T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KOLOREKTAL KANSERLİ HÜCRE HATTINDA TCEAL7 GENİNİN WNT/β-KATENİN YOLAĞINDAKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayşegül SOYSAL

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ayşe Nur BUYRU

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Biyoloji Programı

Temmuz, 2022

TEZ KABUL VE ONAYI

Ayşegül SOYSAL tarafından, **Prof. Dr. Ayşe Nur BUYRU** danışmanlığında hazırlanan **"KOLOREKTAL KANSERLİ HÜCRE HATTINDA TCEAL7 GENİNİN WNT/β-KATENİN YOLAĞINDAKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI"** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **18/07/2021** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

		İmza	**Sonuç**
DANIŞMAN	Prof. Dr. Ayşe Nur BUYRU İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Doç. Dr. Ahmet ÖZAYDIN İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Veysel Sabri HANÇER İstinye Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret

BÜTÇE DESTEKLERİ

KOLOREKTAL KANSERLİ HÜCRE HATTINDA TCEAL7 GENİNİN WNT/β-KATENİN YOLAĞINDAKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: TYL-2019-34221

TEŞEKKÜR

Çalışma ekibine dahil olduğum için her zaman gurur duyduğum, sevgisi ve ilgisi ile bizlere destek olan Sevgili Danışman Hocam Prof. Dr. Nur BUYRU'ya,
Bu zorlu süreçte her zaman desteğini ve ilgisini arkamda hissettiğim laboratuvar çalışma arkadaşlarım Asuman ÇELEBİ, Ceren ORHAN, Günay GALAMİYEVA ve Tülay ÇALIDAĞLI'ya,
Tüm güzel ve zor zamanlarımda yanımda olup elimden tutan sevgili dostum ve dönem arkadaşım Efruz AKKUŞ'a,
Varlığı ile her zaman kendimi huzurda ve güvende hissettiğim Kadri Dedeme,
Temiz kalbine hayran olduğum annem Ayşe SOYSAL'a
Hayatımda çok değerli bir yere sahip, kız kardeşimden daha yakın olan sevgili sırdaşım, yol arkadaşım Eda BAŞAR'a,
Güzel bir sevgi ile beni seven ve desteğini daima arkamda hissettiğim İbrahim HIDIROĞLU'na

Sonsuz Sevgiler ve Teşekkürler…

Temmuz 2022 Ayşegül SOYSAL

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

BÜTÇE DESTEKLERİ ..... **i**
TEŞEKKÜR ..... **ii**
İÇİNDEKİLER ..... **iii**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **v**
TABLO LİSTESİ ..... **vi**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **vii**
ÖZET ..... **ix**
ABSTRACT ..... **x**
1. GİRİŞ **1**
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE **2**
2.1. KOLOREKTAL KANSER 4
2.1.1. Epidemiyoloji ve Etiyoloji 5
2.1.2. Kolorektal Kanserin Semptomları, Tanısı ve Evrelemesi 8
2.1.3. Kolorektal Kanserin Gelişimsel Yolu 8
2.1.4. Kolorektal Kanser Çeşitleri 11
2.2. WNT/β-KATENİN YOLAĞI ve KANSER 22
2.2.1. Kolorektal Kanserde Wnt/β-katenin Yolağının Etkisi 26
2.3. YAZILIM ETMENLERİ ve KANSER 26
2.3.1. TCEAL Gen Ailesi 26
3. YÖNTEM **32**
3.1. GEREÇ 32
3.1.1. Materyal 32
3.1.2. Kimyasal Maddeler 32
3.1.3. Cihazlar 32
3.1.4. Hücre Kültüründe Kullanılan Besiyerleri 33
3.2. YÖNTEM 33
3.2.1. Hücre Kültürü 33
3.2.2. *TCEAL7* Geninin siRNA ile Susturulması 36
3.2.3. Hücrelerden RNA Eldesi 37
3.2.4. cDNA Sentezi 38
3.2.5. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Tepkimesi 39

3.2.6. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi 40
4. BULGULAR 41
4.1. GERÇEK ZAMANLI POLİMERAZ ZİNCİR TEPKİMESİ SONUÇLARI 41
5. TARTIŞMA 47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 50
KAYNAKLAR 51
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 65

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Kanser gelişiminin rastgele ve kök hücre modeli. 3

Şekil 2.2: 2020 yılında Türkiye'de görülen kanser vaka sayıları. 6

Şekil 2.3: Kolorektal kanserin gelişimsel yolu. 10

Şekil 2.4: Kolorektal tümör gelişimi sırasında meydana gelen moleküler değişiklikler. (Menter et al., 2019) 18

Şekil 2.5: Wnt/β-katenin yolu kapalı ve açık durumda. 24

Şekil 2.6: TCEAL7 geninin kodladığı mRNA'lar 28

Şekil 2.7: TCEAL7-201 ekzon ve intron bölgeleri 29

Şekil 2.8: TCEAL7 ile ilişkili olabilecek genler 30

Şekil 2.9: TCEAL7 proteini 3 boyutlu yapısı 30

Şekil 3.1: CCD-841 kolon sağlıklı hücre hattı. 34

Şekil 3.2: Caco2 kolon kanser hücre hattı. 34

Şekil 3.3: Örnek bir siRNA deney planı. 36

Şekil 4.1: *TCEAL7*, *CCND1* ve *CTNNB1* genlerinin normal CCD-841 hücrelerine kıyasla kanser hücre hatlarında değişim katsayıları 44

Şekil 4.2: *c-MYC* geninin normal CCD-841 hücrelerine kıyasla kanser hücre hatlarında değişim katsayıları 44

Şekil 4.3: TCEAL7 siRNA sonrasında *TCEAL7*, *CCND1*, *CTNNB1* ve *c-MYC* gen ifadelerinin değişim katsayısı 46

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Türkiye'de 2020 yılında teşhisi konan kolon, rektum, anüs kanseri sayıları. 6

Tablo 2.2: Tceal ailesi üyeleri. 28

Tablo 3.1: siRNA deneyi solüsyonlarının hazırlanması. 37

Tablo 3.2: cDNA sentezinde kullanılan bileşenler. 38

Tablo 3.3: Çalışmada kullanılan primer dizileri. 39

Tablo 3.4: GZ-PZT protokolü. 40

Tablo 4.1: *TCEAL7*, *CCND1*, *CTNNB1* ve *c-MYC* genlerinin Caco2 kanser ve CCD-841 normal hücre hattındaki ortalama (±SS) değerleri 42

Tablo 4.2: *TCEAL7*, *CCND1*, *CTNNB1* ve *c-MYC* genlerinin HCT116 kanser ve CCD-841 normal hücre hattındaki ortalama (±SS) değerleri. 43

Tablo 4.3: *TCEAL7*, *CCND1*, *CTNNB1* ve *c-MYC* Genlerinin *TCEAL7* sirna susturması sonrası ortalama (SS) ifade değerleri. 45

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Kısaltmalar	Açıklama
APC	: Adenomatöz Polipozis Coli Protein
AKT	: Serin-Treonin Protein Kinaz
BEX	: X-te yerleşik beyinde ifade edilen protein
BRAF	: V-raf Mürin Sarkoma viral onkogen homolog B
CCNB1	: G2-mitoza özgü siklin B1
CCND1	: B-hücreli lenfoma 1 Protein, G1/S özgü siklin D1
CCKN1A	: Siklin bağımlı kinaz inhibitörü 1A
CREB	: Döngüsel AMP'ye duyarlı element bağlayıcı protein
cDNA	: Tamamlayıcı DNA
CpG	: Sitozin-fosfat-guanin
CK1α	: Kazein kinaz 1 alfa
CTNNB1	: Beta-katenin
DKK	: Dickkopf WNT Sinyal Yolu İnhibitörü
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DVL	: Dishevelled Segment Polarite Proteini 1
EGFR	: Epidermal büyüme etmeni almacı
EMT	: Epitel-Mezenkimal Geçiş
FAP	: Ailesel adenomatöz polipozis sendromu
FZD	: Frizzled. Yedi geçişli zar almacı
G6PD	: Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz
GLI-1	: Glioma-İlişkili onkogen homolog gen
GSK3β	: Glikojen sentaz kinaz 3 beta
HER2	: İnsan epidermal büyüme etmeni almacı 2
HIF-1	: Düşük oksijen ile indüklenebilen etmen 1
JAK	: Janus/Tirozin-protein kinaz
JPS	: Juvenil polipozis sendromu
KKH	: Kanser kök hücresi
KRAS	: Kirsten rat sarcoma viral onkogen homolog

KRK : Kolorektal kanser
LINE : Uzun serpiştirilmiş DNA dizi elemanları
LS : Lynch sendromu
LOH : Heterozigotluk kaybı
MAPK : Mitojen ile etkinleşen protein kinaz
miRNA : Mikro RNA
MLH1 : DNA hata onarım proteini, Mutl (E. Coli) homolog 1
MRF : Miyogenik düzenleyici etmenler
MSH2 : DNA hata onarım proteini, Mut S homolog 2
MSI : Küçük DNA uydu elemanların düzensizliği
MUTYH : MutY Homolog (E. Coli)
MYC : Avian Myelositomatosis Viral Onkogen Homolog
NF-κβ : Nüklear faktör kappa beta
NRF2 : Eritroid-2 ilişkili nüklear faktör
PCP : Düzlemsel hücre polaritesi
PI3K : Fosfatidilinositol-3 kinaz
PJS : Peutz-Jeghers Sendromu
PMS2 : DNA hata onarım endonükleaz, mayoz sonrası ayrışma protein
PTEN : Fosfataz ve tensin homologu
RGC : Retinal ganglion hücre
RNA : Ribonükleik asit
RUNX1 : Runt ilişkili yazılım etmeni
SINE : Kısa serpiştirilmiş DNA dizi elemanları
SMAD : Sma ve mad ilişkili protein
SPS : Tırtıklı Polipozis Sendromu
STAT3 : Sinyal dönüştürücü ve yazılım etkinleştirici-3
TAF3 : TATA kutusuna bağlanan protein ilişkili etmen 3
TCF : T hücresine özgü etmen
TCEAL7 : Yazılım uzama etmeni A benzeri 7
TFA : Yazılım uzama etmeni A
TP53 : Tümör protein p53
WIF : Wnt inhibitör etmen

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KOLOREKTAL KANSERLİ HÜCRE HATTINDA *TCEAL7* GENİNİN WNT/β-KATENİN YOLAĞINDAKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayşegül SOYSAL

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Biyoloji Programı

Danışman : Prof. Dr. Ayşe Nur BUYRU

Görülme sıklığı her geçen yıl hızla artan kolorektal kanserin (KRK) gelişimi; genetik ve epigenetik değişikliklerin birikimi ile meydana gelen hücre sinyal yollarının işlev bozukluğunun bir sonucudur. *TCEAL7* geni, Yazılım uzama etmeni A (SII) benzeri TCEAL gen ailesinin 9 üyesinden biridir ve yazılım uzama etmeni olarak görev alır. *TCEAL7* geninin ve ailenin birkaç diğer üyesinin çeşitli kanserlerde tümör baskılayıcı işleve sahip olduğu bildirilmiştir. Wnt/β-katenin yolağı; farklılaşma, çoğalma, apoptoz gibi hücresel süreçlere katılan korunmuş bir sinyal yoludur. Bu sinyal yolundaki bozukluklar özellikle *CTNNB1*'in anormal şekilde düzenlenmesinden kaynaklanmaktadır. Bu çalışmada, *TCEAL7* geninin Wnt/β-katenin yolu üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla; kolon kanseri hücre soylarında ve *TCEAL7* sirna susturması yapılmış kolon sağlıklı hücre soyunda; *TCEAL7, CTNNB1, c-MYC, CCND1* mRNA düzeyleri Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Tepkimesi yöntemi ile araştırılmıştır. Kolon kanseri hücre hattında yapılan deneyler sonucunda *TCEAL7* ve *CCND1* mRNA düzeylerinin azaldığı, *CTNNB1*, *c-MYC* mRNA düzeylerinin ise arttığı bulunmuştur. *TCEAL7*'nin normal kolon hücre hattında siRNA aracılığı ile %74 susturulması sonrası *CTNNB1* ve *c-MYC* mRNA düzeyleri artarken *CCND1* ifadesinin kolon kanseri hücre hatlarında gördüğümüz seviyelere yakın şekilde azaldığı bulunmuştur. Sonuç olarak; *TCEAL7*'de meydana gelen azalma *CTNNB1* ve *c-MYC* mRNA düzeyinde artışa neden olduğu için, *TCEAL7* ile Wnt/β-katenin yolu arasında yazılım düzeyinde bir ilişki olduğu görülmektedir. Bu ilişkinin belirlenebilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Temmuz 2022 , 83 sayfa.

Anahtar kelimeler: Kolorektal, TCEAL7, Wnt/β-katenin

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF TCEAL7 GENE ON WNT/β-CATENIN PATHWAY IN COLORECTAL CANCER CELL LINE

Ayşegül SOYSAL

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Medical Biology

Medical Biology Programme

Supervisor : Prof. Dr. Ayşe Nur BUYRU

The development of colorectal cancer (CRC), the incidence of which increases rapidly every year; it is the result of dysfunction of cell signaling pathways that occur with the accumulation of genetic and epigenetic changes. The *TCEAL7* gene is one of the 9 members of the transcription elongation factor A (SII)- like TCEAL gene family and act as a transcription factor. *TCEAL7* gene and several other members of the family were reported to have tumor suppressive functions in various cancers. Wnt/β-catenin pathway is a conserved signaling pathway that participates in cellular processes such as differantiation, proliferation, and apoptosis. Distunbances in this signaling pathway are specifically due to abnormal regulation of *CTNNB1*. In this study, to investigate the effect of *TCEAL7* gene on Wnt/β-catenin pathway; in colon cancer cell lines and Tceal7 silencing normal cell line; *TCEAL7, CTNNB1, c-MYC,* and *CCND1* mRNA levels were investigated by Real Time Polymerase Chain Reaction method. As a result of experiments performed on colon cancer cell lines, it was fund that *TCEAL7* and *CCND1* mRNA levels decreased, while *CTNNB1, c-MYC* mRNA levels increased. It was found that after 74% silencing of *TCEAL7; CTNNB1* and *c-MYC* mRNA levels increased, while *CCND1* expression decreased close to colon cancer cell lines. As a result; there appears to be an association between *TCEAL7* and the Wnt/β-catenin pathway, as decrease *TCEAL7* results in increase *CTNNB1* and *c-MYC* mRNA levels. Further studies are need to determine this relationship.

July 2022, 83 pages.

Keywords: Colorectal, TCEAL7, Wnt/β-catenin

1. GİRİŞ

Sindirim sisteminin son üyesi olan kolon, elektrolitleri ve suyu emerek sindirilemeyen maddelerden dışkıyı oluşturan kalın bağırsak, apendiks ile kısa çekum, sigmoid kolon ve rektumdan oluşur. Kolon epitel yüzeyi kript adı verilen ve kolonun işlevsel birimini oluşturan girintili çıkıntılı bir yapıya sahiptir. Kript tabanında, kolon epitel hücrelerinin sürekli yenilenmesini sağlayan kök hücreler yerleşiktir. Normalde kontrollü bir şekilde asimetrik bölünme geçiren bu kök hücreler, tümör gelişimin başlamasıyla anormal bir farklılaşma ve çoğalma sürecine girerler (Ricci-Vitiani et al., 2009). Genetik, epigenetik ve çevresel etmenlerin bir sonucu olarak meydana gelen kolorektal kanserlerin sıklığı her geçen yıl artmaktadır. 2020'de küresel olarak 1,15 milyon kolon, 0,7 milyon rektum ve 50.000 anal kanser vakası bildirilmiştir. Sürekli ilerleme ile bu sayıların 2040 yılında 1,92 milyon, 1,16 milyon ve 78.000'e yükseleceği tahmin edilmektedir (Xi and Xu, 2021).

Kolorektal kanser (KRK) hakkında yapılan moleküler çalışmalar, en sık mutasyona uğrayan genin β-katenin ile doğrudan etkileşime girebilen *APC* geni olduğunu ve Wnt/β-katenin yolunun KRK gelişiminde önemli bir sinyal olduğunu göstermektedir (Bian et al., 2020).

Yazılım uzama etmeni A (SII) benzeri TCEAL gen ailesi üyesi olan *TCEAL7* geni, literatürde tümör baskılayıcı işleve sahip bir yazılım etmeni olarak tanımlanmıştır. *TCEAL7* geninin küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, yumurtalık kanseri, mide kanseri ve melanoma gibi kanserlerde azaldığı rapor edilmiştir (Liu et al., 2021). Ancak *TCEAL7* işlevini kolorektal kanserde Wnt/β-katenin yolu üzerinden açıklayan bir çalışma bulunmamaktadır.

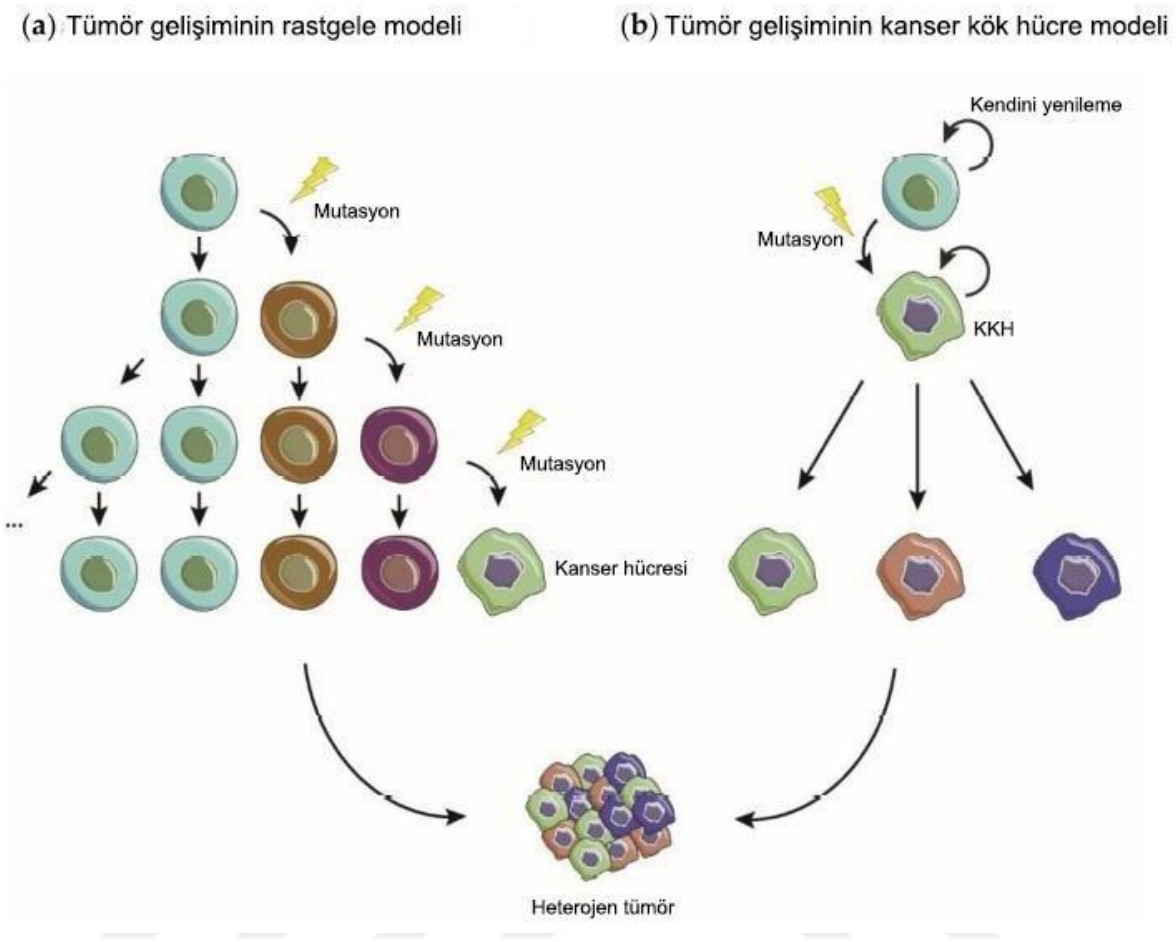
Bu çalışmada, *TCEAL7* geninin KRK'deki etki mekanizmasının aydınlatılması amacıyla kolon kanserli ve sağlıklı hücre soylarında Wnt/β-katenin yolu ile ilişkisi araştırılmıştır. Bu projenin amacı, *TCEAL7* işlevinin Wnt/β-katenin yolu üzerine etkisini belirlemektir.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

Kanser hücreleri, normal hücrelerden farklı olarak sonsuz bölünebilme kapasitesine sahip olup programlı hücre ölümünden kaçabilirler. Büyümeyi durduran sinyallere karşı duyarsız oldukları gibi kendi büyüme sinyallerini üretebildikleri için başka bir büyüme sinyaline ihtiyaç duymazlar. Genomları kararsızdır, hücresel enerji metabolizmaları değişmiştir (Cree, 2011) ve bağışıklık sisteminin yıkımından kaçabilecek mekanizmalar geliştirirler (Hanahan and Weinberg, 2000).

