonuçları

B)SW620 Hücre Hattının İrinotekan ile Tedavisinin Wound Healing Test Fotoğrafları (Resimlerin görüntülenmesinde 4x ve 10x objektifler kullanıldı).

A)



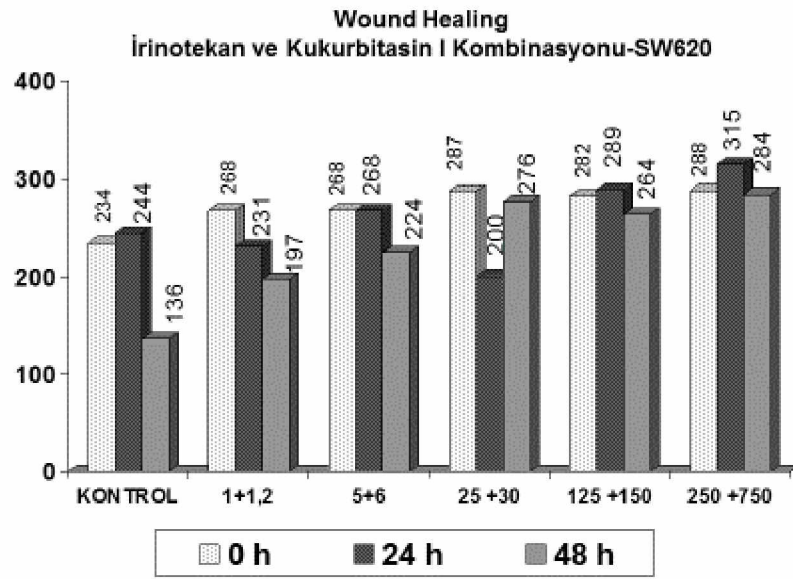
B)



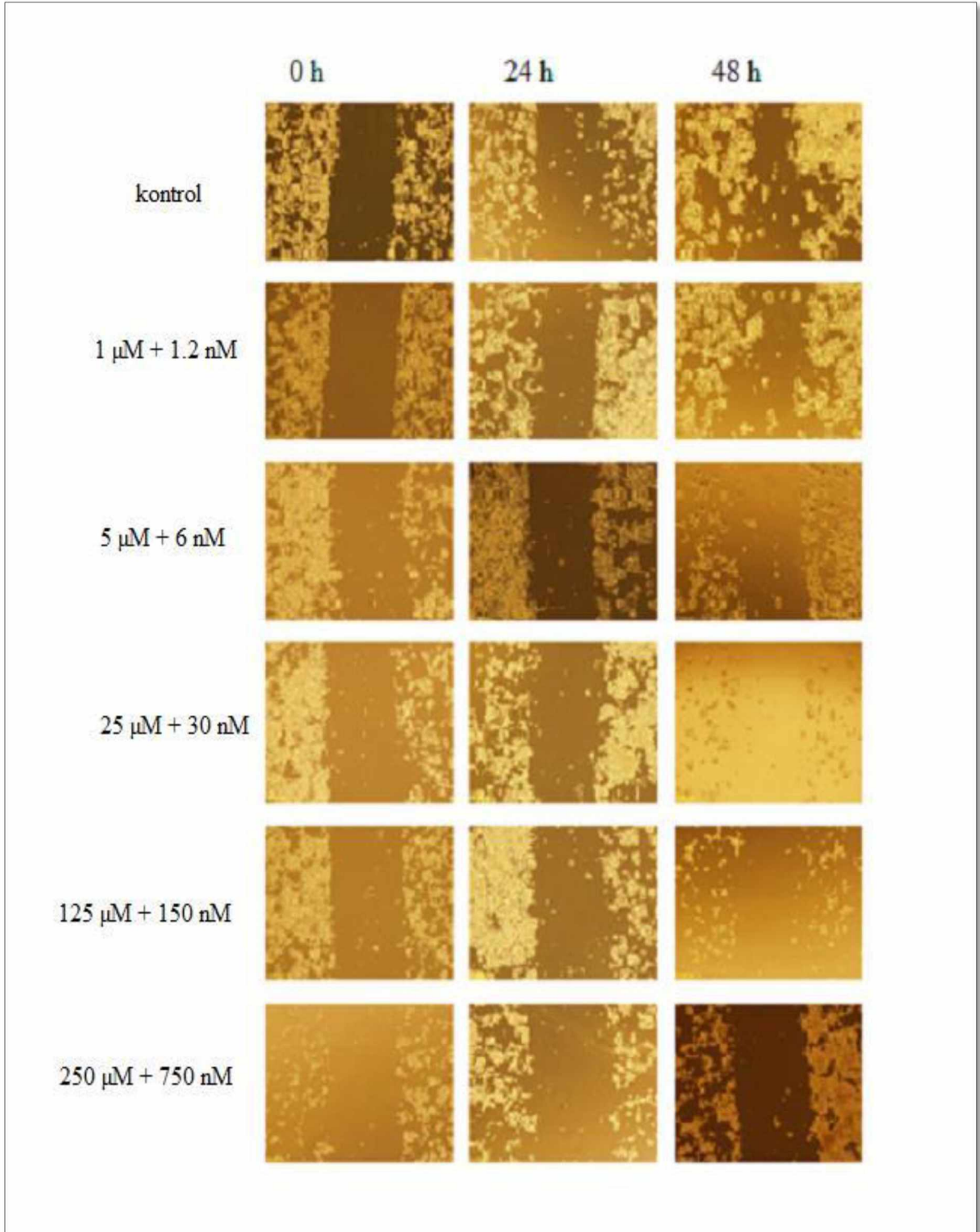
Şekil 4.2. SW620 Hücre Hattı Wound Healing Testi (Kukurbitasin I Tedavisi)

A) SW620 Hücre Hattının 0, 24 ve 48 Saat Süreyle Kukurbitasin I ile Tedavisinin Wound Healing Test Sonuçları **B)** SW620 Hücre Hattının Kukurbitasin I ile Tedavisinin Wound Healing Test Fotoğrafları (Resimlerin görüntülenmesinde 4x ve 10x objektifler kullanıldı).

A)



B)

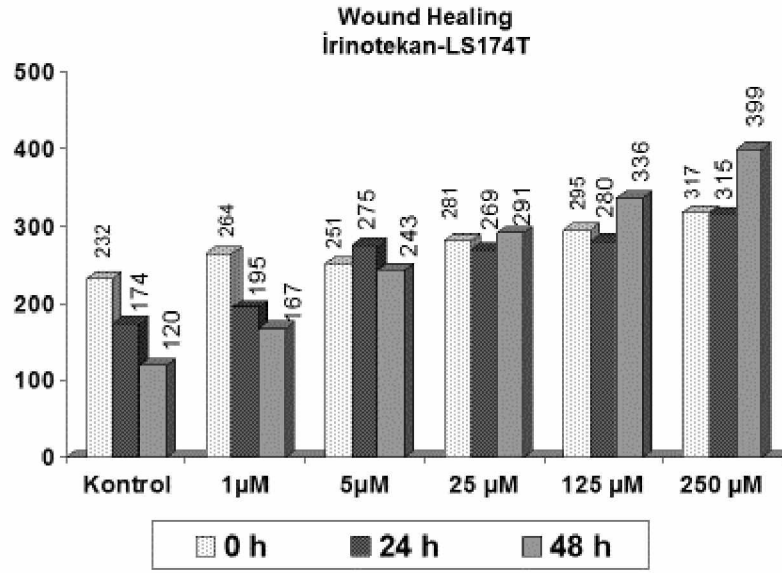


Şekil 4.3. SW620 Hücre Hattı Wound Healing Testi (İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyon Tedavisi)

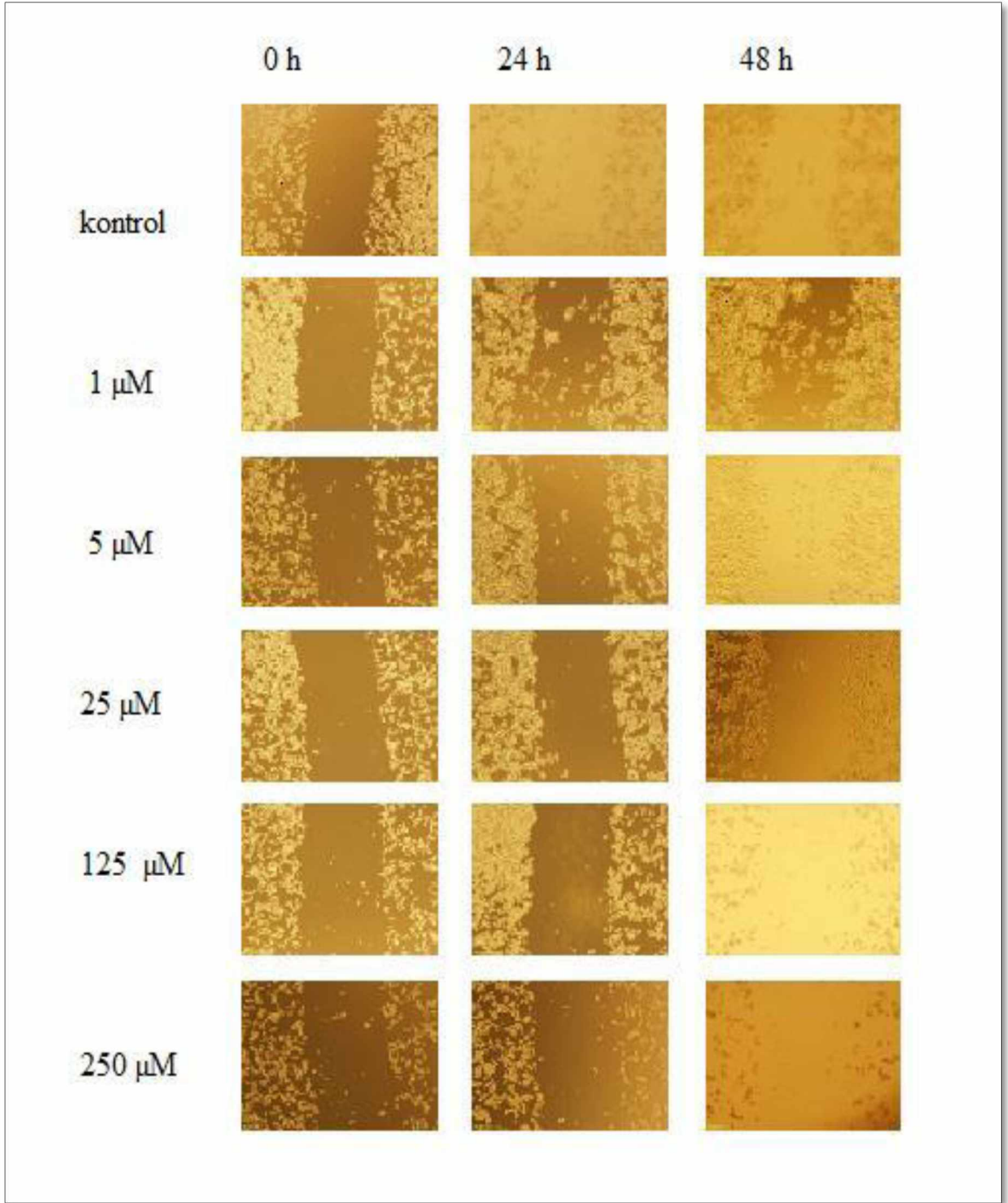
A) SW620 Hücre Hattının 0, 24 ve 48 Saat Süreyle İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyonu ile Tedavisinin Wound Healing Test Sonuçları **B)** SW620 Hücre Hattının İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyonu ile Tedavisinin Wound Healing Test Fotoğrafları (Resimlerin görüntülenmesinde 4x ve 10x objektifler kullanıldı).