Kanserin fenotipik özellikleri sadece sahip olduğu genetik profile bağlı olmayıp aynı zamanda köken aldığı normal hücrenin genetik profili ile, diyet, sigara gibi çevresel etmenler ile birlikte yeni bir fenotip oluşturur. Bu nedenle kanserler arasında ciddi bir farklılık söz konusudur. Hatta aynı dokudan köken alan aynı türde olan kanserler bile birbirinden farklılık gösterir. Bir tek kişide aynı doku içinde bile kanser hücreleri bir heterojenite gösterebilir (Cree, 2011).

Tümör gelişimi, normal hücrelerin fenotipik ve işlevsel olarak habis ve yayılmacı kanserlere dönüştüğü çok aşamalı bir süreçtir. Normal hücre genomunun birden fazla bölgesinde gerçekleşen onkogenlerin etkinleşmesi ve tümör baskılayıcı genlerin işlev kaybı gibi genetik değişiklikler ile birlikte epigenetik değişiklikler tümör oluşturmaya doğru aşamalı bir geçişe neden olmaktadır. Tümör gelişimine ilişkin iki farklı yaklaşım bulunmaktadır. İlk yaklaşım rastgelelik belirten (stokastik) modeldir. Bu yaklaşım tümör dokusunun karmaşıklığını açıklamaktadır ve buna göre tüm hücreler eşit derecede tümör oluşturabilme yetisine sahiptir. Kanser kök hücrelerinin ve epitel-mezenkimal geçişin keşfi ile birlikte kanser kök hücre modeli önerilmiştir. Bu yaklaşıma göre kanser kök hücreleri, yeni tümörleri başlatabilen, sürdürebilen ve tohumlayan tek hücrelerdir (Carvalho et al., 2021).



Şekil 2.1: Kanser gelişiminin rastgele ve kök hücre modeli.

Kanser; birçoğu somatik hücrelerde meydana gelen mutasyonlar ve bu mutasyonların birikmesi sonucu gelişen genetik bir hastalıktır. Bir kısmı da eşey hücrelerinde meydana gelen mutasyonların aktarılmasıyla meydana gelir ve bunun sonucunda kişide yaygın olmayan kalıtsal kanser sendromları görülür. Kanser ile ilişkili genler 2 grupta incelenebilir;

Birinci grupta bulunan onkogenler normal hücrelerde proto-onkogen olarak adlandırılır ve bu genlerde meydana gelen tek nokta mutasyonları, gen sayısı artışı ya da bu genin ifade bakımından daha etkin bir bölgeye taşınması sonucu etkinleşirler. Bu mutasyonlar fenotipik olarak baskın niteliktedir. Proto-onkogenler; hücre çoğalması, hücresel sağkalım ve hücresel hareketlilik ile ilişkili genlerdir. Normal hücrelerde proto-onkogenler çok sıkı bir şekilde denetlenirken, kanser hücrelerinde bu denetim mekanizması bozulmuştur ve böylece kanser hücreleri, aşırı çoğalma, artmış sağkalım ve artmış hareketlilik gibi özellikler kazanır.

İkinci grubu oluşturan tümör baskılayıcı genler ise hücre döngüsü ve programlı hücre ölümünde rol alan genlerdir ve normal hücrelerde hücre çoğalması ve hücresel sağkalımı baskılarlar. Bu

genler daha çok gen tarafından kodlanan proteinin işlevini kaybetmesi ile sonuçlanan veya tümör baskılayıcı genin promoter bölgesini susturan mutasyonlara veya epigenetik değişikliklere maruz kalır. Tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonlar çekinik karakterdedir. Genin işlev kaybının her iki allelde gerçekleşmesi gerekir (Nenclares and Harrington, 2020).

2.1. KOLOREKTAL KANSER

Kolonun işlevleri arasında depolama, fermantasyon, emilim, salgılama ve hareketlilik bulunur. Kolonik hareketliliğin biyolojik saate uygun bir ritmi vardır (Erdogan and Lee, 2020). Kolon mukozasının uzunluğu boyunca tübüler bağırsak bezleri mevcuttur. Bağırsak bezleri ve bağırsak lümeni enteroendokrin hücreler, su ve elektrolit emici hücreler ve kayganlaştırıcı goblet hücreleri ile örtülüdür. Emici hücreler düzensiz mikrovilluslara sahiptir ve emici hücreler arası boşluk, emilimi de kolaylaştırmak üzere genişlemiştir (Mescher, 2013).

Kolonun lümen yüzeyi, parmak benzeri kıvrımlar ve çıkıntılar oluşturmak üzere katlanan tek bir epitel hücre katmanından oluşur. Bu kıvrımlar arasındaki boşluklar, bağırsağın işlevsel birimi olan Lieberkühn'ün kriptaları olarak bilinir (Munro et al., 2018). Yetişkin bir insan kolonunda santimetre kare başına yaklaşık 14.000 kripta bulunur (Ricci-Vitiani et al., 2009). Bağırsak kriptlerinin tabanında, bağırsak hücre tiplerini yenileyebilen çok potansiyelli kök hücreler vardır. Kolon epiteli; entorositler, goblet hücreleri, endokrin hücreler ve Paneth hücreleri bu kök hücrelerden gelişir. Enterositler, goblet hücreleri ve endokrin hücreler bu kök hücrelerden farklılaşarak lümen epitel yüzeyini ve kriptaların üst yarısını kaplar. Paneth hücreleri ise farklılaşarak kript tabanınına doğru hareket eder (Humphries and Wright, 2008). Paneth hücrelerin görevi mukozal savunma bariyeri oluşturarak, sindirim sistemi mikroflorasını düzenlemek ve büyüme faktörleri ile diğer düzenleyici molekülleri sentezleyerek tabanda bulunan kök hücre soyunun devamlılığını sağlamaktır (van der Wath et al., 2013). Epitel hücrelerin farklılaşma yoluyla üretilmesi ve yüzeye yerleşmesi her 5 günde 1 gerçekleşir (Medema and Vermeulen, 2011).

Normal kolon epitel yüzeyinde kriptler düzenli ve dallanma yapmamış halde bulunurken kolorektal kanserde (KRK) kript mimarisi son derece bozulmuş, düzensiz şekilli, desmoplastik stromaların arttığı ve dallanmalar yapmış olduğu gözlenir. Yüksek dereceli adenokarsinomlarda ise sıkıca birbirine tutunan tümör hücreleri vardır ve glandlar tümör

hacminin %50'sinden azını oluşturur. Bu durum da tümör gelişiminin kolon epitelinin tabanında gerçekleştiğini ve doğrudan kolon tabanındaki kök hücreleri ya da geçiş hücrelerinde oluşan bir mutasyon ile başladığını düşündürmektedir. (Humphries and Wright, 2008, Ricci-Vitiani et al., 2009). Tümör oluşumunun erken aşamalarında kript tabanındaki hücreler normal görünmektedir. Zamanla farklılaşarak yüzeye doğru hareket eden displastik hücreler, değişken *APC* gen ifadelerine sahiptir ve diğer genlerinin ifadesi ise tümörün çeşidine bağlı olarak farklılık gösterir (Shih et al., 2001).

Kolorektal kanser vakalarının %90'ı kolon ve rektum epitelinden gelişen adenokarsinomalardır (Fleming et al., 2012).

2.1.1. Epidemiyoloji ve Etiyoloji

2.1.1.1. Epidemiyoloji

Kolorektal kanserin sıklığı her geçen yıl endişe verici şekilde artmaktadır. Kadınlarda en sık görülen 2. erkeklerde ise 3. kanser türüdür (Sung et al., 2021). 2020 yılında yaklaşık 1,93 milyon kolorektal kanser teşhisi konmuş ve 0,94 milyon kişi bu hastalık nedeni ile hayatını kaybetmiştir. Kolorektal kanserin tüm kanserler arasında görülme oranı %10 olup, kanser nedeni ile hayatını kaybedenlerin %9,4 ü kolorektal kanser hastasıdır. Kolorektal kanser, kanser sebebi ile gerçekleşen ölümler bakımından 3. sıradadır. 2020 yılında 515.637 erkek ve 419.536 kadın kolorektal kanser nedeni ile hayatını kaybetmiştir (Xi and Xu, 2021). Günümüzde 5.25 milyon kolorektal kanser hastası (5 yıllık sağkalım) mevcuttur .



Şekil 2.2: 2020 yılında Türkiye'de görülen kanser vaka sayıları.

Kolorektal kanserin görülme sıklığı bakımından dünyada 3. Sırada olan Türkiye; Şekil 2.2'de gösterildiği gibi 2020 yılında teşhisi konan 233.834 yeni kanser vakasının 21.191'i kolorektal kanserdir. Yine 2020 yılında Türkiye de kanser ilişkili 126.335 ölümün 10.798'i kolorektal kanser hastasıdır. Tablo1'de kolon, rektum ve anüs kanserlerinin 2020 yılına ait vaka ve ölüm sayıları verilmiştir .

Tablo 2.1: Türkiye'de 2020 yılında teşhisi konan kolon, rektum, anüs kanseri sayıları.

	Yeni Vakalar		Ölümler	
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)
Kolon	12217	5,2	6545	5,2
Rektum	8741	3,7	4178	3,3
Anüs	233	0,1	75	0,06
Toplam	21191	9	10798	8,56

2.1.1.2. Etiyoloji

Kolorektal kanser riski; erkek olmak ve ilerleyen yaş ile birlikte artmaktadır. Vakaların %90'ı 50 yaş üzerindedir (Siegel et al., 2017). Hem genetik hem de çevresel etmenler KRK gelişimine katkıda bulunur. Ailede bir kolorektal kanser geçmişi var ise hastalık riski yaklaşık yüzde %10-20 artmaktadır (Henrikson et al., 2015). Hastaların yaklaşık yüzde %5-7' si ailesel kolorektal kanser sendromlarından etkilenmiştir (Syngal et al., 2015). Ayrıca hastaların uzun süren iltihaplı bağırsak sendromu olması, geçmişte KRK geçirmiş olması ve bağırsakta gelişen adenomalar KRK riskini arttırmaktadır (Brenner et al., 2011).

Sigara, aşırı alkol tüketimi, artan kilo, işlenmiş ve kırmızı et tüketimi, hareketsiz yaşam kolorektal kanser riskini arttıran bazı etmenlerdir (Dekker et al., 2019).

Enflamasyona Bağlı Kolorektal Kanserler

Bağırsak mikrobiyotasının dengesinin bozulması sonucunda epitel hücre dönüşümü ile kanser gelişimi başlayabilir (Tjalsma et al., 2012).

Kolorektal kanser gelişiminde etkisi olduğu bilinen birkaç mikroorganizma mevcuttur. Bunlardan biri olan *Fusobacterium nucleatum* daha çok adenomadan gelişen KRK vakalarında artmıştır. Rubinstein'in çalışmasına göre *F. nucleatum* FadA adezyon proteini aracılığıyla E-kaderine etki ederek β-katenin seviyesinin artışına; böylece tümör gelişimi ile ilgili olayların başlamasına neden olur (Rubinstein et al., 2013).

S. gallotytics'in sağlıklı kolonda bulunma oranı <%5 iken kolon tümörlerinde %20-50 arasında olduğu gözlenmektedir. Daha çok adenomaların ve tümörlerin kollagen bakımından zengin bölgelerinde yerleşik olan *S. gallotytics* neoplastik dönüşümü ve enflamasyonu teşvik eder (Abdulamir et al., 2010).

B. fragilis toksinleri hücre çoğalmasını başlatmak üzere Wnt/β-katenin sinyal yolunu ve enflamasyonu başlatmak üzere NF-kB yolunu etkinleştirebilir (Sears et al., 2014).

E. faecalis ise DNA hasarına neden olacak hidrojen peroksit oluşturan superoksitler salarak kanser başlamasına katkıda bulunur (Wang et al., 2012).

2.1.2. Kolorektal Kanserin Semptomları, Tanısı ve Evrelemesi

Kolorektal kanser şüphesi uyandıran hastada; açık veya gizli rektal kanama, bağırsak alışkanlıklarında değişiklik, anemi ve karın ağrısı gibi belirtiler görülür. İyi ve kötü huylu tümörlerin her ikisi de rektal kanamaya sebep olduğu için kesin teşhis kolonoskopi ve ardından gelen histolojik, patolojik inceleme ile konulabilmektedir. 45 yaş ve üzeri kişilerde rektal kanama belirtisi ile doğrudan kolonoskopi yöntemine gidilirken daha genç hastalarda ek belirtilere ihtiyaç duyulur. Genç hastalar için ailede bir KRK geçmişi, bağırsak alışkanlıklarında değişiklik, açıklanamayan kilo kaybı ve anemi gibi belirtiler de dikkate alınır (Fijten et al., 1995).

Sonraki süreçlerin yönetimi temel histolojik, patolojik evreleme ile yapılır. Klasik TNM evrelemenin yanısıra histolojik alt tipleme, derecelendirme ve lenfatik, perinöral ve venöz invazyonun histolojik değerlendirilmesi ve çok sayıda tümör bazlı belirtecin araştırılmasının önemi giderek artmaktadır (Pagès et al., 2018).

Amerikan Joint Comittee on Cancer ve Union for International Cancer Control tarafından geliştirilen TNM evreleme sistemine göre, KRK'de

T: Kolon duvarı boyunca tümör ilerlemesinin derinliğini,

N: Yakınlardaki lenf nodlarına sıçrama olup olmadığını, etkilenen lenf nodlarının sayısını,

M: Uzak lenf nodlarına veya akciğer, karaciğer gibi organlara yayılmanın varlığını belirtir (Amin et al., 2017).

TNM sınıflandırmasına göre kolon tümörleri tanı ve tedavi derecelerine göre 4 temel evreye ayrılır.

Evre 1: 5 yıllık sağkalım oranı %94

Evre 2: 5 yıllık sağkalım oranı %82

Evre 3: 5 yıllık sağkalım oranı %67

Evre 4: Metastatik. 5 yıllık sağkalım oranı %11'dir.

Aynı TNM evresine sahip farklı hastalar için sağkalım süreleri değişkenlik göstermektedir. Bu durum kanser hücrelerinin genomik olarak birbirinden farklı olmasından kaynaklanmaktadır (Cuyle and Prenen, 2017).

2.1.3. Kolorektal Kanserin Gelişimsel Yolu

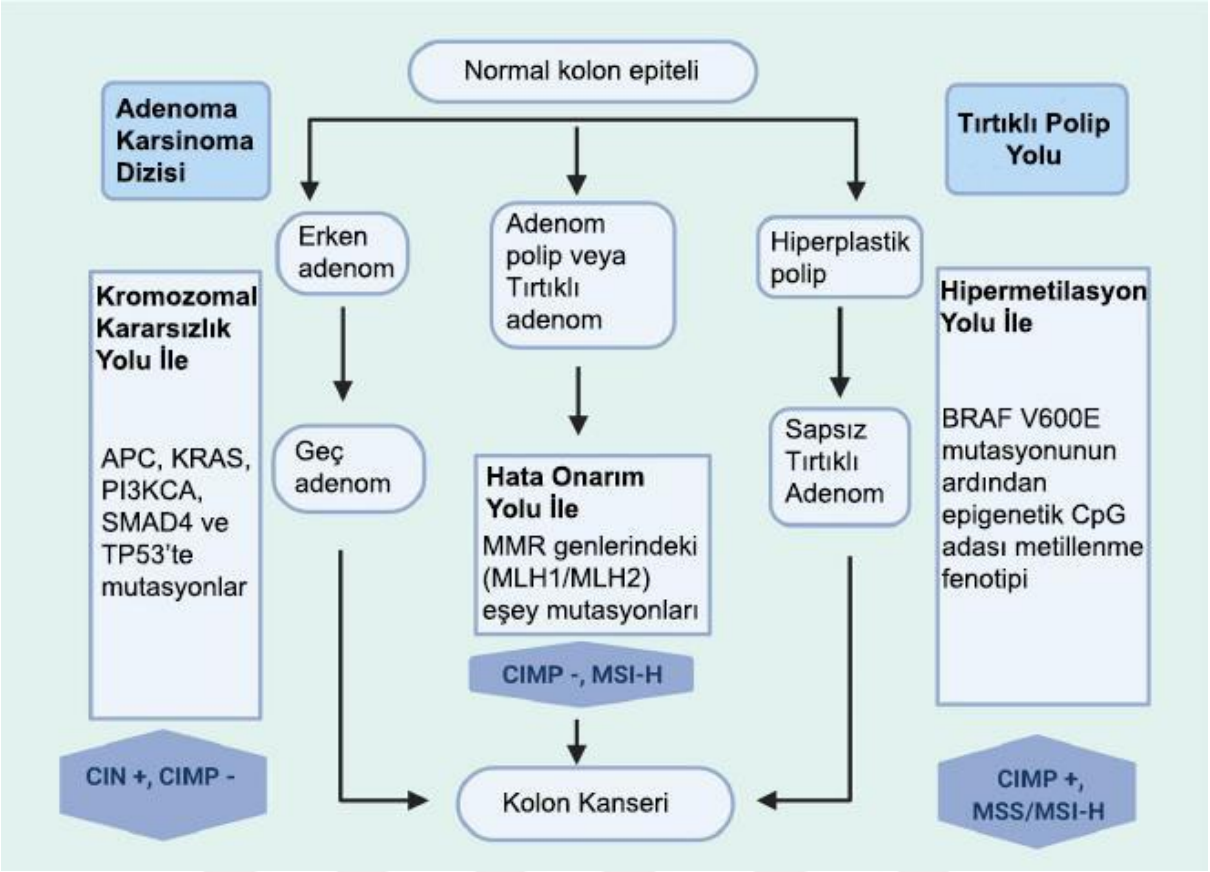
Anormal bir kript ile başlayan KRK'dan önce bir neoplastik lezyon (polip) gelişir. Bu polipler, bağırsak lümenine çıkıntı yapan bağırsak mukozası içindeki anormal hücrelerin bölgesel büyümeleri veya kümeleridir. KRK'yi başlatan hücre ise bir kök hücre veya kök hücre benzeri bir hücre olarak kabul edilir. Bu kanser kök hücreleri genetik ve epigenetik değişimlerin birikimi, tümör basklayıcı genlerin etkinliğini kaybetmesi ve onkogenlerin etkinleşmesinin bir sonucudur (Medema, 2013). Zamanla bu poliplerdeki bölünen hücreler KRK'nin ayırt edici özelliği olan bağırsak duvarını istila etme kabiliyetine sahip olmalarını sağlayan değişiklikleri biriktirerek yerel lenf düğümlerine sonra da uzak bölgelere yayılır.

Poliplerin yalnızca küçük bir kısmı kötü huylu özellikler kazanır ve hatta bu özellikleri kazananların bile poliplerden kansere dönüşümü genellikle uzun yıllar alır (Stracci et al., 2014).

APC, K-RAS, TP53, MUTYH ve *BRAF* gibi genler KRK gelişiminde önemli rol oynar. Birçok hastada ise en sık mutasyona uğrayan genin APC olduğu saptanmıştır (Bettstetter et al., 2007).

KRK gelişimi için genel olarak 2 yol mevcuttur (Şekil 2.3)(Kasi et al., 2020);

KRK'lerin %60-70'i adenomalardan gelişirken %30-40'ı de tırtıklı poliplerden gelişir (East et al., 2015).



Şekil 2.3: Kolorektal kanserin gelişimsel yolu.

Polipler, tüm kolon ve rektum boyunca gelişebilir. Ancak kolonun sağ tarafında gelişen polipler genellikle SSP (Sapsız tırtıklı polip) tipidir ve genellikle düz oldukları için kanama veya ülsere neden olmazlar. Bu yüzden teşhis edilmeleri zor olabilir (Conteduca et al., 2013).

Bu yolda *BRAF* V600E mutasyonu ve CpG bölgelerinde artmış metillenme mevcuttur.

Polip hücreleri çoğaldıkça polipin boyutu artar ve genetik mutasyonlar ve epigenetik değişiklikler birikmeye başlar. Bu durum da hücresel ve histolojik diplazi ile ortaya çıkar. Zamanla DNA'daki hasar arttıkça yüksek dereceli displazinin özellikleri gelişebilir. Bu da yayılmacı karsinomaya ilerlemek için yüksek bir risk anlamına gelir (Lochhead et al., 2014).

Bu polipler alınmazsa, yakındaki dokuyu istila etme, kolon veya rektum duvarının içine veya dışına büyüme yeteneğine sahiptir. Yeni damar oluşturabilirse lenf ve dolaşım sistemine erişerek kanserli hücrelerin uzak organlara yayılmasına neden olabilir (Frank, 2007, Nagy et al., 2009).

2.1.4. Kolorektal Kanser Çeşitleri

Polipten kansere ilerleme, bir dizi genetik ve epigenetik değişikliklerin sonucudur. DNA mutasyonları sporadik olarak ortaya çıkabildiği gibi kalıtım yolu ile de aktarılabilir. *MLH1, MSH2, PMS2* ve *APC* gen mutasyonları gibi KRK ilişkili kalıtsal mutasyonlar nadir olup KRK lerin yaklaşık %5 ini oluşturur (Heinen et al., 2002).

2.1.4.1. Ailesel Kolorektal Kanserler

Kalıtsal KRK sendromları; Lynch sendromu gibi polipozis dışı sendromlar ve polipozis sendromları olmak üzere ikiye ayrılır. Sindirim sistemi polipozis sendromları, baskın polip tipine, yani adenomatöz poliplere, hamartomatöz poliplere (jüvenil veya Peutz-Jeghers polipleri) veya tırtıklı poliplere göre alt sınıflara ayrılır (Ma et al., 2018).

1. **Lynch Sendromu (LS)**

KRK vakalarının %2-4'ünü oluşturan Lynch sendromu (LS); DNA hata onarım genlerinde meydana gelen mutasyonların otozomal baskın olarak aktarılması sonucunda gelişir. Bu sendroma sahip bireyler; daha çok kolonun sağ kısmında gelişen kolon kanserine, erken yaşta başlayan kolorektal kansere ve endometriyal kanser gibi bağırsak dışı kanserlere yatkınlık gösterir. LS'de daha çok sporadik lezyonlara benzeyen az sayıda adenoma mevcuttur.

Adenoma-karsinoma yolu hızlanmış olduğu için 20 ile 25 yaş arasında 1-2 senede bir kolonoskopi önerilmektedir. LS'ye sahip bireylerde ortalama 45 yaşında KRK ortaya çıkar (Ma et al., 2018).

2. **Ailesel Adenomatöz Polipozis Sendromu (FAP)**

KRK'lerin yaklaşık %1'ini oluşturan Ailesel adenomatöz polipozis (FAP) sendromu, *APC* genindeki bir mutasyonun otozomal baskın olarak aktarılması sonucu kalın bağırsakta genellikle erken ergenlik döneminden itibaren yüz binlerce adenomatöz polip gelişimi ile başlar (Bellizzi and Frankel, 2009). *APC* mutasyonunu takiben *KRAS* ve *TP53* genlerinde mutasyonlar görülür (Fearon and Vogelstein, 1990). Polipler tüm kolon boyunca yayılmıştır ve tedavi edilmez ise KRK ile sonuçlanır. Çoğu adenom displastik kriptler olarak başlar. FAP sendromuna sahip bireylerde KRK ortaya çıkma riski yüksek olmasına rağmen her 10^6 epitel kök hücreden sadece biri bir tümöre yol açabilir. Bu nedenle tümörleşme sürecine çevresel ve epigenetik etmenlerin de katkı sağladığı söylenebilir (Nucci et al., 1997, Kinzler and Vogelstein, 1996).

3. MUTYH ile İlişkili Polipozis (MAP)

MAP, *MUTYH* geninde meydana gelen mutasyonlar sonucu gelişen çekinik karakterli bir sendromdur (Al-Tassan et al., 2002). Kolorektumda 10-100 arası adenoma ile tanımlanan MAP sendromu olan kişilerde, ortalama 48 yaşına kadar %43-100 olasılıkla KRK oluşur (Nielsen et al., 2009).

4. Peutz-Jeghers Sendromu (PJS)

PJS, ilk olarak Hollandalı bir ailede, etkilenen 22 aile üyesinin 17'sinde gözlenen ve çocukluk döneminden itibaren başlayan, bağırsak tıkanıklığı, karın ağrısı, mide ve bağırsak kanaması, kolon ve kolon dışında tümör gelişimine neden olan bir semptomdur (Westerman et al., 1999). Hastaların %90'ında *LKB1* geninde bir mutasyon vardır (Yoo et al., 2002). PJS'nin en tutarlı üç klinik özelliği mukokutanöz melanin hiperpigmentasyonu, çok sayıda ayırt edici sindirim sistemi hamartomatöz polipler ve PJS öyküsüdür (Jansen et al., 2006).

Pigment artışı genellikle dudaklar, gözler, eller veya ayaklar çevresindedir. Polipler gastrointestinal sistem boyunca ortaya çıkabilir, ancak esas olarak ince bağırsakta (PJS hastalarının %96'sında), midede ve kolonda görülür (Yoo et al., 2002).

5. Juvenil Polipozis Sendromu (JPS)

JPS, en sık kolon ve midede ve daha az sıklıkla ince bağırsakta görülen çoklu (üçten fazla) jüvenil polip ile karakterize otozomal baskın bir hastalıktır (Brosens et al., 2016). Polipler tedavi edilmezse kanama ve kansızlığa neden olabilir. JPS hastalarında tahmini yaşam boyu gastrointestinal kanser riski %9 ila %50 arasında değişir ve 35 yaşına kadar JPS hastalarının %17-22'sinde KRK görülür (Howe et al., 1998, Schreibman et al., 2005).

6. Tırtıklı Polipozis Sendromu (SPS)

Daha önce hiperplastik polipozis sendromu olarak bilinen SPS, kolorektumda çoklu tırtıklı poliplerin varlığı ve artmış kolorektal kanser riski ile karakterize bir sendromdur. 2010 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterlerine göre SPS şu şekilde tanımlanır:

1- Her biri 5 mm'den büyük ve ikisi ise 10 mm'den büyük olmak üzere rektuma yakın yerleşimli en az 5 tırtıklı polip olmalıdır veya

2- En az 5 tanesi rektuma yakın yerleşimli olmak üzere herhangi bir boyutta kolon boyunca yayılmış 20 den fazla tırtıklı polip olmalıdır (Pai et al., 2019).

Ortalama tanı yaşı 55-65'tir. Ancak hastalığın teşhisi 11 ile 83 yaş arasında değişmektedir. SPS olan bireylerde hayatları boyunca %50' den fazla ihtimalle KRK görülebilir (Edelstein et al., 2015). Kalıtım modeli tam olarak bilinmese de, BRAF mutasyonları ve yüksek düzeyde promotör metillenmesi (CIMP) dahil olmak üzere bu tırtıklı poliplerde birikmiş somatik değişiklikler bulunmuştur. Bu farklı moleküler anormallikler nedeniyle, tırtıklı poliplerin, geleneksel adenoma karsinom dizisinden farklı olan tırtıklı bir neoplazi yoluyla geliştiği düşünülmektedir (Kambara et al., 2004, Minoo et al., 2006).

7. PTEN Homartoma Tümör Sendromları

PTEN Homartoma Tümör Sendromları, *PTEN* geninde meydana gelen mutasyonlar nedeni ile gelişen Cowden ve Bannayan–Riley–Ruvalcaba sendromuna (BRRS) ortak olarak verilen isimdir. Sindirim sistemine ait organlarda hamartomatöz polipler gelişmesine neden olur. JPS'den farkı Cowden sendromunda meme ve tiroid bezinde meydana gelen iyi ya da kötü huylu lezyonlar oluşması iken; BRRS'de makrosefali, yağ ve damar dokularında bezeler oluşmasıdır (Eng and Ji, 1998, Scheper et al., 2006).

2.1.4.2. Sporadik Kolorektal Kanserler

Fearon ve Vogelstein 1990 yılında kolorektal kanser gelişimin moleküler yolunu açıklamışlardır (Fearon and Vogelstein, 1990).

KRK için 4 farklı genomik ve epigenomik düzensizlik tanımlanmıştır. Bunlar;

KRK'lerin yaklaşık %85 inde görülen kromozom düzensizliği,

Küçük uyduların kararsızlığı (MSI),

CpG ada metillenmesi (CIMP) ve

DNA genelinde metillenmenin azalmasıdır (Grady and Pritchard, 2014).

1. Epigenetik Etmenler

DNA metillenmesi, histon düzenlemeleri, kodlanmayan RNAlar (miRNA,) aracılığıyla mRNA yazılımı ve protein çevrimi sonrası düzenlenmeler gibi epigenetik değişiklikler normal

hücrelerde görülen değişimlerdir. Bu mekanizmalardaki bozukluklar kanser gelişimini tetikleyebilir (Ducasse and Brown, 2006).

a) DNA Metillenmesi

Epigenetik düzenlemelerden biri olan DNA metillenmesi, CpG dinükleotid bölgesinde sitozin halkasının 5. karbonuna DNA metil transferaz enzimi aracılığıyla bir metil grubu bağlanması ile gerçekleşir (Kanai and Hirohashi, 2007). CpG adalarında meydana gelen metillenme gen ifadesini baskılar. KRK'de DNA metillenmesinde artış daha çok, DNA hata onarım genlerinde, WNT yolağında ve hücre döngüsünde işlevi olan genlerde görülür (Coppedè et al., 2014, Lao and Grady, 2011, Goel and Boland, 2012).

Kolorektal kanserler için artan metillenme ilk olarak 1999 yılında tanımlandı. Artmış CpG ada metillenmesi, KRK vakalarının yaklaşık %10-20'sinde görülür. Bu durum CpG ada Metilatör Fenotip. (CIMP) olarak tanımlanır (Toyota et al., 1999).

Metillenme profiline sahip tümörler daha çok kadınlarda görülüp kolonda proksimal kısımda yerleşik, zayıf ve müsinöz histolojiye sahip olup sıklıkla KRAS ile BRAF mutasyonları bu metillenmeye eşlik eder (Toyota et al., 2000, van Rijnsoever et al., 2002)

İnsan genomundaki CpG dinükleotidlerinin çoğu metillenmiştir. Ancak normal sağlıklı hücrelerde tipik olarak metillenmemiş CpG açısından zengin CpG adaları olarak adlandırılan diziler vardır. CpG adaları tümör baskılayıcı genlerin yaklaşık yüzde %40-60'ının promoter bölgelerinde bulunur. Genellikle 200-2000 baz çifti uzunluğundadır, GC içeriği %50'dir ve gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynar (Weber et al., 2007). Metillenmiş CpG dinükleotidleri genellikle gen gövdelerinde ve sentromerler ile diğer retrotranspozon elemanların tekrarlayan dizilerinde (LINE, SINE) bulunur (Rodríguez-Paredes and Esteller, 2011).

DNA metillenmesi tümör baskılayıcı genleri susturabilirken, DNA genelinde metillenmenin azalması kromozom kararsızlığını ve imprinting mekanizmasının bozulmasını teşvik ederek KRK gelişimine yol açabilir (Suzuki et al., 2006). Genom çapında metillenmenin azalması (hipometillenme), genellikle KRK dahil olmak üzere birçok kanserde LINE-1 veya kısa serpiştirilmiş nükleotid elementleri (SINE veya Alu) gibi tekrarlayan yer değiştirebilir DNA elementlerinde meydana gelir (Goel et al., 2010).

Ayrıca, bir dizi çalışma, LINE-1'de meydana gelen hipometillenmenin daha kötü hasta sağkalımı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Ogino et al., 2008). Bir hipotez, LINE/SINE dizilerinin hipometillenmesinin potansiyel proto-onkogenlerin yanlışlıkla etkinleşmesine neden olabileceğidir. Bu da LINE-1 hipometillenmesinin KRK oluşumunda işlevsel bir rolü olduğu anlamına gelmektedir (Wolff et al., 2010, Hur et al., 2014).

b) Histon Değişimleri

DNA; H1, H2 (H2A, H2B), H3 ve H4 olarak adlandırılan 4 histon çekirdek proteininin, her birinden ikişer adet bir araya gelerek oluşturduğu oktamer yapı etrafına sarılır. Bu oluşan birime nükleozom denir. Sonrasında nükleozomlar bir araya gelerek kromatin yapıyı meydana getirir. Her bir histon çekirdek proteini; doğrudan histon-DNA etkileşimini değiştirerek veya dolaylı olarak özgül bağlayıcı proteinler için tanıma bölgelerini değiştirerek gen ifadesini etkileyebilen, lizin ve arginin kalıntıları bakımından zenginleştirilmiş kendine özgü bir kuyruğa sahiptir (Chi et al., 2010).

Hem normal fizyolojik büyüme ve gelişme hem de kanser de dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların patogenezi sırasında birçok hücresel süreçle ilgili çeşitli histon düzenlemeleri tanımlanmıştır. Histonların düzenlenme sürecindeki bozukluklara, histon deasetilazlar (HDAC'ler) ve Histon asetiltransferazlar (HAT'ler) gibi histon kuyruklarının çevirim sonrası düzenlenmelerini katalize eden enzimlerdeki mutasyonlar neden olabilir (Hanigan et al., 2008).

Histon Asetillenmesi

Histonların asetillenmesi ve deasetillenmesi, sırasıyla HAT'ler ve HDAC'ler tarafından katalize edilir. Histon asetillenmesi, histon kuyruklarındaki pozitif yükü nötralize ederek DNA ve histonlar arasındaki elektriksel etkileşimi zayıflatarak kromatin açılmasına yol açar (Struhl, 1998).

Özellikle proto-onkogenlerle ilişkili histonların asetillenmesindeki artış, gen ifadesini arttırırken, tümör baskılayıcı genlerle ilişkili histonların asetillenmesindeki azalma, ilgili genleri susturur ve histon asetillenmesinin kanser gelişimi ve ilerlemesindeki önemli rolü olduğunu gösterir (Audia and Campbell, 2016).

Histon Metillenmesi

Histon metillenmesi ve demetillenmesi, sırasıyla histon metiltransferazlar (HMT'ler) ve histon demetilazlar (HDM'ler) tarafından katalize edilir. Bu enzimlerin ifade düzeylerinin artması ya da azalması, genel anlamda histon metillenme durumunu değiştirir. Bunun sonucunda ise yüzlerce onkogenin veya tümör baskılayıcı genin ifade düzeyi değişerek kanser gelişimi veya ilerlemesine neden olabilir (Huang et al., 2017).

Metil grupları, histon kuyruklarındaki lizin ve arginin kalıntılarına çok özel bir şekilde eklenir ve metillenen kalıntıya bağlı olarak gen ifadesinin artmasına veya baskılanmasına yol açabilir. Histon metillenmesi, normal hücre farklılaşması için çok önemli olan birçok biyolojik işlevi düzenler ve kanser gelişimi için önemli bir role sahiptir (Greer and Shi, 2012).

Histon metillenmesi sadece DNA'nın katlanmasını düzenlemez; aynı zamanda yazılım karmaşımlarına dahil olan proteinler tarafından tanınabilen bağlanma bölgeleri de oluşturur. Örneğin, yazılım başlatma etmeni TFIID alt birim 3 (TAF3), bu yolla Wnt/β-katenin hedef genlerinin etkinleşmesine aracılık eder (Huang et al., 2017, Salz et al., 2014).

c) Kodlama Yapmayan RNA'lar

Encyclopedia of DNA Elements Consortium (ENCODE) transkriptom projesi tarafından yapılan çalışmalar, protein kodlayan genlerin toplam genomun %2'sinden daha azını temsil ettiğini ve genomun yaklaşık %80'inin etkin olarak kodlanmayan RNA'ya (ncRNA) kopyalandığını ortaya koymuştur (2012b).