4.2.2. LS174T Hücre Hattı İçin Wound Healing Test Sonuçları

A)



B)

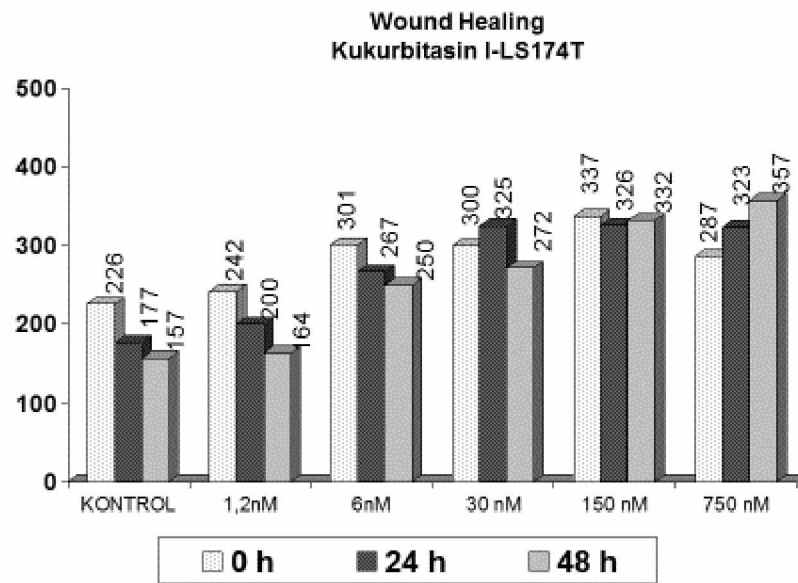


Şekil 4.4. LS174T Hücre Hattı Wound Healing Testi (İrinotekan Tedavisi)

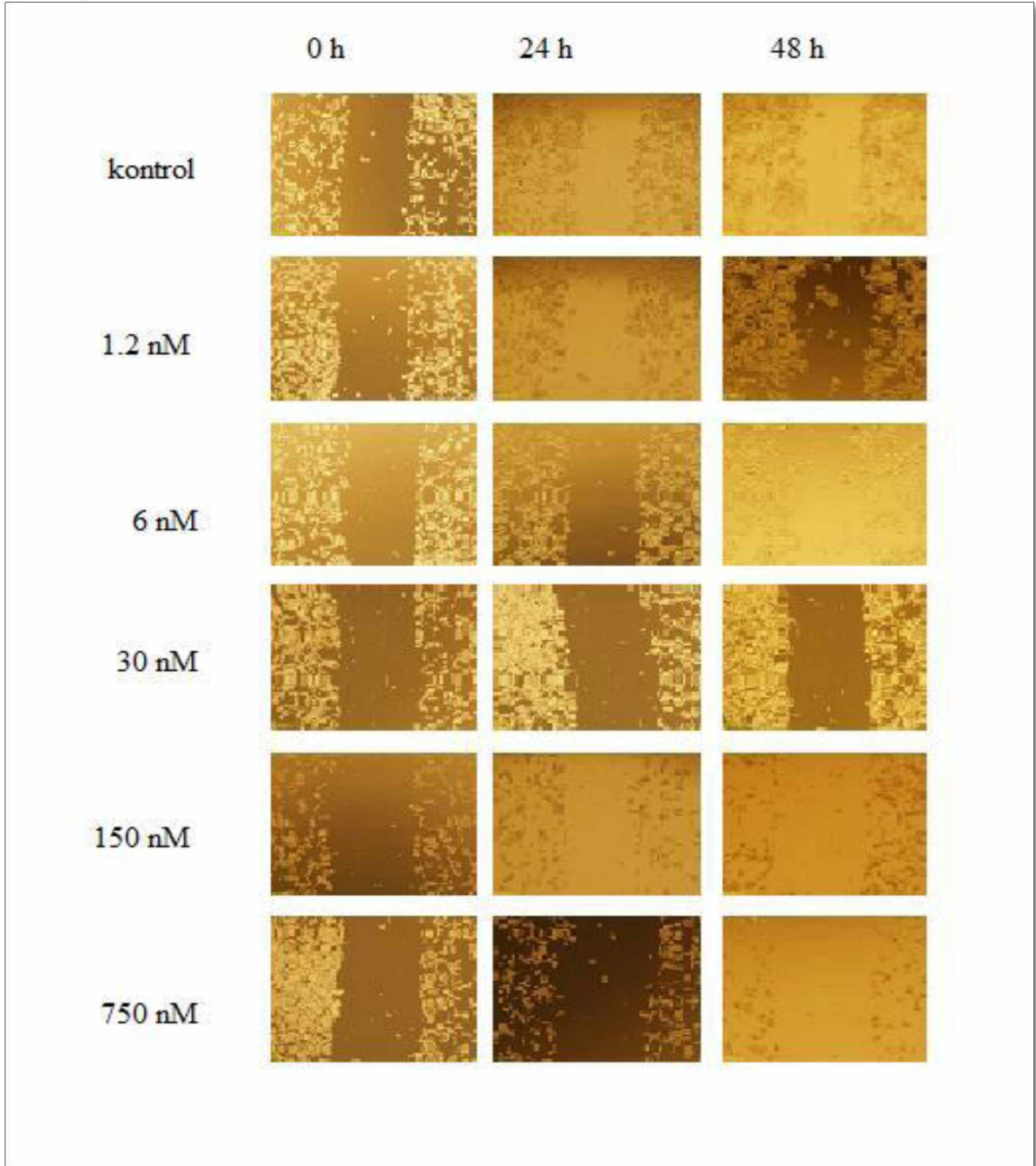
A) LS174T Hücre Hattının 0, 24 ve 48 Saat Süreyle İrinotekan ile Tedavisinin Wound Healing Test Sonuçları

B) LS174T Hücre Hattının 0, 24 ve 48 Saat Süreyle İrinotekan ile Tedavisinin Wound Healing Test Fotoğrafları (Resimlerin görüntülenmesinde 4x ve 10x objektifler kullanıldı).

A)



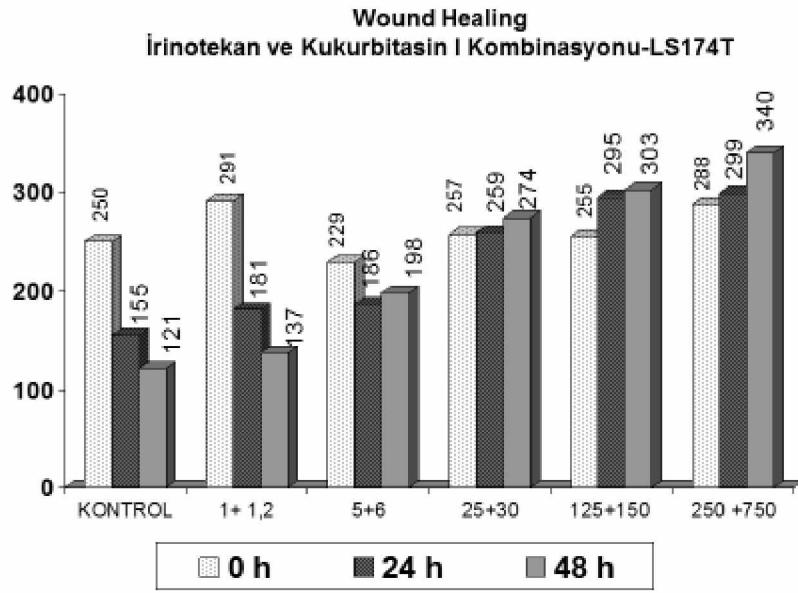
B)



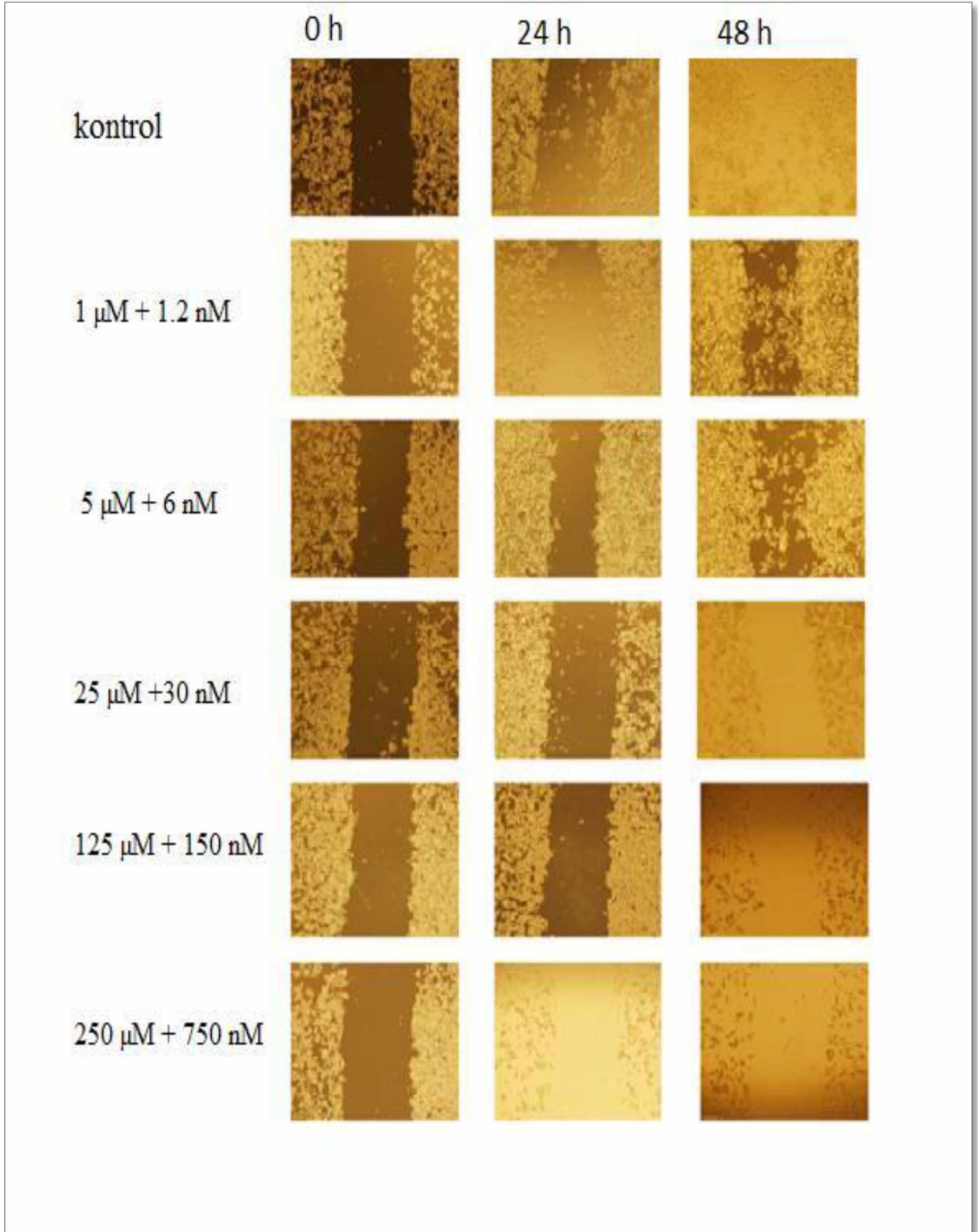
Şekil 4.5. LS174T Hücre Hattı Wound Healing Testi (Kukurbitasin I Tedavisi)

A) LS174T Hücre Hattının 0, 24 ve 48 Saat Süreyle Kukurbitasin I ile Tedavisinin Wound Healing Test Sonuçları B) LS174T Hücre Hattının Kukurbitasin I ile Tedavisinin Wound Healing Test Fotoğrafları (Resimlerin görüntülenmesinde 4x ve 10x objektifler kullanıldı).