NcRNA'lar boyutlarına göre genel olarak iki gruba ayrılır: miRNA'lardan (miRNA'lar), piwi etkileşimli RNA'lardan (piRNA'lar) ve küçük nükleolar RNA'lardan (snoRNA'lar) oluşan, <200 nükleotitten daha kısa olan küçük ncRNA'lar; ve 200 nükleotitten daha uzun olan ncRNA'lar (lncRNA) (Pauli et al., 2011).

miRNA'ların kanserdeki rolü ilk kez 2002 yılında Calin ve arkadaşları tarafından, kronik lenfositik lösemili hastalarda miR-15 ve miR-16 ifadesinin azaldığını gösteren çalışma ile gündeme gelmiştir (Calin et al., 2002). O zamandan beri, yüzlerce miRNA'nın diğer insan kanserlerinde yeniden düzenlendiği gösterilmiştir. Bu miRNA'ların bazılarının, önemli onkogenlerin ve tümör baskılayıcı genlerin ifadesini düzenlediği ve tümör gelişiminde işlevsel bir rolü olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Slaby et al., 2009).

Örneğin miR-17-92a kümesi, miR-135b, miR-143 ve miR-145, kolorektal neoplazi başlangıcında yer alan Wnt/β-katenin sinyal yolunu düzenler (Motoyama et al., 2009, Nagel et al., 2008, Arndt et al., 2009)

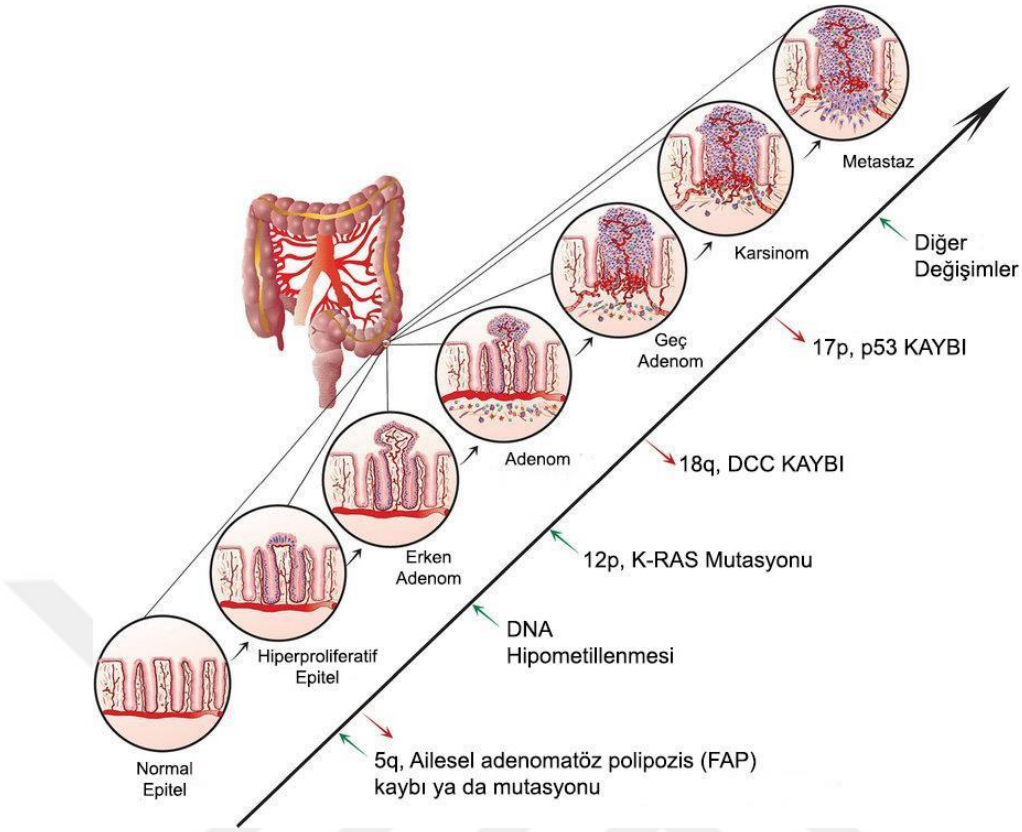
Erken adenomdan ileri adenoma geçişi yönlendirdiği düşünülen RAS-MAPK ve PI3K/AKT basamaklarıyla ilişkili genlerin, özgül miRNA'lar tarafından düzenlendiği bulunmuştur (örneğin miR-143, let-7, miR-21 tarafından RAS-MAPK ve miR-31 ve miR-1, miR-21 ve miR-143 tarafından PI3K/AKT yollarının düzenlendiği bildirilmiştir) (Pagliuca et al., 2013, Johnson et al., 2005, Meng et al., 2007, Xiong et al., 2013, Josse et al., 2014, Sun et al., 2013).

Benzer şekilde, ilerlemiş adenomdan adenokarsinoma evrim sırasında sıklıkla etkinliğini kaybeden bir tümör baskılayıcı protein olan TP53'ün miR-34a/b/c, miR-133a, miR-143 ve miR-145 tarafından kontrol edildiği gösterilmiştir (Pagliuca et al., 2013, Vogt et al., 2011, Tazawa et al., 2007, Dong et al., 2013).

Ayrıca miR-21, miR-155 ve miR-200'in de TGF-ß yolunu düzenlediği bildirilmiştir (Papagiannakopoulos et al., 2008, Liu et al., 2015, Gregory et al., 2011).

2. Genetik Etmenler

Kolorektal kanserlerin meydana gelmesinde rolü olan genetik etmenler; kromozom kararsızlığı, heterozigotluk kaybı, DNA hata onarım sisteminde meydana gelen mutasyonlar, küçük uyduların düzensizlikleri, onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve moleküler yolaklardaki bozulmalardır.



Şekil 2.4: Kolorektal tümör gelişimi sırasında meydana gelen moleküler değişiklikler. (Menter et al., 2019)

Şekil 2.4'te gösterildiği gibi genellikle ilk olarak 5q da bulunan tümör baskılayıcı gen APC nin işlev kaybı gerçekleşir. (Ogino and Goel, 2008). Bunu takip eden *KRAS* mutasyonudur. Kanserin ileri aşamalarında ise TGF-β, PIK3CA, ve TP53 yollarında mutasyonlar gerçekleşir (Fearon and Vogelstein, 1990, Thiagalingam et al., 1996, Samuels and Velculescu, 2004, Baker et al., 1989). Onkogenlerin etkinleşmesi ile meydana gelen stres; genomik kararsızlığa, telomer erimesine ve DNA genelinde azalmış metillenmeye neden olur (Matsui et al., 2013, Roger et al., 2013).

a) DNA Hata Onarım Sistemi Bozuklukları

DNA eşlenmesi yüksek korunumlu bir süreç olup meydana gelebilecek hatalardan korunmak için bir çok mekanizma gelişmiştir. Bunlardan biri hata onarım mekanizmasıdır. DNA hata onarım genlerinde meydana gelen bir işlev kaybı otozomal çekinik olarak aktarılırsa kalıtsal KRK sendromlarından Lynch sendromuna neden olur. Bu sendromda diğer allel; heterozigotluk kaybı, epigenetik susma veya mutasyonlar nedeni ile işlevini kaybedebilir.

DNA üzerinde yüzlerce, binlerce tekrarı olan kısa diziler mevcuttur. Bu dizilere küçük uydular denir (Hsieh and Yamane, 2008, Jasperson et al., 2010). Çeşitli çalışmalarda, KRK'lerin yaklaşık %15'inin hata onarım sistemindeki (MMR) eşey hattı mutasyonları veya bir hata onarım geni olan *MLH1*'in promoter bölgesindeki aşırı metillenme sonucu MSI (mikrosatallit instabilitesi)'ya sahip olduğu bildirilmektedir (Walther et al., 2008). MSI'nın yüksek olduğu kanserlerde; tümör baskılayıcı genlerin ve onkogenlerin dizileri üzerinde, küçük dizi eklemeleri veya silinmeleri ve çerçeve kayması mutasyonları meydana gelerek tümör gelişimi hızlandırılırmış olur (Perucho, 1996). Diğer hata onarım genleri ise MSH2, MSH6 ve PMS2 dir (Boland and Goel, 2010).

DNA hata onarım sisteminde görülen bozukluklar birçok somatik mutasyona da neden olur. Özellikle bağışıklık kontrol noktası almaçlarına (PD1, PD-L1, CTLA-4, LAG-3, IDO) uyumlu antijenlerin üretilmesine neden olurlar (Llosa et al., 2015). Böylece tümör hücrelerine karşı gelişebilecek olası bir bağışıklık yanıtı durdurulabilir.

b) Kromozomal Kararsızlık

Genel olarak adenomlar ile ilişkili olan kromozomal kararsızlık yolu tüm sporadik kanserlerin yaklaşık %65-70 inde görülür (Walther et al., 2009). Kromozomal kararsızlık, kromozomların sayısında veya kromozom bölgelerinin sayısında bir artma veya azalma ile tanımlanır (Lengauer et al., 1998, Rowan et al., 2005). Kolorektal kanserdeki kromozomal kararsızlıkların *APC* geni ve Wnt/β-katenin yolu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Druliner et al., 2018).

Kromozomal kararsızlık; *KRAS* (12p), *CTNNB1* (3p21), *APC* (5q21), *TP53* (17p) gibi genlerde mutasyonların birikmesi ile ortaya çıkar (Sameer et al., 2014).

c) Heterozigotluk Kaybı

Heterozigotluk kaybı (LOH), bir genin iki kopyasından veya alelinden birinin yokluğu anlamına gelir ve kalan alel sıklıkla mutasyondan etkilenmiştir (Armaghany et al., 2012). Dizi bazlı karşılaştırmalı genomik melezleme ve tek nükleotid polimorfizm teknikleri, 1p, 5q, 8p, 17p, 18p, 18q, 20p ve 22q kromozom kollarındaki kayıpları içeren KRK'deki tüm kromozomal kollarda sık sık tekrarlanan birkaç alel kaybını tanımlamıştır. Kromozomal kazanımlar ise kromozom 7'de ve kromozom kolları 1q, 8q, 12q, 13q ve 20q'da tanımlanmıştır (2012a) (Diep et al., 2006, Jasmine et al., 2012, Baudis, 2007).

18q bölgesindeki LOH en yaygın olarak ileri KRK'de gözlenir. Bu bölgede bulunan *SMAD2, SMAD4* gibi tümör baskılayıcı genlerin silinmesini ifade eder (Thiagalingam et al., 1996).

Onkogenler

Proto-onkogenlerde işlevsel mutasyonların gerçekleşmesi, tümör gelişimi için bir başlatıcı görevi görür.

EGFR

Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), ErbB/HER ailesine aittir ve bu aile dört üyeden oluşur: ErbB1 (EGFR/HER1), ErbB2 (Neu/HER2), ErbB3 (HER3) ve ErbB4 (HER4) (Arteaga and Engelman, 2014). EGFR yolunun etkinleşmesi; hücre büyümesini, hayatta kalmasını ve göçünü düzenlemek üzere RAS/RAF/MEK/ERK, PI3K/AKT ve JAK/STAT3 yolları dahil çeşitli hücre içi sinyal yollarını tetikler (Roskoski, 2019). Ailenin diğer bir üyesi olan HER2 membran geçişli glikoprotein reseptörü, doğal tirozin kinaz işlevselliği ile EGFR reseptör grubu içinde sınıflandırılır. Her2 proteini, epitel hücre büyümesini kontrol eden aşağı akış yollarının etkinleştirilmesinden sorumludur (Kavuri et al., 2015).

Metastatik KRK'lerin yaklaşık %5'inde HER2 sayı artışları, kısa varyant kopyaları veya her ikisi vardır (Richman et al., 2016). Kanser hücreleri HER2 yolunu, anti-EGFR tedavilerine karşı bağışıklık kazandıran bir sinyal yolu olarak kullanır. Bu direnç özellikle *RAS* ve *BRAF* mutasyonu bulunduran kanserlerde mevcuttur (Greally et al., 2018).

KRAS-BRAF

RAS protein ailesi üyeleri, GTP hidrolazlarını kodlar. Bu yol etkinleştiğinde, MAPK ve PI3K yolakları dahil olmak üzere uzak mekanizmaların uyarılmasını tetikler (Mendoza et al., 2011).

Ras protein ailesinin bir üyesi olan *KRAS*, kolon kanserinde mutasyona en sık uğrayan gendir. Mutasyona uğramış *KRAS* geni, RAS-RAF-MEK-ERK yolunun sürekli etkinliği ile sonuçlanır (Saeed et al., 2019).

Raf proteinleri, hücresel büyümeye ve çoğalmaya yol açan RAF/MEK/MAPK dizisini uyarmaktan sorumlu olan, RAS'ın hemen aşağı akışında bulunan serin treonin kinazlar ailesine aittir (Roberts and Der, 2007).

Mutant *BRAF*, sporadik KRK'nın yaklaşık %10'unda ve daha yaygın olarak kolonun sağ kısmında gelişen tümörlerde görülür (Yamauchi et al., 2012).

BRAF genini etkinleştiren V600E mutasyonu, klinikte en sık karşılaşılan mutasyondur (Sakamoto et al., 2017).

Tümör Baskılayıcı Genler

APC

APC geni; farklılaşma, hücresel göç, hücre-hücre yapışması, hücre iskelet bütünlüğü ve genomik kararlılık gibi birkaç temel hücresel işlevi kontrol eder (Nelson and Näthke, 2013).

APC geninin yokluğunda, WNT sinyal yolu aracılığıyla hücrede β-katenin birikir (Narayan and Roy, 2003). β-katenin ise T hücre lenfosit arttırıcı faktör ile birlikte *c-Myc* ve *CCND1* gibi merkezi pro-onkogenik hücre dömgüsü kontrol genlerini etkinleştirir (Lepourcelet et al., 2004).

Adenoma-karsinoma modeline göre KRK, *APC* mutasyonu ile başlamaktadır ve KRK'lerin %80-90'ında *APC* geni mutasyona uğramıştır. Bir alleldeki germ hattı mutasyonları ve ardından meydana gelen heterozigotluk kaybı erken yaşta (genellikle 35 yaş altı) KRK'ye neden olan FAP sendromunun temel sebebidir (Brannon et al., 2014).

TP53

TP53 aynı zamanda 'genomun bekçisi' olarak da bilinir ve kolon kanseri dahil çok sayıda kanserde mutasyona uğrar. DNA'daki herhangi bir hasar şeklini tanır, DNA onarımına izin vermek için hücre döngüsünü durdurur veya onarılamaz hasar durumunda apoptoz sürecini başlatabilir. Yayılmacı kolon kanserinin yaklaşık %50'si bu mutasyonu taşır ve genellikle rektum veya distal kolonda büyüyen kanserlerde görülür (Iacopetta, 2003).

PTEN

PTEN genindeki mutasyonlar erken yaştaki (<50) KRK'lerde görülür. PTEN geninde meydana gelen mutasyonlar Cowden sendromuna neden olur. PTEN proteini önemli bir ikinci haberciyi

defosforile ederek PI3K/Akt sinyal yolunu doğrudan durdurur. Böylece hücre döngüsü ilerlemesi durdurulur. Genomik kararsızlıktan kaynaklanan promoter aşırı metillenmesi, MSI ile *PTEN* kaybı arasındaki ilişkiyi açıklayan, *PTEN* geninin susmasının yaygın bir nedenidir (Goel et al., 2004).

PTEN'in mutant olduğu KRK'ler daha çok proksimal ve sağ kolonda görülür. KRK'lerin %9-16'sı *PTEN* mutasyonu bulundurur (Chang et al., 2017).

PTEN'in işlevini kaybettiği tümörlerin aynı zamanda BRAF ve KRAS mutasyonları taşıdığı bilinirken, *TP53* ve *PTEN* mutasyonu aynı anda meydana gelmez (Danielsen et al., 2008, Custodio and Feliu, 2013).

TGFβ

TGFβ, hücre çoğalmasının durdurulmasını ve apoptozun başlamasını düzenleyen bir sinyal molekülüdür. SMAD proteinleri dahil olmak üzere birkaç aşağı akış hedefinin etkinleşmesine yol açan tip1 ve tip2 TGFβ reseptörlerine bağlanarak etkilerine aracılık eder (Iacopetta et al., 1998).

TGFβ'nın negatif bir uyarıcı etkiye sahip olmasına rağmen, mezenkimal moleküler alttipte tümör hücreleri tarafından TGFβ ligandının artmış ifadesi vardır (Fischer et al., 2016).

TGFβ seviyerindeki artış, anjiyogenezin arttırılmasında ve bağışıklık baskılamanın başlamasında patojenik bir role sahiptir. Bu da daha kötü bir prognoza yol açar (Guinney et al., 2015).

2.2. WNT/β-KATENİN YOLAĞI ve KANSER

Yaklaşık 50 yıl önce bilim insanları Drosophila melanogaster'da wingless (wg1) genini keşfettiler. İşlevine dair gerçekleştirilen çalışmalar genetik gelişim kalıplarındaki rolünü ortaya koymuştur (Sharma and Chopra, 1976). Wnt sinyal yolu, gelişim sırasında hücre farklılaşması, hücresel kutupların belirlenmesi ve göç ile ilişkilidir.

Wnt sinyal yolunun ana bileşeni, hücre zarı almaçlarını parakrin ve otokrin şekilde etkinleştiren Wnt proteinleri ailesidir. Hücreler tarafından salgılanan Wnt proteinleri ile Fzd (Frizzled) zar proteinlerinin etkinleşmesi, hücre içi proteinler aracılığıyla hücresel mekanizmaları başlatabilir. Wnt yolu 2 şekilde ilerleyebilir:

β-katenin bağımlı kanonik yol ve diğer iki β- katenin bağımsız kanonik olmayan yol.

Kanonik olmayan Wnt sinyal yolu ise PCP (düzlemsel hücre polaritesi) sinyal yolu ve Ca^{2+} Wnt yoludur (Taciak et al., 2018).

Kanonik Wnt sinyal yolu olarak da adlandırılan Wnt/β-katenin sinyal yolu, çoğalma, farklılaşma, apoptoz, göç, istila ve doku iç dengesi gibi çeşitli fizyolojik süreçlere katılan korunmuş bir sinyal yoludur (Soleas et al., 2020). Yapılan çalışmalar bu sinyal yolundaki bozuklukların, özellikle β-kateninin anormal düzenlenmesinin tümör oluşumları ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Zhang et al., 2018).

β-katenin bozunma karmaşımı içinde bulunan glikojen sentaz kinaz 3β (GSK3β) ve kazein kinaz 1α (CK1α), β-katenin in fosforillenmesini ardından ubikitinlenmesini sağlayarak yıkımına neden olur (Wiese et al., 2018).