A)



B)



Şekil 4.6. LS174T Hücre Hattı Wound Healing Testi (İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyon Tedavisi)

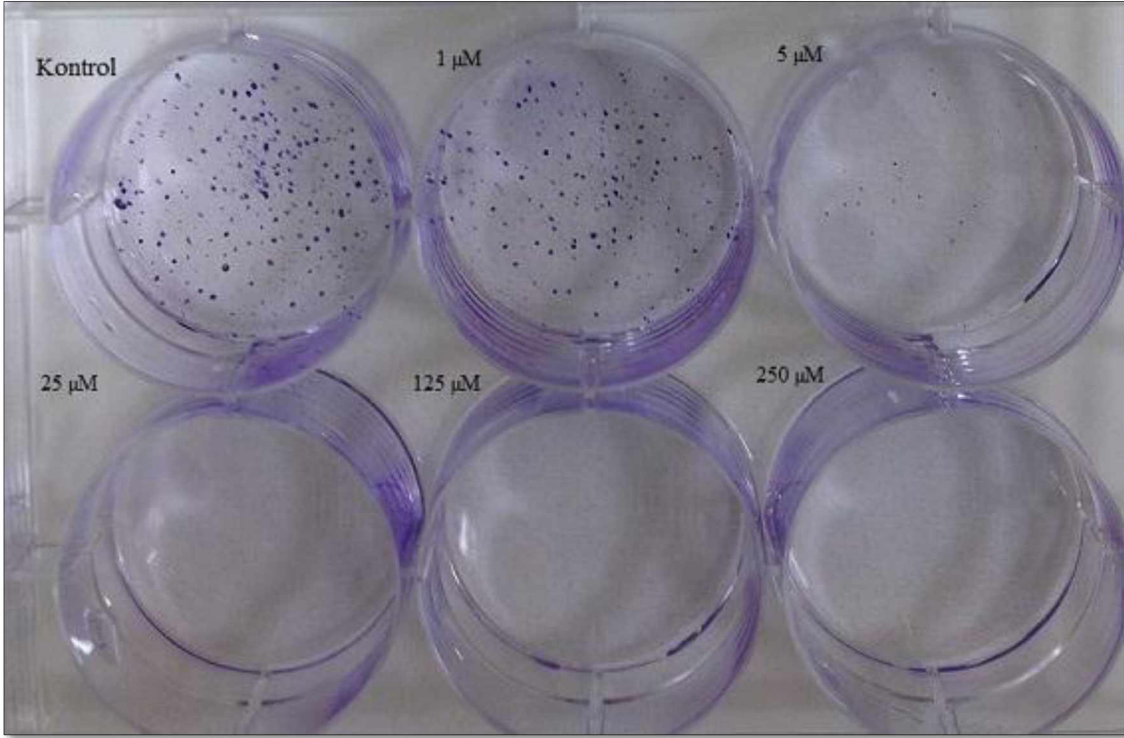
A) LS174T Hücre Hattının 0, 24 ve 48 Saat Süreyle İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyonu ile Tedavisinin Wound Healing Test Sonuçları B) LS174T Hücre Hattının İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyonu ile Tedavisinin Wound Healing Test Fotoğrafları (Resimlerin görüntülenmesinde 4x ve 10x objektifler kullanıldı).

4.3. Klonogenik Test Sonuçları

Klonogenik testinde de elde edilen sonuçlar MTT test sonuçlarını desteklemektedir. Özellikle CuI ve irinotekan kombinasyon tedavisi her iki kanser hücre hattında da; belli bir dozdan sonra kanser hücrelerinin koloni oluşturma yeteneklerini tamamen yok etmiştir.

4.3.1. SW620 Hücre Hattının İrinotekan ile Tedavisinin Klonogenik Test Sonuçları

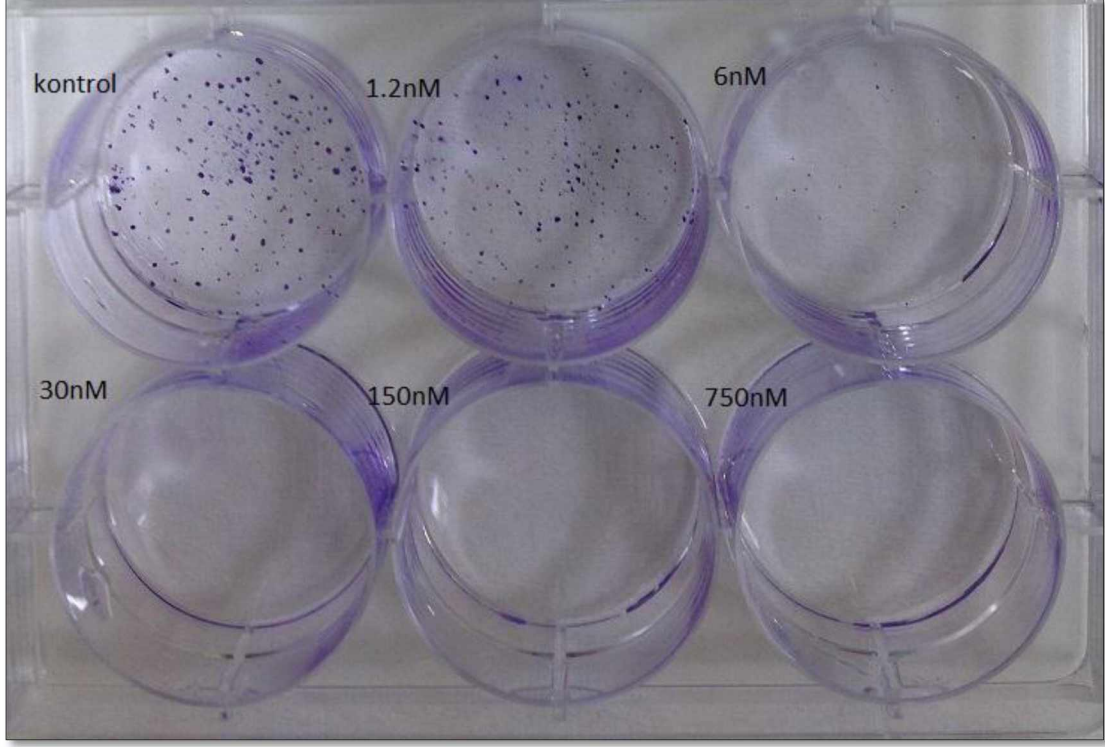
SW620 hücre hattının İrinotekan ile tedavisinin Klonogenik test fotoğrafları Şekil 4.7.'de verilmiştir.



Şekil 4.7: SW620 Hücre Hattının İrinotekan ile Tedavisinin Klonogenik Test Fotoğrafları

4.3.2. SW620 Hücre Hattının Kukurbitasin I ile Tedavisinin Klonogenik Test Sonuçları

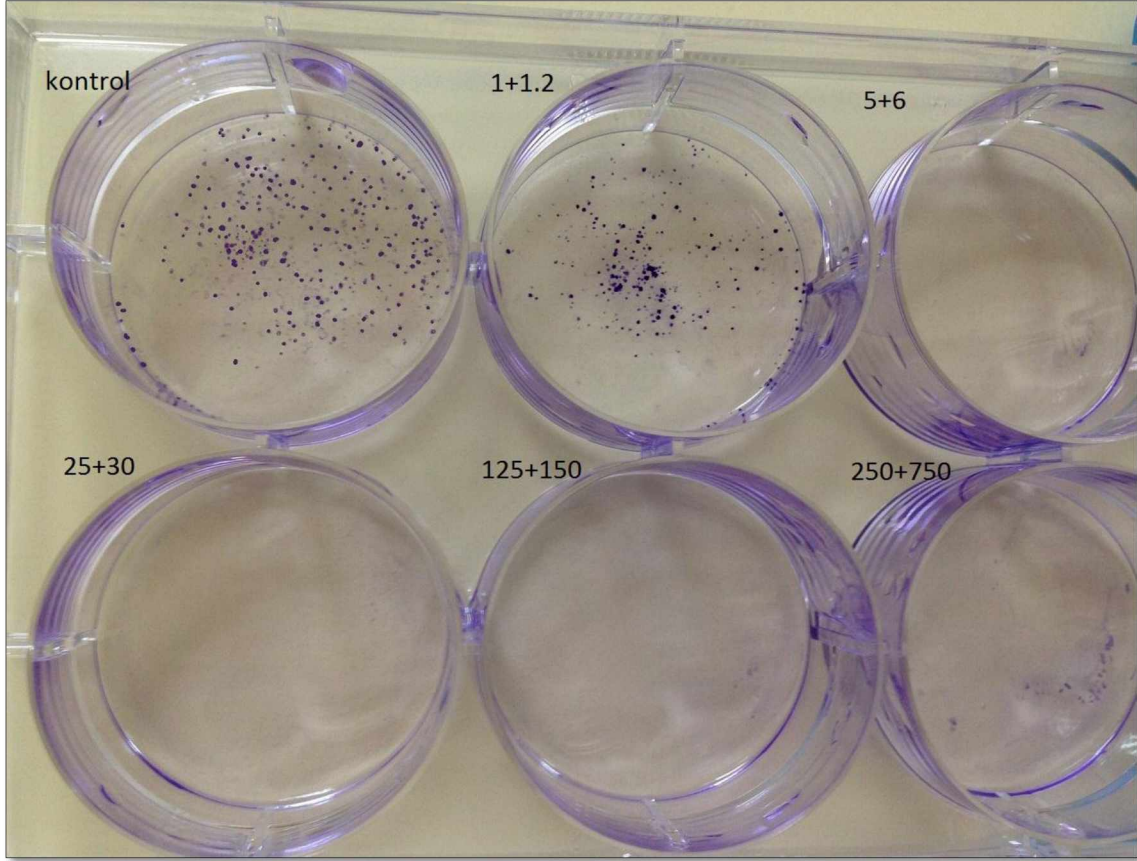
SW620 hücre hattının Kukurbitasin I ile tedavisinin Klonogenik test fotoğrafları Şekil 4.8.'de verilmiştir.