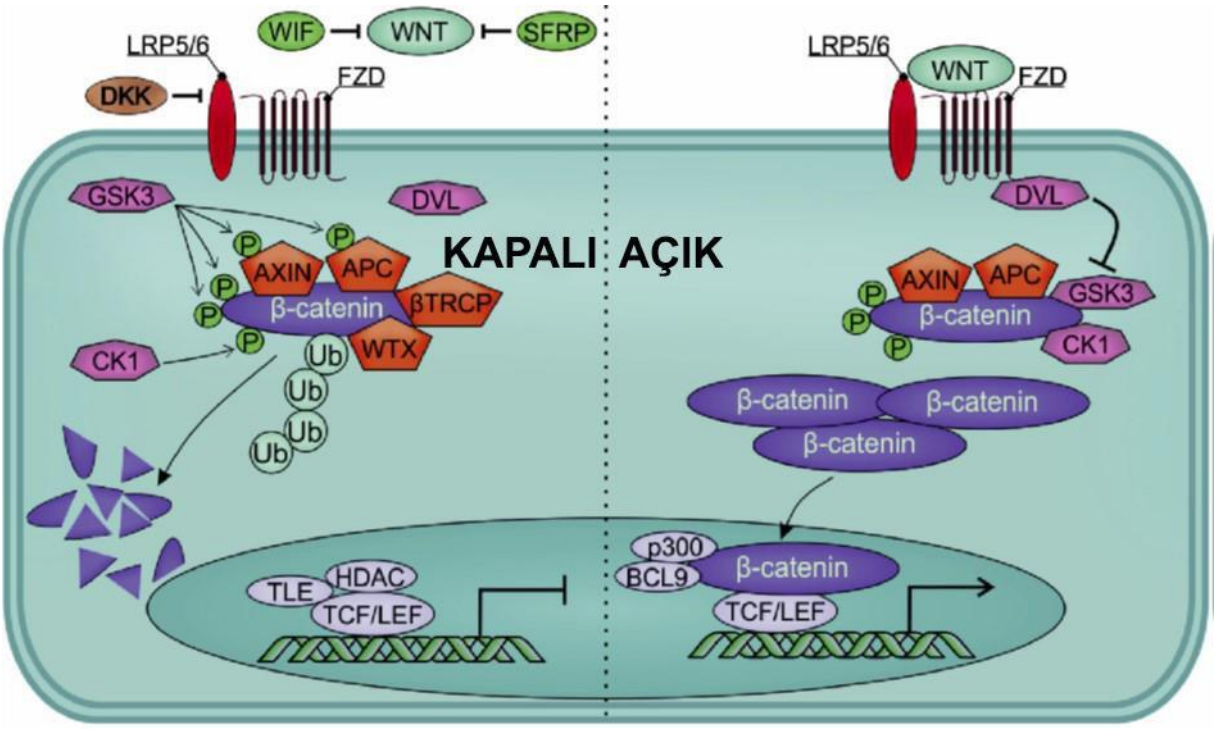
β-katenin bağımlı sinyal yolu, salgılanan sisteinden zengin glikoprotein ligandları olan Wnt proteinlerinin LRP-5/6 ve FZD almaçlarına bağlanmasıyla tetiklenir. Wnt ligandının mevcudiyetinde, Wnt ligandının ve hücre yüzeyindeki reseptörlerin bağlanması, DVL (disheveled)'yi etkinleştirerek karmaşımın (AXIN, GSK3β, CK1, APC) almaçta birikmesine neden olur (Bilic et al., 2007).

Ardından, GSK3β'nın fosforillenir ve etkinliğini kaybeder. Böylece sitoplazmada β-katenin yoğunluğu artar. Sitoplazmada fosforillenmemiş β-katenin çekirdeğe göç eder ve T hücreye özgü faktör (TCF)/lenfoid güçlendirici bağlayıcı faktör (LEF) ve Pygopus ve Bcl-9 gibi eş-uyaranlar ile etkileşime girerek birikir. Sonuç olarak c-Myc, siklin D1 ve CDKN1A gibi hedef genlerin ifadesi artar.

Ek olarak, bozunma kompleksi tarafından β-katenin'in fosforillenmesi ve dağılması üzerinde birçok düzenleyici mekanizma tanımlanmıştır. Palmitoleatı Wnt proteinlerinden uzaklaştıran Notum, Wnt'lerin hücre dışına salgılanmasını bloke eder. Dickkopf (DKK), LRP5/6 reseptörlerine rekabetçi bir şekilde bağlanarak Wnt protein aracılı sinyalleşmenin başlamasını negatif olarak düzenler.

Ayrıca, FZD almaçlarına bağlanabilen FZD ile ilgili proteinler (sFRP'ler), Wnt protein aracılı sinyalleşmenin başlamasını da engeller. WIF (Wnt inhibitör faktör) ise doğrudan Wnt proteinlerine bağlanarak sinyalleşmeyi durdurur (Şekil 2-4) (Jaschke et al., 2020).

Ayrıca, Wnt/β-katenin sinyali, epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), Hippo/YAP, nükleer faktör kappa-B (NF-κB), Notch, Sonic Hedgehog ve PI3K/Akt yolu gibi çoklu hücre sinyalleşme basamaklarını düzenleyerek kanser gelişiminde önemli moleküler mekanizmalara katkıda bulunur (Hu and Li, 2010, Chen et al., 2012, Liu et al., 2020, Tomar et al., 2020, Perry et al., 2020, Krishnamurthy and Kurzrock, 2018).



Şekil 2.5: Wnt/β-katenin yolu kapalı ve açık durumda.

EGFR, β-katenin ile bir karmaşım oluşturabilir ve kanser hücrelerinin yayılmasını ve metastazını destekler (Suzuki et al., 2007, Joosten et al., 2020).

Ayrıca, Hippo yolunun DVL fosforillenmesini, β-kateninin çekirdekte birikimini ve β-katenin/TCF-hedef genlerinin etkinliğini durdurduğu gösterilmiştir (Liu et al., 2020, Imajo et al., 2012).

Wnt/β-katenin yolunun etkinleşmesi, glioblastoma hücrelerinde PI3K/AKT/GSK-3 kaskadı ile etkileşime girerek temozolomide karşı kemorezistans için mekanik temel sağlar (Tomar et al., 2020).

Ek olarak, AKT, β-katenin'i de aktive edebilir. Bu nedenle, Wnt/β-katenin ve PI3K-AKT yolu arasındaki çapraz iletişimin, tümör oluşumunu ve kanser tedavisine direnci desteklediği gösterilmiştir (Perry et al., 2020, Toh et al., 2020).

2.2.1. Kolorektal Kanserde Wnt/β-katenin Yolağının Etkisi

Kript tabanında Wnt/β-katenin yolu etkinliği en yüksek düzeydedir (Farin et al., 2016). Wnt sinyali, bağırsak kriptasında KRK kök hücrelerinin (KKH) kendini yenilemesinde önemli bir rol oynar (ten Berge et al., 2011).

KKH'ler kendi kendini yenileyebilir ve tümörün hücresel kütlesine yol açabilir. β-katenin eş uyaranının CREB bağlayıcı protein mi yoksa p300 mi olduğuna bağlı olarak, Wnt etkinliği KKH'lerin farklılaşmasını veya çoğalmasını destekleyecektir. p300/β-katenin bağlanması, KKH farklılaşmasını sağlarken, CREB-bağlayıcı protein/β-katenin bağlanması, hücrelerin KKH olarak kalmasını sağlar (Kahn, 2011).

Bilinen Wnt/β-katenin sinyal yolunun en az bir üyesi, KRK vakalarının %94'ünden fazlasında mutasyona uğramıştır (2012a). Genellikle bu mutasyonlar β-katenin birikimi ile sonuçlanır ve çekirdekteki yüksek β-katenin seviyeleri, KRK hastalarında kötü prognoz ile ilişkilidir (Dow et al., 2015, Baldus et al., 2004).

Çekirdekteki β-katenin, Wnt/β-katenin sinyalleme hedef genlerinin ifadesini etkinleştirmek için TCF/LEF ile iş birliği yapar. Örneğin, Wnt sinyal yolunda bir hedef gen olarak tanımlanan *c-MYC* onkogeni, KRK'de aşırı ifade edilir ve dolayısıyla KRK'nin gelişiminde potansiyel bir rol oynar (He et al., 1998).

RAS ve β-katenin tarafından siklin D1'in (Wnt sinyal yolunda bir hedef gen) artan ifadesi, KRK gelişiminde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Tetsu and McCormick, 1999).

APC geninde meydana gelen mutasyon KRK için erken bir olaydır ve bu mutasyonların erken evre KRK'de birincil itici güç olduğu düşünülmektedir. APC olmadığında veya düzensiz olduğunda, β-katenin yüksek seviyelerde birikir, çekirdeğe göç eder ve TCF/LEF ile birleşerek DNA'ya bağlanmasına ve ardından KRK gelişimi ile ilişkili genlerin yazılımına yol açar (Markowitz and Bertagnolli, 2009).

Wnt sinyali, EMT (epitel-mezenkimal geçiş) ile ilgili yazılım etmenlerinin ifadesini başlatarak EMT'yi teşvik etmede de önemli bir rol oynar. EMT, KRK'nin metastatik yayılımının yanı sıra kemoterapötik direnç ile de ilişkilidir (Yang et al., 2006).

2.3. YAZILIM ETMENLERİ ve KANSER

DNA eşlenmesi, DNA onarımı, kromozom yoğunlaşması veya DNA çözülmesi ve DNA yazılımı gibi farklı biyolojik süreçlerde 2500 den fazla protein rol almakla birlikte bu proteinlerin yaklaşık 1500'ünün yazılım etmeni olarak işlev gördüğü düşünülmektedir. Yazılım etmenleri, tüm bu genetik işlemlerde yazılımı etkinleştirmek veya durdurmak için kendilerine özgü bölgelere bağlanan proteinlerdir (Badis et al., 2009, Bernstein, 2012). Yazılım etmenleri 71 farklı aileye göre sınıflandırılmıştır ve bunların yüzde 50 si en çok yazılım etmeni barındıran çinko-parmak C2H2 (>600 üye), homeo-kutu (>200 üye) ve helix-kıvrım-helix (HLH) (>80 üye) ailelerinin üyeleridir (Vaquerizas et al., 2009).

Yazılım etmenlerinin hastalıklar ile ilişkisi hakkındaki çalışmalar sürmektedir. 2009 yılında Vaquerizas ve ark. 277 hastalıkta doğrudan rol oynayan 164 yazılım etmeni (~%12) tanımlamıştır. Birçok protein sınıfı gibi bazı yazılım etmenleri de gelişim, hücre yenilenmesi veya farklılaşma süreçlerinde rol alırlar. Bu yüzden yazılım etmenlerinin ifade düzeyinde meydana gelecek bir değişim hücre bütünlüğünü ve dengesini bozarak bir patoloji gelişmesine yol açabilir. Bu patolojik durum nörodejeneratif bir patoloji veya kanser olabilir. Kanserleşme sürecine katkı sağlayan ve onkogen olarak tanımlanan bazı yazılım etmenlerine örnek olarak *NF-κB, TP53, MYC, HIF-1, STATs, GLI1, ERG, RUNX1, FOXO, HOXs ve NRF2* genleri verilebilir (Lambert et al., 2018).

2.3.1. TCEAL Gen Ailesi

Yazılım uzama etmeni A (SII) benzeri TCEAL gen ailesi, ortak TFA (Yazılım uzama etmeni A) alanına sahip olan 9 (TCEAL 1-9) üyeden oluşur. Her bir üye X kromozomunda yerleşik olup, yazılım uzama etmeni işlevi gören proteini kodlar.

TCEAL ve BEX, plasentalı memelilerin X kromozomu üzerinde bir gen kümesi oluşturur. İnsanlarda bu küme, ~ 1.5 Mb'lik bir alana yayılan 5 BEX (beyinde ifade edilen X'e bağlı) ve 9 TCEAL (transkripsiyon uzama faktörü A (SII) benzeri) geninden oluşur. BEX/TCEAL gen kümesi protein dizileri nispeten farklıdır. Bu genler, memelilerde yer değiştirmeler ve gen sayı artışlarından kaynaklanır ve genleri, hücre döngüsü düzenlenmesi, kanser, gelişim ve memeli

merkezi sinir sisteminin işlevinde yer alan mevcut sinyal yolları ile birlikte çalışır (Lukomska et al., 2021).

BEX/TCEAL ailesi genlerinin kümesi, optik sinir hasarından sonra BEX1 ve BEX2'nin sitoplazmada biriktiği retinal ganglion hücrelerinde (RGC'ler) de ifade edilir. Bu gen kümesinin üyelerinden biri olan TCEAL3; RGC (retinal ganglion hücresi)'lerin uyarıları merkezi sinir sitemine ulaştırmasında rol alır. Ayrıca optik sinir yaralanmalarından sonra akson yenilenmesini baskılar (Lukomska et al., 2021).

C2C12 fare miyoblast hücre hattında yapılan bir çalışmada; MRF (miyogenik düzenleyici etmen)'lerin *TCEAL7* gen ifadesini arttırarak, kas dokusu gelişimi sırasında farklılaşmayı teşvik ettiğini destekleyecek şekilde, *TCEAL7* geninin aşırı ifadesinin miyoblastlarda hücre çoğalmasını azaltıp farklılaşmayı arttırdığı bildirilmiştir (Xiong et al., 2022, Shi and Garry, 2010).

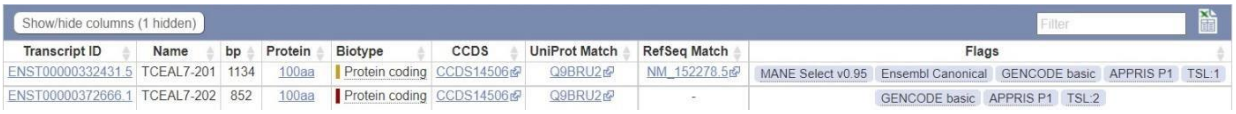
Ailenin üyeleri arasında tümör gelişimi ile ilgili olup tümör baskılayıcı işlev gösterdiği bildirilen genler vardır. Bunlardan *TCEAL1*'in özafagus skuamöz hücreli karsinom ve prostat kanserinde, *TCEAL2*'nin oral kanserde, *TCEAL4*'ün anaplastik tiroid kanserinde ve *TCEAL7*'nin ise ilk olarak over kanserinde azaldığı ve tümör baskılayıcı etkisi olduğu bildirilmiştir (Makino et al., 2005, Sun et al., 2016, Bundela et al., 2014, Akaishi et al., 2006, Chien et al., 2008). Tablo 2-2'de TCEAL gen ailesi üyelerinin diğer adlandırmaları ve X kromozomu üzerindeki yerleri verilmiştir (HGNC).

Tablo 2.2: TCEAL ailesi üyeleri.

Sembol	Adlandırma	Bulunduğu Kromozom
TCEAL1	Yazılım Uzama Etmeni A benzeri 1	Xq22.2
TCEAL2	Yazılım Uzama Etmeni A benzeri 2	Xq22.1
TCEAL3	Yazılım Uzama Etmeni A benzeri 3	Xq22.2
TCEAL4	Yazılım Uzama Etmeni A benzeri 4	Xq22.2
TCEAL5	Yazılım Uzama Etmeni A benzeri 5	Xq22.1
TCEAL6	Yazılım Uzama Etmeni A benzeri 6	Xq22.1
TCEAL7	Yazılım Uzama Etmeni A benzeri 7	Xq22.2
TCEAL8	Yazılım Uzama Etmeni A benzeri 8	Xq22.1
TCEAL9	Yazılım Uzama Etmeni A benzeri 9	Xq22.2

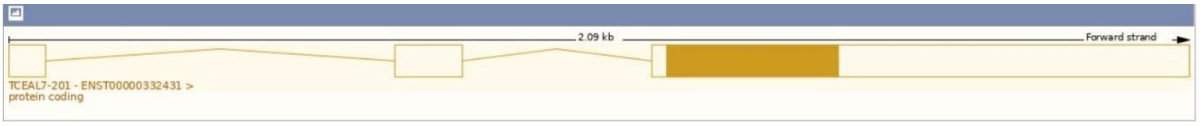
2.3.1.1. TCEAL7 geni ve proteini

TCEAL gen ailesinin bir üyesi olan *TCEAL7* geni Xq22.2 bölgesinde 103,330,229-103,332,326 bazları arasında yerleşik olup 2 mRNA kodlamaktadır. Bunlardan TCEAL7-201 mRNA'sı 1134 baz çifti uzunluğunda ve TCEAL7-202 mRNA'sı 852 baz çifti uzunluğundadır. Her 2 mRNA 100 amino asitlik protein kodlar (Şekil 2.6) (Ensembl).



Şekil 2.6: TCEAL7 geninin kodladığı mRNA'lar.

TCEAL7-201 mRNA'sı 3 ekzon ve 2 introndan oluşur (Şekil 2.7). Protein kodlayan 3. ekzon 1134 baz çifti uzunluğundadır (Ensembl).

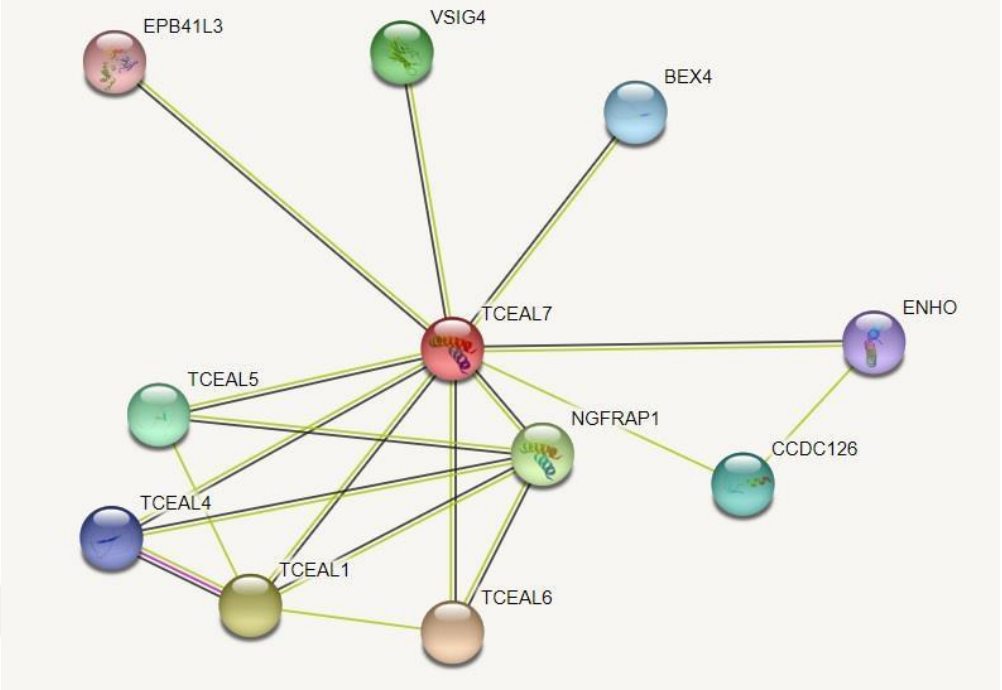


Şekil 2.7: TCEAL7-201 ekzon ve intron bölgeleri

TCEAL7 geni, yazılımsal klonlama yöntemiyle X kromozomunda bulunan bir yazılım düzenleme etmeni olarak tanımlanmıştır. Hücre ölümü düzenleyici bir protein kodlayan *TCEAL7* geni; *BEX* (brain-expressed), *TCEAL1* ve *TCEAL6* ile dizi benzerliğine sahiptir (Chien et al., 2005, Brown and Kay, 1999).

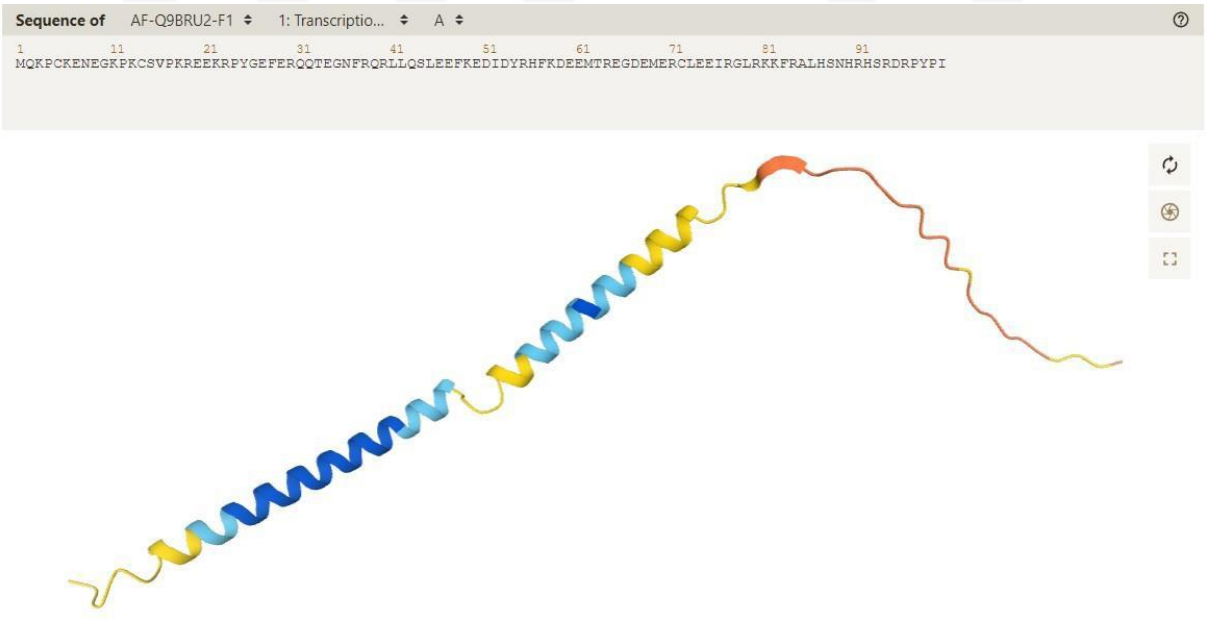
Yumurtalık kanserinde yapılan bir çalışmaya göre *TCEAL7* geninin ifadesi hücre hattında azaltıldığında; hücre çoğalmasını uyaran, enflamatuar ve apoptoz baskılayıcı genlerin ifadesindeki artış, *TCEAL7* geninin işlevini NF-κB yolu üzerinden gerçekleştirdiğini ortaya koymuştur (Rattan et al., 2010). Ayrıca *TCEAL7* geni ve *MYC* arasında doğrudan bir etkileşim saptanmasa da; TCEAL7'nin E-kutularına rekabetçi olarak bağlanması MYC etkinliğini durdurur ve bu durum siklin D1 ifadesinin de baskılanmasına yol açar (Chien et al., 2008, Lafferty-Whyte et al., 2010). Glioblastoma hücrelerinde yapılan bir çalışmaya göre artan TCEAL7 ifadesi β-kateninin çekirdeğe göçünü engellemiştir. Yani *TCEAL7* geni Wnt/β-katenin sinyali için bir düzenleyici olabilir (Yue et al., 2019).

TCEAL7 geninin TCEAL7-201 mRNA'sı 12,3 kDA ağırlığında ve 100 amino asit uzunluğunda bir protein kodlar (Genecards). Proteinlerin birbiri ile ilişkilerini gösteren STRING veritabanına göre TCEAL7'nin Şekil 2.8'de gösterilen genler ile ilişkisi dizi benzerliğine dayanmaktadır (STRING).



Şekil 2.8: TCEAL7 ile ilişkili olabilecek genler.

AlphaFold protein veritabanına göre TCEAL7 proteininin 3 boyutlu yapısı ve amino ait dizisi Şekil 2.9'da verilmiştir (Database).



Şekil 2.9: TCEAL7 proteini 3 boyutlu yapısı.

Literatürde tümör baskılayıcı bir yazılım etmeni olarak tanımlanan *TCEAL7* geninin birçok kanserde ifadesinin azaldığı rapor edilmiş olsa da kolorektal kanserde Wnt/β-katenin yolu ile ilişkilendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında *TCEAL7* geninin kolorektal kanser gelişmesindeki rolü, Wnt/β-katenin yolağı üzerinden araştırılmıştır.

3. YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Materyal

Tez çalışmasında kullanılan Caco2 ve HCT116 kolon kanser hücre soyu ile CCD-841 kolon normal hücre soyunun büyütülmesi ve çoğaltılması İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Hücre Kültürü Laboratuvarında ve sonraki deneysel aşamalar İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Moleküler Genetik Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Toplanan hücreler kısa süreli olarak -80 ^{0}C'de ve uzun süreli olarak azot tankında muhafaza edilmiştir.

3.1.2. Kimyasal Maddeler

β-Merkapto-etanol (Applichem,ABD)

Dimetil Sülfoksit (Thermo Fisher Scientific,Almanya)

Dulbecco's Modified Eagle Medium + Ham's F12 (DMEM/F12) (Thermo Fisher Scientific,Almanya)

Etanol (Merck,Almanya)

Fetal Sığır Serum (FBS) (Thermo Fisher Scientific,Almanya)

Fosfat Tamponlu Salin (PBS) (Santa Cruz,ABD)

Hidrokortizon (Sigma,Almanya)

MTT (Thermo Fisher Scientific,Almanya)

Sığır Albümini (BSA) (Santa Cruz,ABD)

3.1.3. Cihazlar

Çalışma esnasında kullanılan cihazlar listelenmiştir;

-20 0C Derin Dondurucu (İndesit-Türkiye)

-80 ^{0}C Derin Dondurucu (Sanyo-Japonya)

Azot Tankı

CO2'li İnkübatör Cihazı (HeraCell-Almanya)

Işık Mikroskopu

Laminar Akış Kabini (ESCO-Almanya)

LightCycler 480-II Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Tepkimesi Cihazı (Roshe-İsviçre)

Nanodrop Spektrofotometre (Thermofisher Scientific-ABD)

Otoklav cihazı (Hirayama-Japonya)

Otomatik Pipetler (Gilson-ABD)

Rocker-300 Vakum Pompası (Rocker-Tayvan)

Santrifüj (Hettich-Almanya)

Termal Döngü Cihazı (Roche)

Vorteks (Velp Scientifica-ABD)

3.1.4. Hücre Kültüründe Kullanılan Besiyerleri

%10 DMEM/F12: 450 ml bazal medyum içine 50 ml (10X) FBS, 5 ml penisilin-streptomisin ve 180 µl hidrokortizon eklenerek 500 ml besiyeri hazırlandı. Besiyeri 0,22 µm çapa sahip vakumlu filtreden geçirilerek sterilize edildi. Besiyeri daha sonra kullanılmak üzere +4 ^{0}C'ye kaldırıldı.

Antibiyotiksiz Besiyeri: 45 ml DMEM/F12 içerisine 5ml FBS ve 18 µl hidrokortizon eklendi. 0,22 çaplı filtreden geçirildi ve +4 ^{0}C'ye kaldırıldı.

2X Antibiyotikli Besiyeri: 40 ml DMEM/F12 içine 10 ml FBS koyuldu. 1 ml penisilin-streptomisin ve 36 µl hidrokortizon eklendi. Besiyeri 0,22 µm'lik filtreden geçirilerek +4 ^{0}C'ye kaldırıldı.

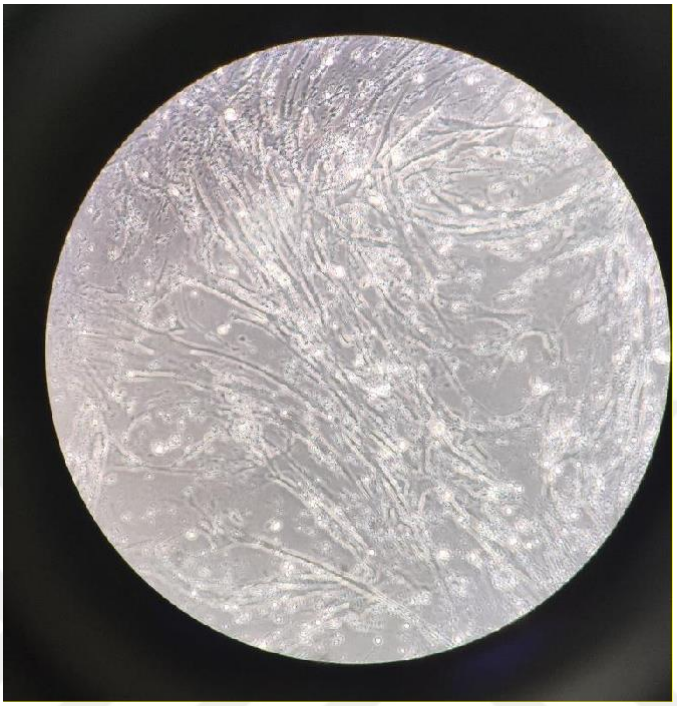
Kaplama Medyumu: 2 ml bazal medyum içine 100 µl kolajen tip2 ve 0,4 µl BSA eklenir. Kaplama medyumu flaska alınarak yüzeyin her kısmına yayılması sağlanır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Hücre Kültürü

Hücre kültürü, uygun koşulların sağlandığı yapay bir ortamda hücrelerin yaşaması ve çoğalmasının sağlanarak deneysel çalışmaların gerçekleştirildiği bir yöntemdir. Hücre kültürü

deneylerinde kolon normal hücre hattı CCD-841 (Şekil 3.1) ve kolon kanser hücre hatları Caco2 (Şekil 3.2) ile HCT116; %95 nem, 37 ^{0}C ve %5 CO_2 içeren inkübatör içinde büyütülüp çoğaltıldı.



Şekil 3.1: CCD-841 kolon sağlıklı hücre hattı.



Şekil 3.2: Caco2 kolon kanser hücre hattı.

3.2.1.1. Hücre soylarının ekimi

Çalışma öncesinde laminar akışlı kabin, UV lamba açılarak sterilize edilmiştir. Kabin içi çalışma alanı ve pipetler önce %1'lik çamaşır suyu ile ardından da %70'lik etanol ile silinmiştir.

Hücreler azot tankından alınarak 37 ^{0}C su banyosunda çözdürülmüştür.

Bir önceki gün kaplama yapılmış olan flasklar içinden kaplama medyumu uzaklaştırılarak flask içine 9 ml %10 DMEM/F12 besiyeri eklenmiştir.

Kriyotüp içinde bulunan hücreler, 6ml besiyeri eklenmiş olan santrifüj tüpüne alınarak 1000 rpm'de 7 dakika santrifüj edilmiştir.

Süpernant kısım uzaklaştırılmış ve dibe çöken hücreler 1 ml besiyerinde iyice çözdürülüp, flaska alınmıştır.

Hücrelerin bulunduğu flask 37 ^{0}C, %5 CO_2 ve %95 nem koşullarını sağlayan inkübatörde büyümeye bırakılmıştır. Hücrelerin 2 günde 1 kere besiyeri değiştirilmiştir.

Besiyeri değişimi için +4 ^{0}C'de saklanan %10 DMEM/F12 su banyosu kullanılarak 37 ^{0}C'ye ısıtılmıştır. Flasktan eski besiyeri uzaklaştırılarak 10 ml yeni besiyeri eklenmiştir.

Hücreler %70-80 yoğunluğa ulaştığında sayımı yapılarak pasajlanmıştır.

3.2.1.2. Hücrelerin pasajlanması

Hücrelerin flasktaki yoğunluğu %70-80'e ulaştığında, flaskta bulunan besiyeri uzaklaştırıldı ve flasktaki kalıntıların uzaklaşması için Ca^{+2} ve Mg^{+2} içermeyen PBS ile yıkama işlemi gerçekleştirildi.

Flask içine 3ml 0,25M tripsin-Edta eklenerek 3 dakika 37 ^{0}C inkübatörde bekletildi.

Tripsin etkisinin ortadan kalkması için aynı miktarda (1:1) besiyeri eklendi.

Hücrelere yıkama yapılarak 15 ml santrifüj tüpüne alındı. 1000 rpm'de 7 dk santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırılarak pellet 1 ml besiyeri içinde pipetaj yapılarak çözdürüldü.

Hücrelerin thoma lamıyla sayımı yapıldı. Her bir kriyotüpe 10^6 /ml olacak şekilde %95 besiyeri ve %5 DMSO içeren kriyotüp içine alındı.

500.000 kadar hücre kaplama yapılmış yeni flaska alınır.

3.2.1.3. Hücrelerin sayımı

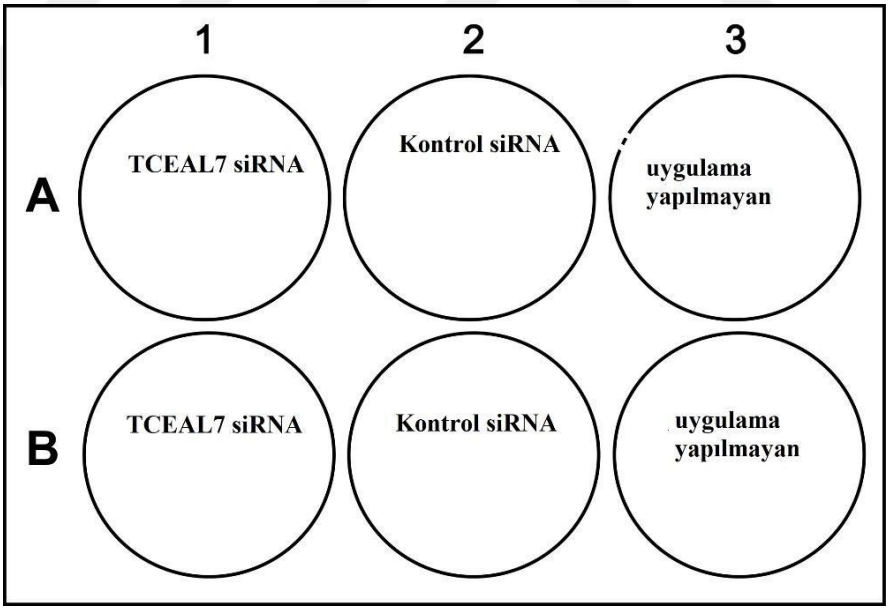
Hücrelerin flasktan toplanması ve santrifüj edilerek yeniden 1 ml besiyeri içinde çözünmesi sağlandıktan sonra 10 µl hücre çözeltisi üzerine 10 µl tripan blue eklenir. Bu karışım thoma lamı üzerine koyuldu ve 16 büyük kare içine denk gelen hücreler sayılır.

$$\text{1 ml de bulunan hücre sayısı} = \frac{\text{Hücre sayısı} X 10^4}{2} \times 1000$$

3.2.2. *TCEAL7* Geninin siRNA ile Susturulması

TCEAL7 Stealth RNAi siRNA (Thermo Fisher Scientific, HSS148301, HSS183564, HSS183565) deiyonize suda çözdürülerek 100 µM derişime getirildi ve -20 ^{0}C'de muhafaza edildi.

Hücreler öncesinde kaplaması yapılmış 6'lı plate içine (Şekil 3.3) 15x10^4 hücre olacak şekilde ekildi. Plate kuyularındaki hücreler %60-80 yoğunluğa ulaştığında, toplam 30pmol TCEAL7 siRNA ve 25 pmol kontrol sirna ile transfekte edildi. siRNA uygulaması sırasında kullanılan solüsyon içerikleri Tablo 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.3: Örnek bir siRNA deney planı.

Tablo 3.1: siRNA deneyi solüsyonlarının hazırlanması.

	TCEAL7 siRNA		Kontrol siRNA	
Karışım	Solüsyon A	Solüsyon B	Solüsyon A	Solüsyon B
Opti-mem	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
TCEAL7 siRNA (3 adet)	1 + 1 + 1 µl			
Lipofektamin		3 µl		2,5 µ
Kontrol siRNA			2,5 µl	

Solüsyon A, solüsyon B üzerine eklenerek; TCEAL7 siRNA 10 dakika ve kontrol siRNA 5 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.

Inkübasyon sonrası karışımlar 800 µl opti-mem eklenerek son hacmi 1 ml'ye getirildi.

6'lı plate içinde bulunan hücrelerin besiyeri uzaklaştırıldı. Yerine hazırlanan siRNA karışımları eklendi. Plate, 37 ^{0}C ve %5 $C0_2$ içeren inkübatörde 6 saat bekledikten sonra; her bir kuyuya 1 ml 2X antibiyotikli besiyeri eklenerek transfeksiyon durduruldu.

Bu işlemi takip eden 18. Saatte hücreler toplanarak RNA izolasyonu yapıldı.

3.2.3. Hücrelerden RNA Eldesi

Kanser hücrelerinden ve normal hücre hattından, ayrıca siRNA uygulanan normal hücrelerden PureLink^{TM} RNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, ABD) aracılığıyla RNA elde edildi.

Kit talimatlarına uygun olacak şekilde;

Hücre lizatı üzerine 500 µl parçalama tamponu ve 5 µl β-merkaptoetanol eklenerek homojenizasyon sağlandı.

Parçalanan hücreler filtreli tüpe aktarılarak yıkama tomponları ile yıkamaları yapıldı.

Son aşamada filtre üzerine RNAaz içermeyen elüsyon tamponu eklenerek 5 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. 12.000 g'de 2 dk santrifüj ardından, filtrenin altında toplanan RNA örneği -80 ^{0}C'ye kaldırıldı.

Elde edilen RNA'ların yoğunluk ve saflık ölçümleri nanodrop spektrofotometre (Thermo fisher Scientific, ABD) tarafından gerçekleştirildi.

3.2.4. cDNA Sentezi

RNA örnekleri miktarları 200 ng olacak şekilde eşitlendi. High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific, ABD) aracılığıyla cDNA sentezi gerçekleştirildi. Deney esnasında kullanılan malzemeler Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2: cDNA sentezinde kullanılan bileşenler.