Şekil 4.8. SW620 Hücre Hattının Kukurbitasin I ile Tedavisinin Klonogenik Test Fotoğrafları

4.3.3. SW620 Hücre Hattının İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyonu ile Tedavisinin Klonogenik Test Sonuçları

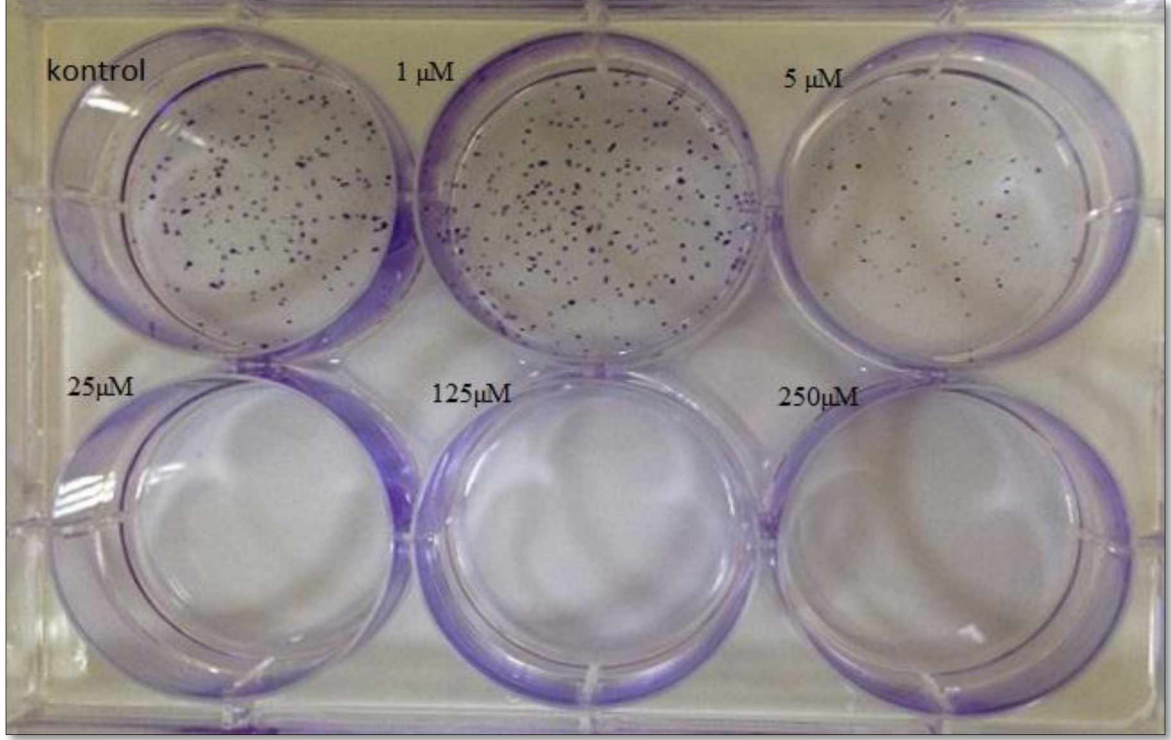
SW620 hücre hattının İrinotekan ve Kukurbitasin I kombinasyonu ile tedavisinin Klonogenik test fotoğrafları Şekil 4.9.'da verilmiştir.



Şekil 4.9. SW620 Hücre Hattının İrinotekan ve Kukurbitasin I ile Kombine Tedavisinin Klonogenik Test Fotoğrafları

4.3.4. LS174T Hücre Hattının İrinotekan ile Tedavisinin Klonogenik Test Sonuçları

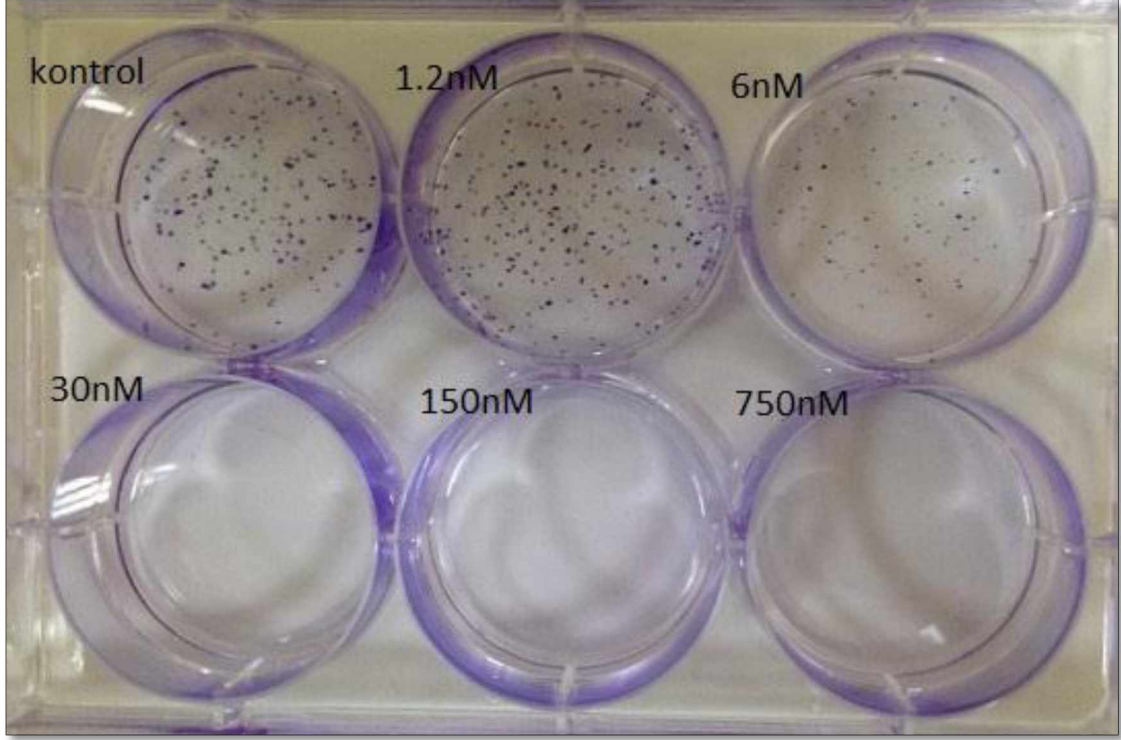
LS174T hücre hattının İrinotekan ile tedavisinin Klonogenik test fotoğrafları Şekil 4.10.'da verilmiştir.



Şekil 4.10. LS174T Hücre Hattının İrinotekan ile Tedavisinin Klonogenik Test Fotoğrafları

4.3.5. LS174T Hücree Hattının Kukurbitasin I ile Tedavisinin Klonogenik Test Sonuçları

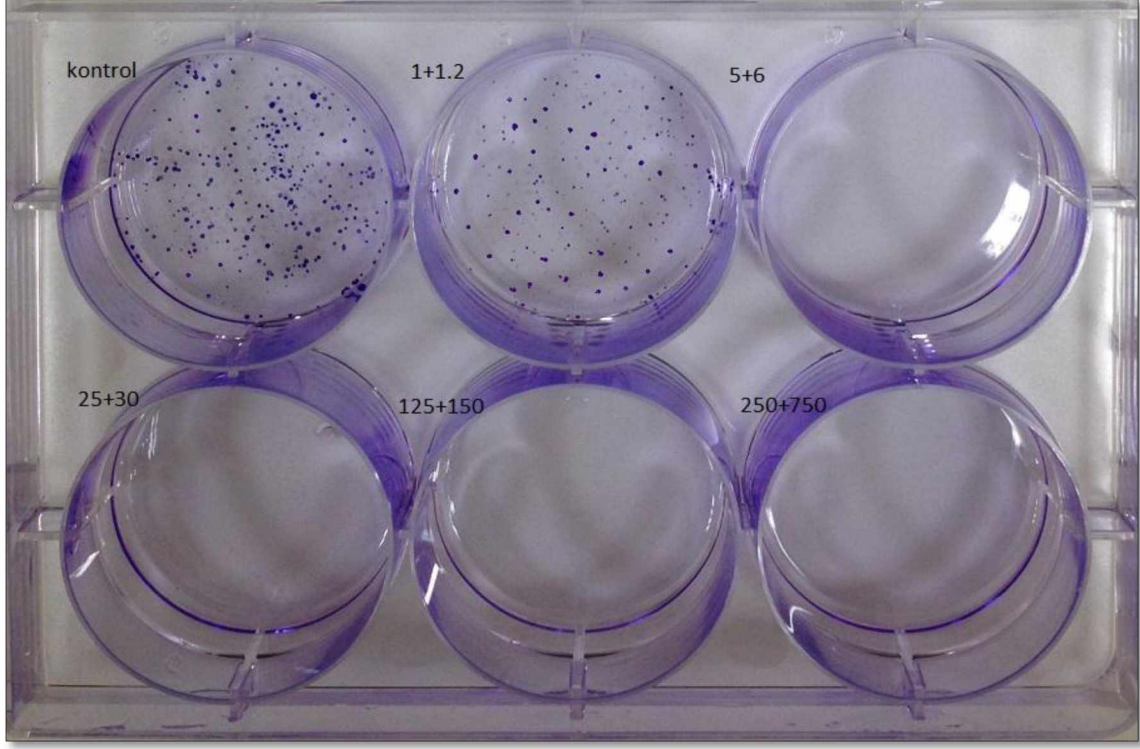
LS174T hücre hattının Kukurbitasin I ile tedavisinin Klonogenik test fotoğrafları Şekil 4.11.'de verilmiştir.



Şekil 4.11. LS174T Hücree Hattının Kukurbitasin I ile Tedavisinin Klonogenik Test Fotoğrafları

4.3.6. LS174T Hücre Hattının İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyonu ile Tedavisinin Klonogenik Test Sonuçları

LS174T hücre hattının İrinotekan ve Kukurbitasin I Kombinasyonu ile tedavisinin Klonogenik test fotoğrafları Şekil 4.12.'de verilmiştir.



Şekil 4.12. SW620 Hücre Hattının İrinotekan ve Kukurbitasin I ile Kombine Tedavisinin Klonogenik Test Fotoğrafları

5. TARTIŞMA

Son yıllarda görülme sıklığı ve ölüm oranlarındaki artışa neden olan en önemli sağlık problemlerinden biri olan kolon kanseri, dünyada kadın ve erkeklerde gözlenen en yaygın kanserlerden biri olup, günümüzde birçok ülkede, ölüme neden olan hastalıklar sıralamasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırayı almaktadır (2).

Kanser tedavisinde kansere bağlı ölüm oranını azaltmak ve sağkalımı artırmak için cerrahi yöntemler, radyoterapi, kemoterapi, hormon tedavisi ve yeni tedavi yöntemlerinden immünoterapi, gen tedavisi, anjiyogenez inhibitörleri ve sinyal ileti sistemi inhibitörleri kullanılmaktadır (5, 6).