Bileşenler	**Hacim**
10X Tepkime Tamponu	2 µl
25X (10mM) dNTP	0,8 µl
10X Rastgele Primer	2 µl
Ters Transkriptaz Enzimi	1 µl
dH20	4,2 µl
RNA + dH2O (200 ng)	10 µl
Toplam Hacim 20 µl	

Karışım ısı döngü cihazına koyularak;

25 ^{0}C ➔ 10 dk

37 ^{0}C ➔ 120 dk

85 ^{0}C ➔ 5 dk

4 ^{0}C ➔ ∞ inkübe edildi.

3.2.5. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Tepkimesi

siRNA uygulaması öncesinde ve sonrasında toplanan hücrelerden elde edilen RNA'ların cDNA çevrimi ardından; ifadesini araştırdığımız genlerin mRNA düzeyleri LightCycler 480-II Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Tepkimesi Cihazı (Roche-İsviçre) cihazı kullanılarak çalışıldı.

Her bir mRNA düzeyi için referans gen olarak G6PD seçildi. Deneysel çalışma SYBR Green Master Mix (Roche-İsviçre) kullanılarak gerçekleştirildi. mRNA düzeyleri araştırılan genlerin primer dizileri Tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.3: Çalışmada kullanılan primer dizileri.

		Primer Dizisi (5'→3')
TCEAL7	İleri Primer	AAGGGAAGGAAGAGCTGGTTGAT
	Geri Primer	AGATGTCTGTGAACACAGATCCT
CTNNB1	İleri Primer	ATGCCTTCCATCAGTCGGATACA
	Geri Primer	ACTCTGCTTGTGGTCCACAGTA
C-MYC	İleri Primer	GCTGCTTAGACGCTGGATTT
	Geri Primer	TAACGTTGAGGGGGGCATCG
CCND1	İleri Primer	CATGGTGCTGAGATTTGCCAAC
	Geri Primer	TCAACACCTTGACCTTCTCATCAC
G6PD	İleri Primer	ATGCCTTCCATCAGTCGGATACA
	Geri Primer	ATAGCCCACGATGAAGGTGTTTTC

SYBR Green kullanılarak yapılan GZ-PZT bileşenleri Tablo 3.4'te listelenmiştir.

Tablo 3.4: GZ-PZT protokolü.

Bileşenler	**Hacim**
SYBR Green	7,5 µl
İleri primer	1 µl
Geri primer	1 µl
dH2O	2,5 µl
cDNA	3 µl
	Toplam 15 µl

cDNA çift zincirin ayrılması ➔ 95 0C, 15 dk (1 döngü)

Çoğalma ➔ 95 ^{0}C, Bozunma, 15 sn (1 döngü)

60 ^{0}C, Bağlanma, 30 sn (45 döngü)

72 ^{0}C, Uzama

3.2.6. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Gerçek zamanlı-PZT den elde edilen Ct değerleri Light Cycler Sofware'den faydalanarak analiz edildi. Kolon hücre hattında çalışılan *TCEAL7, CTNNB1, C-MYC* ve *CCND1* ifadeleri *G6PD* referans gen ile kıyaslanarak $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleri (Schmittgen and Livak, 2008) hesaplandı.

$$2^{-\Delta\Delta Ct} = 2^{-[\text{Tümör (Hedef Gen Ct} - \text{Kontrol Gen Ct)} - \text{Normal (Hedef Gen Ct-Kontrol Gen Ct)}]}$$

Verilerin istatistiksel hesaplamaları IBM SPSS Statistics 21 yazılımı ile yapıldı.

Veriler öncelikle, Shapiro- Wilk normalite testine sokuldu. Bu teste göre sonuç $p>0,05$ ise verilerin normal dağıldığı, $p<0,05$ ise normal dağılmadığı kabul edilerek istatistiksel testler yapıldı. Normal dağılım gösteren verilere Paired Sample T-Test ve Pearson Correlation testleri; normal dağılım göstermeyen verilere ise Wilcoxon testi ve Spearman Correlation testi uygulanır.

Tüm verilerin normal dağılım gösterdiği anlaşıldığı için istatistiksel analizler Paired Sample T-Test kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

TCEAL7 geninin kolorektal kanser gelişimindeki etkisini Wnt/β-katenin yolu ile ilişkili olarak araştırmak amacıyla Caco2 ve HCT116 kolon kanseri hücre hatlarında *TCEAL7, c-MYC, CCND1 ve CTNNB1* genlerinin mRNA ifade düzeyleri ve CCD841 normal kolon hücre hattında, *TCEAL7* geninin siRNA ile susturulması sonrası *c-MYC, CCND1* ve *CTNNB1* genlerinin mRNA ifade düzeyleri araştırılmıştır.

4.1. GERÇEK ZAMANLI POLİMERAZ ZİNCİR TEPKİMESİ SONUÇLARI

Kolon kanseri hücre hatlarında normal kolon hücre hattı ile kıyaslanarak yapılan gerçek zamanlı polimeraz zincir tepkimesi sonuçlarına göre; Caco2 (p=0,024) ve HCT116 (p=0,05) hücre hatlarında TCEAL7 gen ifadesinin hiç olmadığı görülmüştür.

Caco2 kolon kanseri hücre hattında CCND1 ifadesi anlamlı olarak azalırken (p=0,016); c-MYC gen ifadesi anlamlı olarak artmış (p=0,003) ve CTNNB1 ifadesi de 2,23 kat artmıştır (p=0,072) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: *TCEAL7, CCND1, CTNNB1* ve *c-MYC* genlerinin Caco2 kanser ve CCD-841 normal hücre hattındaki ortalama (±SS) değerleri

Genler	**Hücre Hatları**	**Hedef Ct Ortalama ± SS**	**Referans Ct Ortalama± SS**	**ΔCt Ortalama ± SS**	**ΔΔCt**	**$2^{-\Delta\Delta Ct}$**	***p**
TCEAL7	**Caco2**	41,64±2,57	24,6±1,27	17,04±1,32	8,67	0	0,024
	CCD-841	29,37±0,59	21±0,81	8,37±1,06	0	1	
CCND1	**Caco2**	21,89±0,41	23,25±0,55	-1,36±0,51	0,32	0,8	0,016
	CCD-841	19,44±0,33	21,12±0,28	-1,68±0,42	0	1	
CTNNB1	**Caco2**	28,31±2,33	23,75±1,43	4,56±0,99	-1,16	2,23	0,072
	CCD-841	27,4±1,54	21,69±1,33	5,71±0,7	0	1	
c-MYC	**Caco2**	24,2±1,42	25,34±1,58	-1,14±0,26	-3,9	14,89	0,003
	CCD-841	25,3±1,34	22,54±1,74	2,76±0,56	0	1	

SS: Standart Sapma

*İstatistiksel değerlendirme Paired Sample t-Test kullanılarak yapılmıştır.

HCT116 kolon kanseri hücre hattında normal hücre ile kıyaslanarak yapılan ifade çalışmalarında c-MYC geninin ifadesindeki artışın yüksek düzeyde anlamlı (p=0,007) olduğu; β-katenin ifadesinin 3,64 kat arttığı (p=0,06) ve CCND1 ifadesinin ise Caco2 hücre hattında da gözlendiği gibi azaldığı (p=0,373) bulunmuştur (Tablo 4.2).

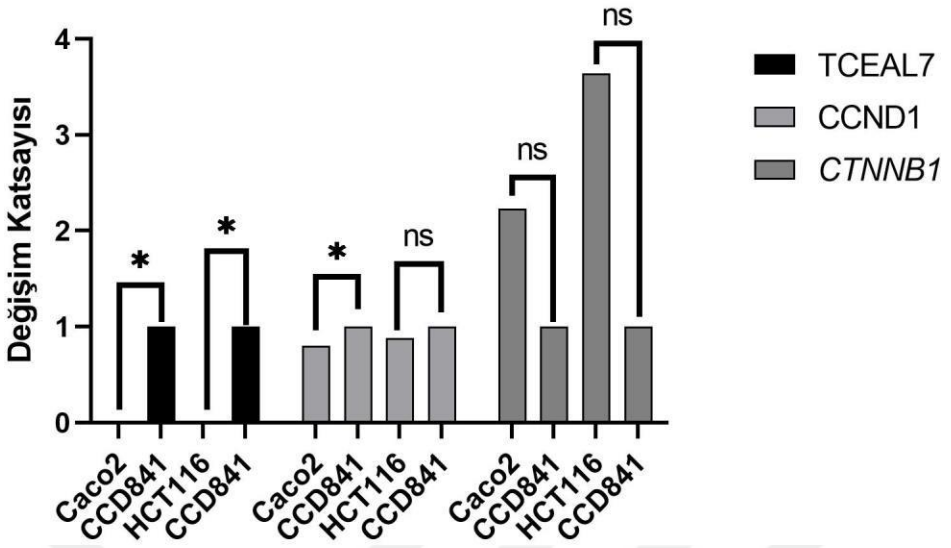
Tablo 4.2: *TCEAL7, CCND1, CTNNB1* ve *c-MYC* genlerinin HCT116 kanser ve CCD-841 normal hücre hattındaki ortalama (±SS) değerleri.

Genler	**Hücre Hattı**	**Hedef Ct** **Ortalama ± SD**	**Referans Ct** **Ortalama ± SD**	**ΔCt** **Ortalama± SD**	**ΔΔCt**	**$2^{-\Delta\Delta Ct}$**	***p**
TCEAL7	**HCT116**	40,34±0,02	23,25±1,27	17,9±1,19	12,05	0	0,05
	CCD-841	29,37±0,59	24,34±6,12	5,04±5,65	0	1	
CCND1	**HCT116**	20,89±0,38	22,38±0,17	-1,49±0,48	0,19	0,88	0,373
	CCD-841	19,44±0,33	21,12±0,28	-1,68±0,42	0	1	
CTNNB1	**HCT116**	26,96±2,82	23,12±1,59	3,85±1,74	-1,87	3,64	0,06
	CCD-841	27,4±1,54	21,69±1,33	5,71±0,7	0	1	
c-MYC	**HCT116**	22,67±1,36	24,09±1,5	-1,42±0,14	-4,24	18,85	0,007
	CCD-841	25,3±1,34	22,48±1,78	2,81±0,64	0	1	

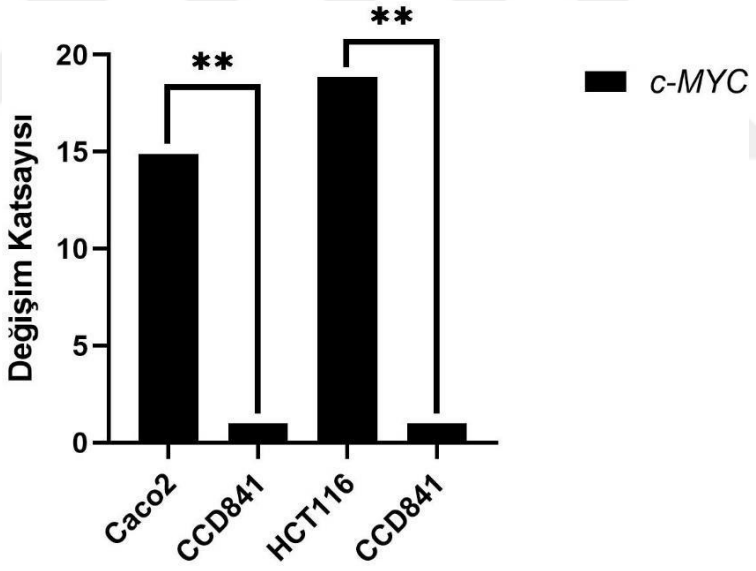
SS: Standart Sapma

*İstatistiksel değerlendirme Paired Sample t-Test kullanılarak yapılmıştır.

Caco2 ve HCT116 hücre hatlarında; *TCEAL7, CCND1, CTNNB1* ve *c-MYC* gen ifadelerinde gözlenen değişim katsayısı Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.1: *TCEAL7, CCND1* ve *CTNNB1* genlerinin normal CCD-841 hücrelerine kıyasla kanser hücre hatlarında değişim katsayıları.



Şekil 4.2: *c-MYC* geninin normal CCD-841 hücrelerine kıyasla kanser hücre hatlarında değişim katsayıları

CCD-841 kolon normal hücre hattında TCEAL7 gen ifadesi siRNA aracılığı ile susturularak (%74 susma), kontrol sirna uygulanan CCD-841 hücreleriyle kıyaslandığında, kolon kanser hücre hatlarından elde edilen sonuçlarla uyumlu olacak şekilde; CCND1 gen ifadesinin azaldığı (p=0,367), β-katenin (p=0,105) ve c-MYC (p=0,091) ifadesinin ise sırasıyla 1,41 kat ve 1,75 kat arttığı görülmüştür (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: *TCEAL7, CCND1, CTNNB1* ve *c-MYC* Genlerinin *TCEAL7* sirna susturması sonrası ortalama (SS) ifade değerleri.

Genler	**Hücre Hattı**	**Hedef Ct Ortalama ± SD**	**Referans Ct Ortalama ± SD**	**ΔCt Ortalama ± SD**	**ΔΔCt**	**$2^{-\Delta\Delta Ct}$**	***p**
TCEAL7	**CCD-841 (+TCEAL7 siRNA)**	33,61±2,82	22,55±2,03	11,06±0,81	1,95	0,26	0,008
	CCD-841 (+Kontrol siRNA)	32,01±2,97	22,9±2,28	9,11±0,69	0	1	
CCND1	**CCD-841 (+TCEAL7 siRNA)**	19,13±0,18	21,43±0,45	-2,29±0,46	0,2	0,87	0,367
	CCD-841 (+Kontrol siRNA)	18,83±0,24	21,33±0,24	-2,5±0,47	0	1	
CTNNB1	**CCD-841 (+TCEAL7 siRNA)**	26,97±0,91	21,43±0,45	5,54±0,81	-0,5	1,41	0,105
	CCD-841 (+Kontrol siRNA)	27,37±1,77	21,33±0,24	6,04±1,88	0	1	
c-MYC	**CCD-841 (+TCEAL7 siRNA)**	24,82±0,05	21,63±0,35	3,19±0,38	-0,81	1,75	0,091
	CCD-841 (+Kontrol siRNA)	25,5±0,07	21,5±0,16	4±0,11	0	1	

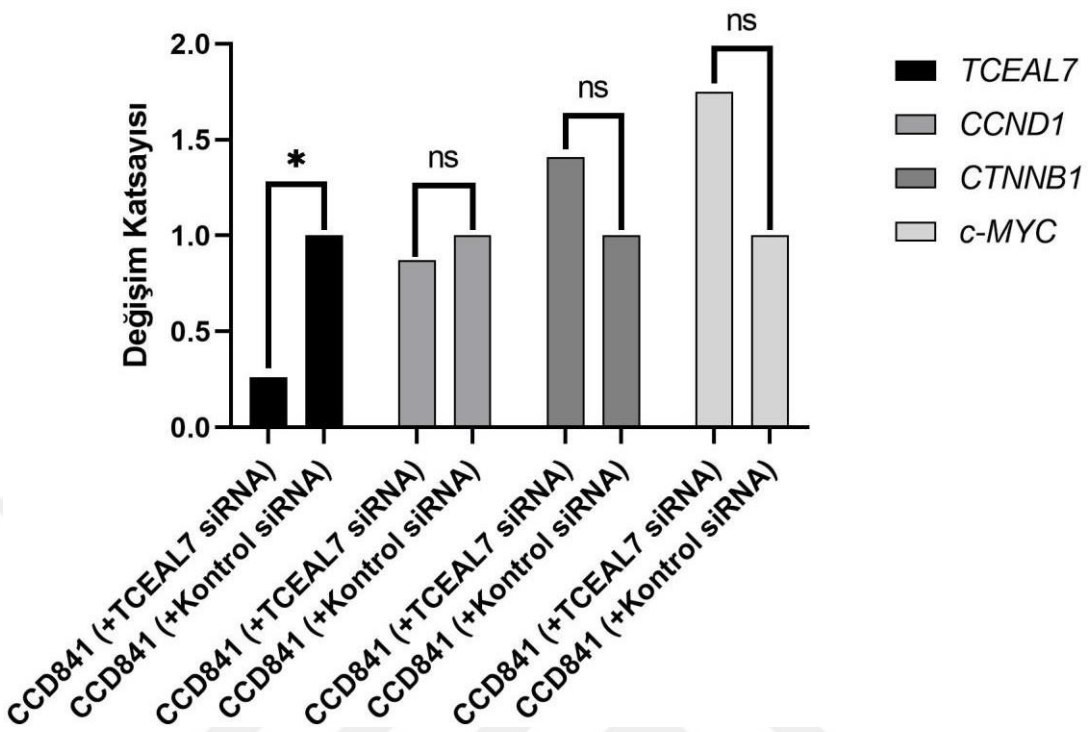
SS: Standart Sapma

*İstatistiksel değerlendirme Paired Sample t-Test kullanılarak yapılmıştır.

CCD-841 (+TCEAL7 siRNA): TCEAL7 siRNA Uygulanmış Normal Kolon Hücre Hattı

CCD-841 (+Kontrol siRNA): Kontrol siRNA Uygulanmış Normal Kolon Hücre Hattı

TCEAL7 siRNA uygulaması sonrası, kontrol siRNA uygulanan hücrelere kıyasla; *TCEAL7, CCND1, CTNNB1* ve *c-MYC* gen ifadelerinde gözlenen değişim katsayısı Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3: TCEAL7 siRNA sonrasında *TCEAL7*, *CCND1*, *CTNNB1* ve *c-MYC* gen ifadelerinin değişim katsayısı.

CCD-841 (+TCEAL7 siRNA): TCEAL7 siRNA Uygulanmış Normal Kolon Hücre Hattı

CCD-841 (+Kontrol siRNA): Kontrol siRNA Uygulanmış Normal Kolon Hücre Hattı

5. TARTIŞMA

Tüm dünyada görülme sıklığı bakımından 3. Sırada olan kolorektal kanser; kanser nedeniyle hayatını kaybedenlerin %9,4'ünden sorumludur (Sung et al., 2021). Sağlıklı kolon epitel yüzeyinde kript mimarisi düzenlidir (Shih et al., 2001) ve kanserleşmenin başlaması ile meydana gelen anormal kriptler öncelikle bir neoplastik lezyon (polip) gelişimine neden olur (Stracci et al., 2014). Normalde bu poliplerin az bir kısmı yıllar içerisinde kansere dönüşürken; polipleri oluşturan hücrelerde mutasyon olması ve zamanla gerçekleşen epigenetik değişimler ile çevresel etmenler bu süreci hızlandırmaktadır.

Kolorektal kanser; genetik ve epigenetik değişimlerin birikimi, tümör baskılayıcı genlerin etkinliğini yitirmesi, onkogenlerin etkinleşmesi ve çevresel etmenlere bağlı olarak meydana gelen bir hastalıktır (Stracci et al., 2014, Medema, 2013).