Hastalığın erken dönemlerinde teşhis edilen kolon kanserlerinde cerrahi ve cerrahi sonrası kemoterapi ve radyoterapinin eklenmesi ile uygulanan adjuvan tedavilerle 5 yıllık yaşam süreleri %90'ların üzerine çıkmaktadır. Fakat ilerlemiş dönemde tanı konan hastalarda ise ne yazık ki tedavide başarı sağlanamamaktadır. Bununla birlikte ilerlemiş metastatik dönemdeki en önemli tedavi seçeneği kemoterapidir (26).

Tümör hücrelerinin gelişmesini engelleyen kemoterapötik ajanlar, sitotoksik etkileri ile tümör hücrelerinin büyüme ve çoğalmalarını baskılayarak apoptoza neden olurken, tümör hücrelerinin çevresindeki sağlıklı hücrelere verdikleri hasar sonucunda kanserli hücrelerin yanı sıra sağlıklı hücrelerin de ölümüne yol açmaktadırlar (52). Sağlıklı hücreler üzerinde en düşük sitotoksik etkiye sahip olan kemoterapötik ajan arayışı, araştırmaların bitkisel ürünlere yönelmesine neden olmuştur. Alternatif ve tamamlayıcı tıpta en çok kullanılan ürünler olan bu bitkisel ilaçlar, yüzyıllardır anti- kanser ajanlar olarak kullanılmaya devam etmektedir (52). Ayrıca, çoklu ilaçlarla kombinasyon tedaviler, toksisiteyi azaltmak ve sinerjik etkiyi arttırmak için kanser tedavisinde yaygın olarak uygulanmaktadır (52, 82). Bitkilerde doğal olarak bulunan fitokimyasalların, kanserin görülme sıklığını azaltarak kanser tedavisinde, özellikle tamamlayıcı tedavide önemli yeri olduğu yapılan çalışmalarla desteklenmektedir (84-87). Kukurbitasinler, doğada sıklıkla bulunan ve yaygın olarak kullanılan fitokimyasallardır (53, 55, 88, 89). Kukurbitasin ailesinin bir üyesi olan CuI'nin çeşitli insan kanser hücre hatlarında apoptotik ve anti-proliferatif etki göstererek tümör büyümesini inhibe ettiği ve bunu da JAK-STAT sinyal iletim yolağında JAK2 ve STAT3 fosforilasyonunu baskılayarak yaptığı yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir (70-77, 90, 91-97).

Yapılan farklı çalışmalarda CuI'nın bazı, çeşitli antikanser ajanların etkisini arttırabildiği ve agresif olup çabuk yayılan kanser türleri için yeni bir tedavi olanağı ve stratejisi sağladığı öne sürülmüştür (16).

Bu amaç doğrultusunda çalışmamızda, bitkisel bir ürün olan CuI'nin tek başına ve antineoplastik bir ajan olan İrinotekan ile birlikte kolon kanser hücreleri üzerindeki apoptotik ve antiproliferatif etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Yaptığımız literatür araştırmaları sonucunda kolon kanseri konusunda yapılan çalışmalarda daha çok HT-29 ve HCT-116 kolon hücre hatlarının tercih edildiği gözlenmiştir. Bunun yanı sıra, CuI'nın SW620 ve LS174T insan kolon karsinoma hücrelerinde kullanılması ile ilgili herhangi bir çalışmanın halen yapılmadığı gözlenmiştir.

Bu bilgilerin ışığında, yaptığımız bu çalışmada, kolon kanseri hücre hatlarında (SW620 ve LS174T), topoizomeraz I inhibitörü olan İrinotekan ile JAK2/STAT3 inhibitörü olan CuI'nın ayrı ayrı ve birlikte belirli doz ve sürelerde uygulanması sonucunda, kanserli hücreler üzerindeki sitotoksik etkileri araştırıldı. Bu amaçla, SW620 ve LS174T hücre hatlarına, hücre kültürü tekniği olan MTT testi, Wound Healing testi ve Klonogenik test uygulandı. Tedaviden sonra kolon kanser hücrelerinin apoptozis, migrasyon ve koloni oluşturma yetenekleri belirlendi.

İrinotekan ve CuI'nın SW620 ve LS174T hücreleri üzerine antiproliferatif etkisini tespit etmek için her iki hücre hattı da çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan İrinotekan (1 μ M, 5 μ M, 25 μ M, 125 μ M ve 250 μ M konsantrasyonlarında), CuI (1.2 nM, 6 nM, 30 nM, 150 nM ve 750 nM konsantrasyonlarında) ve İrinotekan + CuI kombinasyonu (1 μ M +1.2 nM, 5 μ M +6 nM, 25 μ M +30 nM, 125 μ M +150 nM ve 250 μ M +750 nM konsantrasyonlarında) ile 48 saat süreyle tedavi edilip, hücre proliferasyonu MTT testi ile test edildi. Her iki hücre hattında da sırasıyla ≥ 25 μ M İrinotekan dozu ve ≥ 30 nM CuI dozu ile yapılan tedaviler, istatistiksel açıdan anlamlı bulundu (sırasıyla $p < 0.002$ ve $p < 0.001$). İrinotekan ve CuI kombinasyonu ile tedavide ise, her iki hücre hattında, ≥ 1 μ M İrinotekan + ≥ 1.2 nM CuI dozları anlamlı bulundu. (sırasıyla $p < 0.001$ ve $p < 0.001$). Bunun sonucu olarak çalışmamızda, SW620 ve LS174T hücrelerine CuI'nın; tek başına ve İrinotekan ile birlikte uygulanması sonucunda, doza ve zamana bağlı olarak hücre canlılık oranlarında azalmaya neden olduğunu belirledik. Hatta CuI, İrinotekan ile birlikte uygulandığında; hem CuI'nın hem de İrinotekanın tek başlarına uygulandıkları dozlardan çok daha düşük dozlarda bile hücre canlılık oranlarında azalma meydana getirdiğini belirledik. Bu verilerden yola çıkarak CuI'nın İrinotekan ile birlikte uygulanmasının kanser hücrelerini irinotekana daha duyarlı

hale getirdiğini söyleyebiliriz. Nitekim sonuçlarımızla uyumlu olarak çeşitli kanser hücre hatlarının kullanıldığı çalışmalarda kukurbitasinlerin bu hücreleri farklı ajanlara ve klasik kemoterapi ilaçlarına duyarlı hale getirdiği gösterilmiştir (64, 72, 99-103). Yine Hyeon Jin Kim ve ark. tarafından yapılan bir başka in-vitro çalışmada, SW480 kolon kanser hücrelerinde CuI uygulandığında, SW480 hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği izlenmiş ve yeni bir antikanser ajan olarak değerlendirilmiştir (16, 104).

Kukurbitasinlerle yapılan araştırmalar sadece kanser hücre kültürleri ile sınırlı kalmayıp, hayvan kanser modellerinde de yapılmıştır. Bu çalışmalarda da kukurbitasinlerin tek başına veya doksetaksel, metotreksat, gempitabin, MG132 ve AG490 gibi diğer anti-kanser ajanlar ile birlikte kullanımının tümör hücrelerinin sayısını azalttığı gösterilmiştir (16, 72, 76, 77, 93, 102, 105-108).

Aynı zamanda İrinotekan, CuI ile birlikte kullanıldığında daha düşük dozlarda etki gösterebileceği için İrinotekanın yan etkilerinden de korunmuş olabileceğini veya yan etkilerinin azalabileceğini söyleyebiliriz. Nitekim Yasuyuki Sadzuka ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada CuI'nın, bir kemoterapötik ajan olan doksurubisinin kardiyotoksik yan etkilerini azalttığını tespit etmişlerdir (109). Bu durum kukurbitasinlerin standart kemoterapötikler ile birlikte kullanıldığı zaman hastalığın kontrol altında tutulmasında daha yararlı olabileceğini göstermektedir. Biz de çalışmamızda bu verilerle benzer şekilde CuI'nın, İrinotekan ile birlikte, CuI'nın ve irinotekanın tek başına kullanılmasına oranla her iki hücre hattı üzerine olan etkisinin arttığını belirledik.

Kukurbitasinlerin kolon kanser hücreleri üzerine olan etkisini araştıran çalışmalar sınırlı olmakla birlikte, literatürde lenfoma, lösemi, meme kanseri, akciğer kanseri, hepatom, gırtlak kanseri, osteosarkom, glioblastom ve melanom gibi çeşitli kanser hücre hatları ile yapılan çalışmalar da mevcuttur (16, 72-76, 91, 100, 101, 105, 107, 110-117). Bu çalışmalardan elde edilen hücre canlılık oranları ve apoptotik değerler sadece MTT analiz yönteminin sonucu olarak verilmiştir. Bu durum yani sadece MTT analizi yapılmış olması ve elde edilen verilerin başka testlerle desteklenmemiş olması bu çalışmalar için bir dezavantaj olabilir. Biz ise bu çalışmamızda sadece MTT analizi yapmadık.

Aynı zamanda elde ettiğimiz verileri Wound Healing: testi ve Klonogenik test yöntemi ile de doğruladık.

Her iki kanser hücre hattı ile yapılan Wound Healing testlerinden elde edilen sonuçlarda, ilk 24. ve 48. saatlerde açılan yarık kontrol grubuna göre en az seviyede kapanma göstermiştir ve hücrelerin göç yeteneği engellenmiştir.

Klonogenik testinde de elde edilen sonuçlar MTT test sonuçlarını desteklemektedir. Özellikle CuI ve irinotekan kombinasyon tedavisinde belli bir dozdan sonra her iki kanser hücre hattının koloni oluşturma yeteneklerinin tamamen yok olduğunu belirledik.

Tüm bu bulguların ışığında çalışmamız CuI'nın, kolon kanser hücrelerinde tek başına uygulanmasının in vitro olarak antikanser etki gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. İrinotekan ile birlikte kombine olarak kullanılması ise sinerjistik bir etki göstermiş olup, CuI'nın tek başına gösterdiği apoptotik orandan daha yüksek bir antikanser etki elde edilmiştir.

Sonuç olarak çalışmamız, SW620 ve LS174T insan kolon kanseri hücre hatlarında CuI'nın, tek başına ve irinotekan ile birlikte uygulanması sonucu apoptozu artırıcı ve proliferasyonu baskılayıcı özelliğini gösteren ilk çalışmadır. Çalışmamız, CuI'nın, İrinotekan gibi kanser tedavisinde kullanılan antineoplastik ajanlarla birlikte uygulanması durumunda, antineoplastik ajanların daha düşük dozda da aynı etkiyi gösterebileceğini ve daha düşük yan etki oluşturabileceğini literatürdeki çalışmalarla uyumlu olarak göstermiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, SW620 ve LS174T insan kolon kanseri hücre hatlarında, topoizomeraz I inhibitörü olan İrinotekan ile JAK2/STAT3 inhibitörü olan Kukurbitasin I'nın tek başına ve kombine olarak belirli doz ve sürelerde uygulanması sonucunda, kanserli hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerinin araştırılması amaçlandı. Bu amaçla, SW620 ve LS174T hücre hatlarına, hücre kültürü tekniği olan MTT testi, Wound Healing testi ve Klonogenik test uygulandı.

SW620 ve LS174T hücrelerinde CuI ve İrinotekanın ayrı ayrı uygulandıkları zaman hücre çoğalmasını engelleyerek hücreleri apoptoza yönlendirdikleri belirlendi. Ayrıca CuI ve İrinotekanın birlikte uygulanması sonrasında antikanser etkide daha fazla artış gözlemlendi.

Sonuç olarak, yapılacak in vitro ve in vivo çalışmalar ile CuI'nın, İrinotekan gibi antikanser ajanlar ile düşük dozlarda kombine kullanımları sonucunda SW620 ve LS174T ve diğer kolon kanser hücre hatları üzerine olan potansiyel kanser önleyici etkisinin belirlenmesi, daha etkin tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine olanak sağlayacağı gibi, bu molekülün uyardığı ya da baskıladığı sinyal yollarının tanımlanması, bu yollara özgül olabilecek yeni moleküllerin tasarlanmasına ve kolon kanseri tedavisinde daha başarılı yaklaşımların ortaya çıkmasına olanak sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular biology of the cell*, 4th ed. New York: Garland Science, 2002.
2. Haydaroglu A. Ege Üniversitesi'nde kanser kayıt analizleri: 34134 Olgunun değerlendirmesi. *Türk Onkoloji Dergisi* 2007, Cilt 22, Sayı 1: 22-8.
3. Boring CC, Squires TS, Tong T. Cancer statistics. *CA Cancer J.clin.* 1993: 43-7.
4. Eser S. Türkiye'de kanser insidansı. In; Tuncer M (Ed). *Türkiyede Kanser Kontrolü*. Ankara, T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi Başkanlığı Yayınları, 2007: 17-45.
5. Dellabona P, Moro M, Crosti MC, Casorati G, Corti A. Vascular attack and immunotherapy: a 'two hits' approach to improve biological treatment of cancer. *Gene Therapy* 1999, 6: 153-4.
6. Aktaş SH. Kemoterapinin Kolon Kanseri, Meme Kanseri ve Mide Kanserinde VEGF Düzeylerine Etkisinin İn Vivo Ve İn Vitro İncelemesi. Biyoteknoloji Enstitüsü, Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, 2010.
7. Rodig SJ, Meraz MA, White JM, Lampe PA, Riley JK, Arthur CD, King KL, Sheehan KC, Yin L, Pennica D, Johnson EM, Schreiber RD. Disruption of the Jak1 gene demonstrates obligatory and nonredundant roles of the Jaks in cytokine-induced biologic responses. *Cell* 1998, 93: 373-83.
8. Hebenstreit D, Horejs-Hoeck J, Duschl A. JAK/STAT-dependent gene regulation by cytokines. *Drug News Perspect* 2005, 18: 243-9.
9. Menevşe, S. Kolon Kanseri Hücre Hatlarında Akt ve ERK1/2 inhibitörlerinin apoptotik ve antiproliferatif etkilerinin araştırılması, 2011, TÜBİTAK 1002 Projesi.
10. Kellner U, Sehested M, Jensen PB, Gieseler F, Rudolph P. Culprit and victim DNA topoisomerase II. *Lancet Oncol* 2002, 3: 235-343.
11. Watters JW, McLeod HL. Cancer pharmacogeomics: Current and future applications. *Biochimica Biophysica Acta* 2003, 1603: 99-111.
12. Akbulut H, Akbulut KG. *Tıbbi Onkoloji Kitabı*. Ankara, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Antıp Yayınları, 2005
13. Fışkın K. *Genetik Kavramlar*. Altıncı baskıdan çeviri. (C. Öner), 2002: 635-51.
14. Croce CM. Oncogenes and cancer. *N Engl J Med* 2008, 385: 503-11.
15. Merlo LM, Pepper JW, Reid BJ, Maley CC. Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nat Rev Cancer* 2006, 6: 924-35.

16. Yar AS. Kolon kanser hücre hatlarında reseptör tirozin kinaz ve jak-stat inhibitörlerinin apoptotik ve anti-proliferatif etkilerinin araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, 2012.
17. Buğra D. Kolon, Rektum, Anal Bölge Anatomisi. Kolorektal Özel Sayısı. *Türkiye Klinikleri Journal of Surgery* 2004, 9(1): 1-9.
18. Kaptan, B. Çukurova Bölgesinde Kolorektal Kanserli Hastalarda Kras Mutasyonu Görülme Sıklığına Bakılarak Tedavide Kullanılan İlaçlara Yönelik Prediktif Biyomarkerlerinin Tespitinin Önemi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Adana: Çukurova Üniversitesi, 2010.
19. Avcı M. Kolorektal Kanserlerin takibinde Ürokinaz Tipi Plazminojen Aktivatörü Ve Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1'in Önemi, Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, İstanbul: 2009.
20. Yılmazlar T, Öztürk E. *Kolon Kanseri. Kolon & Rektal Cerrahinin El Kitabı*. Adana, Nobel Tıp Kitapevleri, 2004: 423-74.
21. Skibber, JM, Minsky BD, Hoff PM. Cancer of the colon. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. editors. *Cancer Principles & Practice of Oncology*. 6th ed. Philadelphia, Lippincott Williams&Williams, 2001:1216-71.
22. Oskay S. P53-/- ve P53 +/+ HCT116 Kolon Kanser Hücre Serilerinde Radyasyonun Hücre Proliferasyonu ve Telomeraz Aktivitesi Üzerine Etkisi. Biyoteknoloji Enstitüsü, Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, 2008.
23. Karakuş, F. Asetazolamid'in Kolorektal Kanser Hücreleri Üzerine Etkisi (In Vitro). Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, 2015.
24. Bozfakıoğlu Y, Müslümanoğlu M. Cerrahi Gastroenteroloji. Edit. :Değerli Ü, Bozfakıoğlu Y. *Kolon Hastalıkları*. 4. Baskı. İstanbul, Nobel tıp Kitabevi, 1997: 142-68.
25. Cooper, HS. Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology. In: Mills SE. *Intestinal Neoplasms*, Vol 2, 4 th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2004: 1543-601.
26. Kalaycı G. *Kolon Kanseri*, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2002: 1343-59.
27. Malazgirt Z. *Kolon Kanseri Etiyolojisi*, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 1996: 371-2.
28. Topal H. Kolorektal Kanserli Hastalarda pre-miR-423 ve pre-miR-608 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, Mersin: Mersin Üniversitesi, 2014.

29. Colorectal cancer and KRAS/BRAF. <http://emedicine.medscape.com/article/1690010-overview>. 02 Mayıs 2014
30. Douillard JY, Oliner KS, Siena S, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, Humblet Y, Bodoky G, Cunningham D, Jassem J, Rivera F, Kocákova I, Ruff P, Błasińska-Morawiec M, Šmakal M, Canon JL, Rother M, Williams R, Rong A, Wiezorek J, Sidhu R, Patterson SD. Panitumumab–FOLFOX4 Treatment and RAS Mutations in Colorectal Cancer. *The New England Journal of Medicine* 2013, 369: 1023-34.
31. O'Connell J, Bennett MW, O'Sullivan GC, Roche D, Kelly J, Collins JK, Shanahan F. Fas ligand expression in primary colon adenocarcinomas: Evidence that the Fas counterattack is prevalent mechanism of immune Evasion in human colon cancer. *Journal of Pathology* 1998, 186: 240-6.
32. Topuz E, Aykan FN. *Sindirim Sistemi Kanserleri*, İstanbul, İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları, 1998: 373-475.
33. Kodner IJ, Fry OR, Fleshman JW, Rimbaum EH. Colon Rektum and Anus. *Diagnosis Schwartz Principles of Surgery* 1994, 2: 1262-4.
34. Fabbri C, Ciocchi R, Rossi P, Pacifici A, Volpi G, Bisacci R. Surgery of local recurrence in rectal cancer, *Minevra Chir* 1997, 52(1-2): 21-4.
35. Rosai, J. *Large Bowel*, Chapter 11. in Ackerman's Surgical Pathology, ed Rosai J. St Louis. Mosby, 1996: 729-99.
36. Wojciechowics DC, Mallon RG, Picon A, Paty PB. Characterisation of lectin resistant cell populations derived from human colon carcinoma, correlation of K-Ras with beta1-6 branching of N- linked carbohydrate and CEA production *Biochem. Biophys. Res. Commun* 1999, 259(3): 588-93.
37. Kordek R, Biernat W, Tureaud J, Libersky PP, Majumdar AP. Differential activation of total and EGF receptor tyrosine kinase in the rectal mucosa in patients with adenomatous polyps, ulcerative colitis and colon cancer, *hepatogastroenterology* 1997, 44(14): 435-40.
38. Rosai J. *Gastrointestinal Tract, Large Bowel*. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. In: Rosai, J. Vol 1. 9th ed, Mosby: 2004: 776-855.
39. Sayek İ. *Kolorektal Kanserler, Temel Cerrahi*, 1991, 1: 830-9.
40. Jones DJ, Moore M. Prognostic significance of DNA ploidy in colorectal carcinoma: A prospective flow cytometric study. *Br. J. Surgery* 1988, 75: 28-33.
41. Birbeck KF, Macklin CP, Tiffin NJ. Ann Rates of Circumferential Resection Margin Involvement Vary Between Surgeons and Predict Outcomes in Rectal Cancer Surgery. *Surg* 2002, 235(4): 449–57.

42. Kendal WS, Cripps C, Veirtelhausen S, Stern H. Multimodality management of locally recurrent colorectal cancer. *Surg. Clin North Am* 2002, 82: 1059–73.
43. Compton C. Colorectal Carcinoma: Diagnostic, Prognostic, and Molecular Features. *Mod Pathol* 2003, 16(4): 376–88.
44. McKay JA, Murray LJ, Curran S, Ross VG, Clark C, Murray GI, Cassidy J, McLeod HL. Evaluation of the epidermal growth factor receptor (EGFR) in colorectal tumours and lymph node metastases. *European Journal of Cancer* 2002, 38: 2258-64.
45. Resnick MB, Routhier J, Konkin T, Sabo E, Pricolo VE. Epidermal growth factor receptor, c-MET, beta-Catenin, and p53 expression as prognostic indicators in stage II colon cancer: a tissue microarray study. *Clinical Cancer Research* 2004, 10: 3069-75.
46. Mi Z, Burke TG. Reduced Albumin Binding Promotes the Stability and Activity of Topotekan in Human Blood, *Biochemistry* 1995, 34: 13722-8.
47. Burke TG. Chemistry of the camptothecins in the bloodstream. Drug stabilization and optimization of activity, *Ann. N. Y. Acad. Sci* 1996, 803: 29-31.
48. Asmis TR, Saltz L. Systemic Therapy for Colon Cancer. *Gastroenterol Clin N Am* 2008, 37: 287-95.
49. Cunningham D, Maroun J, Vanhoeffler U, Cutsem EV. Optimizing the Use of Irinotekan in Colorectal Cancer. *The Oncologist* 2001, 6: 17-23.
50. Tebbutt NC, Cattell E, Midgley R, Cunningham D, Kerr D. Systemic treatment of colorectal cancer. *European Journal of Cancer* 2002, 38: 1000-15.
51. Saltz LB, Cox JV, Blanke C, Rosen LS, Fehrenbacher L, Moore MJ, Maroun JA, Ackland SP, Locker PK, Pirotta N, Elfring GL, Miller LL. Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan Study Group. *N. Engl. J. Med.* 2000, 343: 905-14.
52. Lee CC, Houghton P. Cytotoxicity of plants from Malaysia and Thailand used traditionally to treat cancer. *J Ethnopharmacol* 2005, 100: 237–43.
53. Efferth T, Kahl S, Paulus K, Adams M, Rauh R, Boechzelt H. Phytochemistry and pharmacogenomics of natural products derived from traditional Chinese medicine and Chinese materia media with activity against tumor cells. *Mol Cancer Ther* 2008, 7: 152-61.
54. Ekici M, Satılmış A, Ay YD, Dülger B, Yer HM.. *Ecballium elaterium* L. Meyvelerinin *Simüzite Karşı Kullanımı*, *Çev Kor* 1998, 7(27): 24-5.
55. Chen JC, Chiu MH, Nie RL, Cordell GA, Qiu SX. Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: structures and biological activities. *Nat Prod Rep* 2005, 22: 386-99.

56. Baytop T. *Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri*. İstanbul, İsmail Akgürt Matbaası, 1963.
57. Baytop T. *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi*. İstanbul, İst. Üni. Yayını, 1984: No: 40.
58. Atasü E, Cihangir V. Ecballium elaterium L. Bitkisinin Farmakognozide Yeri. *Pharmacia – JTPA* 1985, 25(55): 391-5.
59. Lavie D, Szinai S. The Constituents of Ecballium elaterium L.I(<X-Elaterin. *J. Am. Chem. Soc* 1958, 80: 707-10.
60. Baykut M, Biran M, Okçuoğlu N. Some Investigations in the Properties of Ecballium elaterium and its Constituents. *Chimica Acta Turcia* 1979, 7: 57-85.
61. Rao M, Meshulam H, Lavie D. Constituents of Ecballium elaterium, Cucurbitacins and hexanor cucurbitacins. *J. Chem. Soc. Perkin Tras 1* 1974, 22: 2252-6.
62. Peters RR, Baier Krepsky P, Siqueira-Junior JM, da Silva Rocha JC, Marques Bezerra M, de Albuquerque Ribeiro R, de Brum- Fernandes AJ.. Nitric oxide and cyclooxygenase may participate in the analgesic and anti-inflammatory effect of the cucurbitacins fraction from Wilbrandia ebracteata. *Life Sci* 2003, 73: 2185-97.
63. Lee KH. Discovery and development of natural product-derived chemotherapeutic agents based on a medicinal chemistry approach. *J Nat Prod* 2010, 73(3):500-16
64. Lee DH, Iwanski GB, Thoennissen NH. Cucurbitacin: ancient compound shedding new light on cancer treatment. *Scientific World Journal* 2010, 10: 413-8.
65. Belkin M, Fitzgerald DB. Tumour-damaging capacity of plant materials, plants used as cathartics. *J.Nat. Cancer Inst.* 1952, 13: 139.
66. Lavie D, Willner D. The Constituents of *Ecballium elaterium* L. Ill. Elatericin A and B", *J Am. Chem. Soc* 1958, 80: 710-1.
67. Ulubelen A, And D, Erbeni T, Bilir A. Cytotoxic Effect of the Glycosides Obtained from Ecballium elaterium on the S-Phase of L-Strain Cells. Abstracts of the Third International Conference on İslamic Medicine. Abstracts 28th Sept. 2nd. 1984.
68. Yeşilada E, Tanaka S, Tabata M, Sezik E. Antiinflammatory Effects of the Fruit Juice of Ecballium elaterium on Edemas in Mice, *Phytotherapy Research* 1989, 3(2): 75-6.
69. Jayaprakasam B, Seeram NP, Nair MG. Anticancer and antiinflammatory activities of cucurbitacins from Cucurbita andrena. *Cancer Letters* 2003, 189: 11-6.
70. Lee DH, Iwanski GB, Thoennissen NH. Cucurbitacin: Ancient Compound Shedding New Light on Cancer Treatment. *The Scientific World Journal* 2010, 10: 413-8.
71. Clericuzio M, Mella M, Vita-Finzi P, Zema M, Vidari G. Cucurbitane triterpenoids from Leucopaxillus gentianeus. *J Nat Prod* 2004, 67: 1823-8.

72. Liu T, Zhang M, Zhang H, Sun C, Deng Y. Inhibitory effects of cucurbitacin B on laryngeal squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2008, 265 (10): 1225-32.
73. Wakimoto N, Yin D, O'Kelly J, Haritunians T, Karlan B, Said J, Xing H, Koeffler HP. Cucurbitacin B has a potent antiproliferative effect on breast cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Sci* 2008, 99: 1793-7.
74. Yin D, Wakimoto N, Xing H, Lu D, Huynh T, Wang X, Black KL, Koeffler HP. Cucurbitacin B markedly inhibits growth and rapidly affects the cytoskeleton in glioblastoma multiforme. *Int J Cancer* 2008, 123: 1364-75.
75. Haritunians T, Gueller S, Zhang L, Badr R, Yin D, Xing H, Fung MC, Koeffler HP. Cucurbitacin B induces differentiation, cell cycle arrest, and actin cytoskeletal alterations in myeloid leukemia cells. *Leuk Res* 2008, 32: 1366-73.
76. Liu T, Zhang M, Zhang H, Sun C, Yang X, Deng Y, Ji W. Combined antitumor activity of cucurbitacin B and docetaxel in laryngeal cancer. *Eur J Pharmacol* 2008, 587: 78-84.
77. Shi X, Franko B, Frantz C, Amin HM, Lai R. JSI-124 (cucurbitacin I) inhibits Janus kinase-3/signal transducer and activator of transcription-3 signalling, downregulates nucleophosmin-anaplastic lymphoma kinase (ALK), and induces apoptosis in ALK-positive anaplastic large cell lymphoma cells. *Br J Haematol* 2006, 135: 26-32.
78. Fogh J, Fogh JM, Orfeo T. One hundred and twenty-seven cultured human tumor cell lines producing tumors in nude mice. *J Natl Cancer Inst* 1977, 59: 221-6.
79. Eyol E. Kukurbitasin İ'nin Anti Kanserojen Etkisinin Karaciğere Metastaz Yapmış CC531 Rat Modelinde Araştırılması. Ankara, 2014, TÜBİTAK.
80. Eyol E, Murtaga A, Zhivkova-Galunska M, Georges R, Zepp M, Djandji D, Kleeff J, Berger MR, Adwan H. Few genes are associated with the capability of pancreatic ductal adenocarcinoma cells to grow in the liver of nude rats. *Oncol Rep* 2012, 28(6): 2177-87.
81. Kaleağasıoğlu F, Berger MR. Differential effects of erufosine on proliferation, wound healing and apoptosis in colorectal cancer cell lines. *Oncol Rep* 2014, 31(3): 1407-16.
82. Tekedereli I, Alpay SN, Akar U, Yuca E, Ayugo-Rodriguez C, Han HD, Sood AK, Lopez-Berestein G, Ozpolat B. Therapeutic Silencing of Bcl-2 by Systemically Administered siRNA Nanotherapeutics Inhibits Tumor Growth by Autophagy and Apoptosis and Enhances the Efficacy of Chemotherapy in Orthotopic Xenograft Models of ER (-) and ER (+) Breast Cancer. *Mol Ther Nucleic Acids* 2013, doi: 10.1038/mtna.2013.45.

- 83.** Vuorelaa P, Leinonen M, Saikkuc P, Tammela P, Rauhad JP, Wennberge T. Natural products in the process of finding new drug candidates. *Curr Med Chem* 2004, 11(11): 1375-89.
- 84.** Swaffar DS, Holley CJ, Fitch RW, Elkin KR, Zhang C, Sturgill JP. Phytochemical investigation and in vitro cytotoxic evaluation of alkaloids from *Abuta rufescens*. *Planta Med* 2012, 78(3): 230-2.
- 85.** Setzer WN, Setzer MC. Plant-derived triterpenoids as potential antineoplastic agents. *Mini Rev Med Chem* 2003, 3(6): 540-56.
- 86.** Mehta RG, Murillo G, Naithani R, Peng X. Cancer chemoprevention by natural products: how far have we come? *Pharm Res* 2010, 27(6): 950-61.
- 87.** Chen H, Yao K, Nadas J, Bode AM, Malakhova M, Oi N. Prediction of molecular targets of cancer preventing flavonoid compounds using computational methods. *PLoS One* 2012, 7(5): e38261.
- 88.** Hijova H, Szabadosova V, Stofilova J, Hreckova G. Chemopreventive and metabolic effects of inulin in colon cancer development, *J. Vet. Sci* 2013, 14: 387–93.
- 89.** Park EJ, Pezzuto JM. Antioxidant marine products in cancer chemoprevention, *Antioxid. Redox Signal* 2013, 19: 115–38.
- 90.** Konopa J, Matuszkiewicz A, Hrabowoka M, Onoszka K. Cucurbitacins, Cytotoxic Antitumour Substances from *Bryonia alba* L. *Arzneim. Forsch* 1974, 24(11): 1741-3
- 91.** Tannin-Spitz T, Grossman S, Dovrat S, Gottlieb HE, Bergman M. Growth inhibitory activity of cucurbitacin glucosides isolated from *Citrullus colocynthis* on (human breast cancer cells. *Biochem Pharmacol* 2007, 73(1): 56-67.
- 92.** Bartalis J, Halaweish FT. Relationship between cucurbitacins reversed-phase high-performance liquid chromatography hydrophobicity index and basal cytotoxicity on HepG2 cells. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2005, 818(2): 159-66.
- 93.** Blaskovich MA, Sun J, Cantor A, Turkson J, Jove R, Sefti SM. Discovery of JSI-124 (cucurbitacin I), a selective Janus kinase/signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway inhibitor with potent antitumor activity against human and murine cancer cells in mice. *Cancer Res* 2003, 63(6): 1270-9.
- 94.** Su Y, Li G, Zhang X, Gu J, Zhang C, Tian Z, Zhang J. JSI-124 inhibits glioblastoma multiforme cell proliferation through G(2)/M cell cycle arrest and apoptosis augment. *Cancer Biol* 2008, 7: 1243–9.

95. Rivat C, Rodrigues S, Bruyneel E, Poetu G, Robert A, Redeuilh G, Bracke M, Gespach C, Attoub S. Implication of STAT3 signaling in human colonic cancer cells during intestinal trefoil factor 3 (TFF3) and vascular endothelial growth factor-mediated cellular invasion and tumor growth. *Cancer Res* 2005, 65: 195–202.
96. Turanlıgil NCS, Uyanıkgil Y. Hücre İçi Sinyal Yolakları ve Klinik Yansımaları. *Arşiv* 2010, 19: 180
97. Van Kester MS, Out-Luiting JJ, Von Dem Borne PA, Willemze R, Tensen CP, Vermeer MH. Cucurbitacin I inhibits Stat3 and induces apoptosis in Sézary cells. *J. Invest. Dermatol* 2008, 128: 1691–5.
98. Kang H, O'Connell JB, Leonardi MJ, Maggard MA, McGory ML, Ko CY. Rare tumors of the colon and rectum: a national review. *Int J Colorectal Dis* 2007, 22(2): 183-9.
99. Yasuda S, Yogosawa S, Izutani Y, Nakamura Y, Watanabe H, Sakai T. Cucurbitacin B induces G2 arrest and apoptosis via a reactive oxygen species- dependent mechanism in human colon adenocarcinoma SW480 cells. *Mol Nutr Food Res* 2010, 54: 559–65.
100. Zhou X, Yang J, Wang Y, Li W, Li-Ling J, Deng Y, Zhang M. Cucurbitacin B inhibits 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate- induced invasion and migration of human hepatoma cells through inactivating mitogen-activated protein kinase and PI3K/Akt signal transduction pathways. *Hepatol Res* 2012, 42(4): 401-11.
101. Ouyang D, Zhang Y, Xu L, Li J, Zha Q, He X. Histone deacetylase inhibitor valproic acid sensitizes B16F10 melanoma cells to cucurbitacin B treatment. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2011, 43(6): 487-95.
102. Iwanski GB, Lee DH, En-Gal S, Doan NB, Castor B, Vogt M, Toh M. Cucurbitacin B, a novel in vivo potentiator of gemcitabine with low toxicity in the treatment of pancreatic cancer. *Br J Pharmacol* 2010., 160(4), 998-1007.
103. Chen W, Leiter A, Yin D, Meiring M, Louw VJ, Koeffler HP. Cucurbitacin B inhibits growth, arrests the cell cycle, and potentiates antiproliferative efficacy of cisplatin in cutaneous squamous cell carcinoma cell lines. *Int J Oncol* 2010, 37(3): 737-43.
104. Kim HJ, Park JHY, Kim J. Cucurbitacin-I, a natural cell-permeable triterpenoid isolated from Cucurbitaceae, exerts potent anticancer effect in colon cancer. *Chemico-Biological Interactions* 2014, 219: 1–8
105. Chan KT, Li K, Liu SL, Chu KH, Toh M, Xie WD. Cucurbitacin B inhibits stat3 and the Raf/Mek/Erk pathway in leukemia cell line K562. *Cancer Lett* 2009, 289: 46-52.

- 106.** Sun J, Blaskovich MA, Jove R, Livingston SK, Coppola D, Sebt SM. Cucurbitacin Q: a selective stat3 activation inhibitor with potent antitumor activity. *Oncogene* 2005, 24(20): 3236-45.
- 107.** Lee DH, Thoennissen NH, Goff C, Iwanski GB, Forscher C, Doan NB, Said JW, Koeffler HP. Synergistic effect of low-dose cucurbitacin B and low-dose methotrexate for treatment of human osteosarcoma. *Cancer Lett* 2011, 306(2): 161-70.
- 108.** Chan KT, Meng FY, Li Q, Ho CY, Lam TS, To Y, Lee WH, Li M, Chu KH. Cucurbitacin B induces apoptosis and S phase cell cycle arrest in BEL-7402 human hepatocellular carcinoma cells and is effective via oral administration. *Cancer Letter* 2010, 294(1): 118-24.
- 109.** Sadzuka Y, Fujiki S, Itai S. Enhancement of doxorubicin-induced antitumor activity and reduction of adverse reactions by cucurbitacin I. *Food Research International* 2012, 47: 64-9
- 110.** Duangmano S, Sae-Lim P, Suksamrarn A, Patmasiriwat P, Domann FE. Cucurbitacin B Causes Increased Radiation Sensitivity of Human Breast Cancer Cells via G2/M Cell Cycle Arrest. *J Oncol* 2012, 8: 601-82.
- 111.** Duangmano S, Dakeng S, Jiratchariyakul W, Suksamrarn A, Smith DR, Patmasiriwat P. Antiproliferative Effects of Cucurbitacin B in Breast Cancer Cells: Down-Regulation of the c- Myc/hTERT/Telomerase Pathway and Obstruction of the Cell Cycle. *Int J Mol Sci* 2010, 11(12): 5323-38.
- 112.** Dakeng S, Duangmano S, Jiratchariyakul W, U-Pratya Y, Bögler O, Patmasiriwat P. Inhibition of Wnt signaling by cucurbitacin B in breast cancer cells: reduction of Wnt-associated proteins and reduced translocation of galectin-3- mediated β -catenin to the nucleus. *J Cell Biochem* 2012, 113(1): 49-60.
- 113.** Kongtun S, Jiratchariyakul W, Kummalue T, Tanariya P, Kunnachak S, Frahm AW. Cytotoxic properties of root extract and fruit juice of *Trichosanthes cucumerina*. *Planta Med* 2009, 75: 839-42.
- 114.** Lang KL, Silva IT, Zimmermann LA, Machado VR, Teixeira MR, Lapuh MI. Synthesis and cytotoxic activity evaluation of dihydrocucurbitacin B and cucurbitacin B derivatives. *Bioorg Med Chem* 2012, 20(9): 3016-30
- 115.** Liu T, Peng H, Zhang M, Deng Y, Wu Z. Cucurbitacin B, a small molecule inhibitor of the Stat3 signaling pathway, enhances the chemosensitivity of laryngeal squamous cell carcinoma cells to cisplatin. *Eur J Pharmacol* 2010, 641(1): 15-22

- 116.** Liu T, Zhang M, Deng Y, Zhang H, Sun C, Yang X. Effects of cucurbitacin B on cell proliferation and apoptosis in Hep-2 cells. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* 2008, 22(9): 403-7.
- 117.** Zhang Y, Ouyang D, Xu L, Ji Y, Zha Q, Cai J, H X. Cucurbitacin B induces rapid depletion of the G-actin pool through reactive oxygen species-dependent actin aggregation in melanoma cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2011, 43(7): 556-67.

EKLER

EK-1: ÖZGEÇMİŞ

- Adı Soyadı:** : Zübeyde TANRIVERDİ
- Doğum Yeri** : Gölbaşı
- Doğum Tarihi** : 1985
- Lisans** : Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü (2003-2007)
- Tezsiz Yüksek Lisans** : Fırat Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji
Öğretmenliği (2008-2009)
- Yüksek Lisans** : İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Toksikoloji AD. (2013-)

EK-2: ETİK KURUL ONAYINA GEREK OLMADIĞINA DAİR BELGE

13 Nisan 2013 Tarih ve 28617 Sayı ile TC. Resmi Gazete’de yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik’in 1. Bölümünün 2. Maddesinin 1. Fıkrası (Bu yönetmelik biyoyararlanım ve biyoeşdeğerlilik çalışmaları dahil, ruhsat veya izin alınmış olsa dahi insanlar üzerinde yapılacak olan ilaç, tıbbi ve biyolojik ürünler ile bitkisel ürünlerin klinik araştırmaların, klinik araştırma yerlerinin ve bu araştırmaları gerçekleştirecek gerçek veya tüzel kişileri kapsar.) gereğince tezimin bir klinik araştırma değil sadece laboratuvar çalışması olması nedeniyle etik kurul kararına gerek bulunmamaktadır.

EK-3. TURNİTİN DİJİTAL MAKBUZ



Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Zübeyde Tanrıverdi
Ödev başlığı: KOLOREKTAL KANSER HÜCRELERİ
Gönderi Başlığı: Kolorektal kanser
Dosya adı: zubeyde_tanriverdi_tez.doc
Dosya boyutu: 4.77M
Sayfa sayısı: 90
Kelime sayısı: 15,438
Karakter sayısı: 99,479
Gönderim Tarihi: 28-May-2015 10:24AM
Gönderim Numarası: 545989227

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK
BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOLOREKTAL KANSER HÜCRELERİ
ÜZERİNE (İN VİTRO) İRİNOTECAN VE
KUKURBİTASİN I KOMBİNE
TEDAVİSİNİN ETKİSİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Zübeyde TANRIVERDİ

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ İLE ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
ORTAK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Songül ÜNÜVAR
MALATYA-2015

Kolorektal kanser

Yazar Zübeyde Tanrıverdi

DOSYA ZUBEYDE_TANRIVERDI_TEZ.DOC (4.77M)

GÖNDERİLDİĞİ ZAMAN 28-MAY-2015 10:24 AM

KELİME SAYISI

15438

GÖNDERİM NUMARASI 545989227

KARAKTER SAYISI

99479

Kolorektal kanser

ORIJINALLIK RAPORU

%**21**

BENZERLIK ENDEKSI

%**20**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**1**

YAYINLAR

%**1**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BIRINCIL KAYNAKLAR

1

www.istanbulsaglik.gov.tr

İnternet Kaynağı

%**15**

2

biotek.ankara.edu.tr

İnternet Kaynağı

%**2**

3

www.uhod.org

İnternet Kaynağı

%**1**

4

www.saglik-bilgisi.net

İnternet Kaynağı

<%**1**

5

www.satansari.tr.gg

İnternet Kaynağı

<%**1**

6

Peter Plavchan. "NEW DEBRIS DISKS
AROUND YOUNG, LOW-MASS STARS
DISCOVERED WITH THE *SPITZER SPACE
TELESCOPE*", The Astrophysical Journal,
06/20/2009

Yayın

<%**1**

7

acikerisim.selcuk.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

<%**1**

8

earsiv.atauni.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

9

Seemanti Ghosh. "Aluminium Chloride Enhances Colchicine Production in Root Cultures of *Gloriosa superba*", *Biotechnology Letters*, 04/2006

Yayın

<% 1

10

www.selcuktipdergisi.org

İnternet Kaynağı

<% 1

11

www.gata.edu.tr

İnternet Kaynağı

<% 1

12

Submitted to TechKnowledge Turkey

Öğrenci Ödevi

<% 1

13

Submitted to Middle East Technical University

Öğrenci Ödevi

<% 1

14

tr.scribd.com

İnternet Kaynağı

<% 1

15

edoc.ub.uni-muenchen.de

İnternet Kaynağı

<% 1

16

www.healthmed.ba

İnternet Kaynağı

<% 1

17

Submitted to University of Queensland

Öğrenci Ödevi

<% 1

18

arthritis-research.com

İnternet Kaynağı

<% 1

19

www.egitimbilimlerienstitusu.hacettepe.edu.tr

İnternet Kaynağı

<% 1

20	openaccess.inonu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
21	www.science.gov İnternet Kaynağı	<% 1
22	www.ualberta.ca İnternet Kaynağı	<% 1
23	www.betayayincilik.com İnternet Kaynağı	<% 1
24	www.neiyigelir.net İnternet Kaynağı	<% 1
25	turkkanserderneği.org İnternet Kaynağı	<% 1
26	www.turkjbiochem.com İnternet Kaynağı	<% 1
27	www.logos.com.tr İnternet Kaynağı	<% 1
28	www.drahmetdobrucali.com İnternet Kaynağı	<% 1
29	www.kolonrektum.com İnternet Kaynağı	<% 1
30	icmr.nic.in İnternet Kaynağı	<% 1
31	ekutup.dpt.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1

www.ncbi.nlm.nih.gov

32

İnternet Kaynağı

<% 1

33

library.neu.edu.tr

İnternet Kaynağı

<% 1

34

www.cancer-therapy.org

İnternet Kaynağı

<% 1

35

www.esahq.org

İnternet Kaynağı

<% 1

ALINTILARI ÇIKART

ÜZERİNDE

EŞLEŞMELERİ ÇIKAR < 2 WORDS

BİBLİYOGRAFYAYI
ÇIKART

ÜZERİNDE