Yazılım uzama etmeni A (SII) benzeri TCEAL gen ailesi, ortak TFA (Yazılım Uzama Etmeni A) alanına sahip 9 (TCEAL1-9) üyeden oluşur ve her bir üye yazılım uzama etmeni olarak işlev gören proteinleri kodlar. Bu aile üyelerinden *TCEAL1*'in özafagus skuamöz hücreli karsinomda, *TCEAL2*'nin ağız kanserinde, *TCEAL4*'ün anaplastik tiroid kanserinde ifadelerinin azaldığı bildirilmiştir (Makino et al., 2005, Bundela et al., 2014, Akaishi et al., 2006).

TCEAL7 geni, tümör baskılayıcı bir işleve sahiptir ve etkinliğini NF-κβ yolu üzerinden gösterir. *TCEAL7* geninin ifadesinin azalması ile birlikte hücre çoğalması, yeni damar oluşumu, enflamatuar yanıtların başlaması ve apoptoz baskılayıcı genlerin ifadelerinde artış meydana gelir (Rattan et al., 2010). Literatürde, *TCEAL7* geninin rahim kanseri, mide kanseri (Guo et al., 2013, Huang et al., 2013), küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (Orhan et al., 2019), melanoma ve meme kanserinde (Yan et al., 2021) ifadesinin azaldığı bildirilmiştir.

Laboratuvarımızda gerçekleştirilen bir tez çalışması kapsamında, kolorektal kanserli hastaların dokularında yapılan *TCEAL7* geni ifade çalışmasına göre; *TCEAL7* mRNA düzeyi kolorektal kanserli hastalarda anlamlı bir azalma göstermiştir (Darbuka, 2018).

Wnt/β-katenin yolu hücrede; çoğalma, farklılaşma, apoptoz, hücre göçü gibi süreçlere katılır (Zhang et al., 2018). Wnt/β-katenin yolunun en az bir üyesi kolorektal kanser vakalarının %94'ünden fazlasında mutasyona uğramıştır (2012a). Bu mutasyonlar genellikle β-katenin'in

çekirdekte birikmesi ile sonuçlanır ve böylece *c-MYC* ile *CCND1* gibi Wnt/β-katenin yolunun hedef genlerinin ifadesini arttırır. (He et al., 1998, Tetsu and McCormick, 1999). *TCEAL7* geni hakkında yapılan çalışmalar Wnt/β-katenin ile *TCEAL7* geninin bir ilişkisi olabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışmamız kapsamında *TCEAL7* geninin kolorektal kanser gelişimi üzerindeki işlevinin aydınlatılması amacıyla; kanserli ve sağlıklı kolon hücre soylarında *TCEAL7* geni Wnt/β-katenin yolu ile ilişkili olarak araştırılmıştır. Sağlıklı kolon hücre hattında *TCEAL7* geninin siRNA ile susturulması sonrası Wnt/β-katenin yolunun genleri olan *CTNNB1, CCND1* ve *c-MYC* genlerinin mRNA düzeyleri araştırılmıştır.

Hücre hatlarında yapmış olduğumuz çalışmaların sonucu *TCEAL7*'nin tümör baskılayıcı bir işleve sahip olduğunu destekler niteliktedir. Her iki kolon kanseri hücre hattında (Caco2 ve HCT116) *TCEAL7*'nin hiç ifade edilmediğini saptadık.

Glioma hücrelerinde yapılan bir çalışmaya göre TCEAL7, β-katenin'e bağlanarak çekirdeğe göç etmesini engellemektedir (Yue et al., 2019). Buna göre *TCEAL7* gen ifadesindeki azalmanın Wnt/β-katenin yolunun etkinliğini arttırması beklenmektedir.

Yaptığımız çalışma sonucunda, kanser hücre soylarında *CTNNB1* mRNA düzeyinin artmış olduğunu gördük. Normal hücre hattında *TCEAL7* geninin siRNA aracılığıyla susturulması sonrasında da *CTNNB1* mRNA düzeyinin 1,41 kat arttığını bulduk.

Hücre döngüsünün G1 aşamasından S aşamasına geçişinde görev alan *CCND1* geninin; küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (Chien et al., 2008, Orhan et al., 2019), baş-boyun skuamöz hücreli karsinom (Baltaci et al., 2018), mesane (Veltman et al., 2003), meme (Bartkova et al., 1994) ve kolorektal kanserde (Kristt et al., 2000) arttığı bildirilmiştir. *TCEAL7*'nin *CCND1*'in promoterında bulunan *MYC* E-kutusuna bağlanarak, *CCND1*'i yazılımsal olarak baskıladığı bildirilmiştir (Chien et al., 2008).

Kanser hücre hatları ile normal hücre hattını kıyaslayarak yaptığımız çalışma sonucunda *CCND1* mRNA düzeyinin her iki kolon kanseri hücre hattında azalmış olduğu ve *TCEAL7* siRNA uygulanmış hücre hattında da *CCND1* mRNA ifadesinin yaklaşık oranlarda azalmış olduğunu gördük. Bu sonuç bize *TCEAL7*'nin kolorektal kanserde *CCND1* üzerinde bir etkisi olmadığını göstermektedir.

c-MYC geni; hücre döngüsünün düzenlenmesi, anjiyogenez, hücresel farklılaşma, neoplazi esnasında hücre yapışması gibi görevlere sahiptir. Telomeraz enziminin işlevsel alt birimi c-

MYC tarafından etkinleştirildiği için kanser hücrelerinin ölümsüzleşmesinde rol alır. *TCEAL7* geni ile *c-MYC* geni arasında doğrudan bir etkileşim tespit edilmemiştir. Ancak *TCEAL7*'nin E-kutulara rekabetçi olarak bağlanması, *c-MYC*'in etkinliğini durdurur (Lafferty-Whyte et al., 2010).

Yaptığımız çalışma sonucunda, *c-MYC* mRNA düzeyinin kolon kanseri hücre soylarında normal hücrelere kıyasla yüksek düzeyde arttığı görülmüştür. Normal hücre hattında yapılan siRNA uygulaması ile *TCEAL7* geninin susturulması sonrası *c-MYC* mRNA düzeyinin 1,75 kat arttığını bulduk.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kolon kanseri hücre hatları ile yaptığımız bu çalışma; tümör baskılayıcı bir yazılım etmeni olan *TCEAL7* geninin Wnt/β-katenin yoluna ait *CCND1* mRNA düzeyini etkilemediğini ancak *CTNNB1* ve *c-MYC* üzerinde bir etkisinin olduğunu göstermektedir. TCEAL7 geni ve Wnt/β-katenin yolu birbiri ile ilişkili görünmektedir.

TCEAL7 ile Wnt/β-katenin yolu arasındaki ilişkinin aydınlatılabilmesi için ileri düzeyde çalışmaların yapılması gerekmektedir. Sonuçlarımız Caco2 ve HCT116 hücre soylarında *TCEAL7* ifadesinin hiç olmadığını göstermektedir. Kanser hücrelerindeki *TCEAL7* mRNA'sının yok olmasının arkasında kanserleşme sürecinde gerçekleşen genetik bir değişikliğin mi, ya da bir epigenetik yol aracılığı ile mi olduğunun araştırılması gerekmektedir. *TCEAL7* geninin promoter metillenme seviyeleri araştırılarak; kolorektal kanser gelişiminde etkili olduğundan sıkça bahsedilen metillenme düzeyinde değişiklikler bakımından bir araştırma planlanabilir. Bunun yanısıra; tümörleşme sürecinde ifadesi artmış olan bir miRNA, *TCEAL7* mRNA'sını hedefleyerek henüz proteine çevirim aşamasına geçemeden durduruyor olabilir. Ayrıca, tümörleşme sürecinde etkinleşen bir sinyal yolunun *TCEAL7* geninin yazılımını durdurması araştırılabilir.

Biz çalışmamızda *TCEAL7* geninin susturulması sonrası *CTNNB1* ve *MYC* ifade düzeylerinin arttığını bulduk. Ancak bu artışın ardında yatan mekanizmaların aydınlatılabilmesi için ileri protein düzeyinde çalışmaların yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Colorectal Cancer Stages [Online]. Available: https://www.cancer.org/cancer/colon-rectal-cancer/detection-diagnosis-staging/staged.html [Accessed 03.03.2022].

WHO International Ageny for Research on Cancer [Online]. Available: https://gco.iarc.fr/ [Accessed 03.03.2022].

2012a. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature,* 487**,** 330-7.

2012b. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature,* 489**,** 57-74.

ABDULAMIR, A. S., HAFIDH, R. R. & BAKAR, F. A. 2010. Molecular detection, quantification, and isolation of Streptococcus gallolyticus bacteria colonizing colorectal tumors: inflammation-driven potential of carcinogenesis via IL-1, COX-2, and IL-8. *Mol Cancer,* 9**,** 249.

AKAISHI, J., ONDA, M., OKAMOTO, J., MIYAMOTO, S., NAGAHAMA, M., ITO, K., YOSHIDA, A. & SHIMIZU, K. 2006. Down-regulation of transcription elogation factor A (SII) like 4 (TCEAL4) in anaplastic thyroid cancer. *BMC Cancer,* 6**,** 260.

AL-TASSAN, N., CHMIEL, N. H., MAYNARD, J., FLEMING, N., LIVINGSTON, A. L., WILLIAMS, G. T., HODGES, A. K., DAVIES, D. R., DAVID, S. S., SAMPSON, J. R. & CHEADLE, J. P. 2002. Inherited variants of MYH associated with somatic G:C-->T:A mutations in colorectal tumors. *Nat Genet,* 30**,** 227-32.

AMIN, M. B., GREENE, F. L., EDGE, S. B., COMPTON, C. C., GERSHENWALD, J. E., BROOKLAND, R. K., MEYER, L., GRESS, D. M., BYRD, D. R. & WINCHESTER, D. P. 2017. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin,* 67**,** 93-99.

ARMAGHANY, T., WILSON, J. D., CHU, Q. & MILLS, G. 2012. Genetic alterations in colorectal cancer. *Gastrointest Cancer Res,* 5**,** 19-27.

ARNDT, G. M., DOSSEY, L., CULLEN, L. M., LAI, A., DRUKER, R., EISBACHER, M., ZHANG, C., TRAN, N., FAN, H., RETZLAFF, K., BITTNER, A. & RAPONI, M. 2009. Characterization of global microRNA expression reveals oncogenic potential of miR-145 in metastatic colorectal cancer. *BMC Cancer,* 9**,** 374.

ARTEAGA, C. L. & ENGELMAN, J. A. 2014. ERBB receptors: from oncogene discovery to basic science to mechanism-based cancer therapeutics. *Cancer Cell,* 25**,** 282-303.

AUDIA, J. E. & CAMPBELL, R. M. 2016. Histone Modifications and Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol,* 8**,** a019521.

BADIS, G., BERGER, M. F., PHILIPPAKIS, A. A., TALUKDER, S., GEHRKE, A. R., JAEGER, S. A., CHAN, E. T., METZLER, G., VEDENKO, A., CHEN, X., KUZNETSOV, H., WANG, C. F., COBURN, D., NEWBURGER, D. E., MORRIS, Q., HUGHES, T. R. & BULYK, M. L. 2009. Diversity and complexity in DNA recognition by transcription factors. *Science,* 324**,** 1720-3.

BAKER, S. J., FEARON, E. R., NIGRO, J. M., HAMILTON, S. R., PREISINGER, A. C., JESSUP, J. M., VANTUINEN, P., LEDBETTER, D. H., BARKER, D. F., NAKAMURA, Y., WHITE, R. & VOGELSTEIN, B. 1989. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science,* 244**,** 217-21.

BALDUS, S. E., MÖNIG, S. P., HUXEL, S., LANDSBERG, S., HANISCH, F. G., ENGELMANN, K., SCHNEIDER, P. M., THIELE, J., HÖLSCHER, A. H. & DIENES, H. P. 2004. MUC1 and nuclear beta-catenin are coexpressed at the invasion front of colorectal carcinomas and are both correlated with tumor prognosis. *Clin Cancer Res,* 10**,** 2790-6.

BALTACI, E., KARAMAN, E., DALAY, N. & BUYRU, N. 2018. Analysıs of gene copy number changes ın head and neck cancer. *Clin Otolaryngol,* 43**,** 1004-1009.

BARTKOVA, J., LUKAS, J., MÜLLER, H., LÜTZHØFT, D., STRAUSS, M. & BARTEK, J. 1994. Cyclin D1 protein expression and function in human breast cancer. *Int J Cancer,* 57**,** 353-61.

BAUDIS, M. 2007. Genomic imbalances in 5918 malignant epithelial tumors: an explorative meta-analysis of chromosomal CGH data. *BMC Cancer,* 7**,** 226.

BELLIZZI, A. M. & FRANKEL, W. L. 2009. Colorectal cancer due to deficiency in DNA mismatch repair function: a review. *Adv Anat Pathol,* 16**,** 405-17.

BERNSTEIN, D. A. 2012. Identification of small molecules that disrupt SSB-protein interactions using a high-throughput screen. *Methods Mol Biol,* 922**,** 183-91.

BETTSTETTER, M., DECHANT, S., RUEMMELE, P., GRABOWSKI, M., KELLER, G., HOLINSKI-FEDER, E., HARTMANN, A., HOFSTAEDTER, F. & DIETMAIER, W. 2007. Distinction of hereditary nonpolyposis colorectal cancer and sporadic microsatellite-unstable colorectal cancer through quantification of MLH1 methylation by real-time PCR. *Clin Cancer Res,* 13**,** 3221-8.

BIAN, J., DANNAPPEL, M., WAN, C. & FIRESTEIN, R. 2020. Transcriptional Regulation of Wnt/β-Catenin Pathway in Colorectal Cancer. *Cells,* 9.

BILIC, J., HUANG, Y. L., DAVIDSON, G., ZIMMERMANN, T., CRUCIAT, C. M., BIENZ, M. & NIEHRS, C. 2007. Wnt induces LRP6 signalosomes and promotes dishevelled-dependent LRP6 phosphorylation. *Science,* 316**,** 1619-22.

BOLAND, C. R. & GOEL, A. 2010. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology,* 138**,** 2073-2087.e3.

BRANNON, A. R., VAKIANI, E., SYLVESTER, B. E., SCOTT, S. N., MCDERMOTT, G., SHAH, R. H., KANIA, K., VIALE, A., OSCHWALD, D. M., VACIC, V., EMDE, A. K., CERCEK, A., YAEGER, R., KEMENY, N. E., SALTZ, L. B., SHIA, J., D'ANGELICA, M. I., WEISER, M. R., SOLIT, D. B. & BERGER, M. F. 2014. Comparative sequencing analysis reveals high genomic concordance between matched primary and metastatic colorectal cancer lesions. *Genome Biol,* 15**,** 454.

BRENNER, H., CHANG-CLAUDE, J., SEILER, C. M., RICKERT, A. & HOFFMEISTER, M. 2011. Protection from colorectal cancer after colonoscopy: a population-based, case-control study. *Ann Intern Med,* 154**,** 22-30.

BROSENS, L. A., WOOD, L. D., OFFERHAUS, G. J., ARNOLD, C. A., LAM-HIMLIN, D., GIARDIELLO, F. M. & MONTGOMERY, E. A. 2016. Pathology and Genetics of Syndromic Gastric Polyps. *Int J Surg Pathol,* 24**,** 185-99.

BROWN, A. L. & KAY, G. F. 1999. Bex1, a gene with increased expression in parthenogenetic embryos, is a member of a novel gene family on the mouse X chromosome. *Hum Mol Genet,* 8**,** 611-9.

BUNDELA, S., SHARMA, A. & BISEN, P. S. 2014. Potential therapeutic targets for oral cancer: ADM, TP53, EGFR, LYN, CTLA4, SKIL, CTGF, CD70. *PLoS One,* 9**,** e102610.

CALIN, G. A., DUMITRU, C. D., SHIMIZU, M., BICHI, R., ZUPO, S., NOCH, E., ALDLER, H., RATTAN, S., KEATING, M., RAI, K., RASSENTI, L., KIPPS, T., NEGRINI, M., BULLRICH, F. & CROCE, C. M. 2002. Frequent deletions and down-regulation of

micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 99**,** 15524-9.

CARVALHO, L. S., GONÇALVES, N., FONSECA, N. A. & MOREIRA, J. N. 2021. Cancer Stem Cells and Nucleolin as Drivers of Carcinogenesis. *Pharmaceuticals (Basel),* 14.

CHANG, C. C., LIN, P. C., LIN, C. C., LAN, Y. T., LIN, H. H., LIN, C. H., YANG, S. H., LIANG, W. Y., CHEN, W. S., JIANG, J. K., LIN, J. K. & CHANG, S. C. 2017. Molecular and Clinicopathological Differences by Age at the Diagnosis of Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci,* 18.

CHEN, L., QIN, F., DENG, X., AVRUCH, J. & ZHOU, D. 2012. Hippo pathway in intestinal homeostasis and tumorigenesis. *Protein Cell,* 3**,** 305-10.

CHI, P., ALLIS, C. D. & WANG, G. G. 2010. Covalent histone modifications--miswritten, misinterpreted and mis-erased in human cancers. *Nat Rev Cancer,* 10**,** 457-69.

CHIEN, J., NARITA, K., RATTAN, R., GIRI, S., SHRIDHAR, R., STAUB, J., BELEFORD, D., LAI, J., ROBERTS, L. R., MOLINA, J., KAUFMANN, S. H., PRENDERGAST, G. C. & SHRIDHAR, V. 2008. A role for candidate tumor-suppressor gene TCEAL7 in the regulation of c-Myc activity, cyclin D1 levels and cellular transformation. *Oncogene,* 27**,** 7223-34.

CHIEN, J., STAUB, J., AVULA, R., ZHANG, H., LIU, W., HARTMANN, L. C., KAUFMANN, S. H., SMITH, D. I. & SHRIDHAR, V. 2005. Epigenetic silencing of TCEAL7 (Bex4) in ovarian cancer. *Oncogene,* 24**,** 5089-100.

CONTEDUCA, V., SANSONNO, D., RUSSI, S. & DAMMACCO, F. 2013. Precancerous colorectal lesions (Review). *Int J Oncol,* 43**,** 973-84.

COPPEDÈ, F., LOPOMO, A., SPISNI, R. & MIGLIORE, L. 2014. Genetic and epigenetic biomarkers for diagnosis, prognosis and treatment of colorectal cancer. *World J Gastroenterol,* 20**,** 943-56.

CREE, I. A. 2011. Cancer biology. *Methods Mol Biol,* 731**,** 1-11.

CUSTODIO, A. & FELIU, J. 2013. Prognostic and predictive biomarkers for epidermal growth factor receptor-targeted therapy in colorectal cancer: beyond KRAS mutations. *Crit Rev Oncol Hematol,* 85**,** 45-81.

CUYLE, P. J. & PRENEN, H. 2017. Current and future biomarkers in the treatment of colorectal cancer. *Acta Clin Belg,* 72**,** 103-115.

DANIELSEN, S. A., LIND, G. E., BJØRNSLETT, M., MELING, G. I., ROGNUM, T. O., HEIM, S. & LOTHE, R. A. 2008. Novel mutations of the suppressor gene PTEN in colorectal carcinomas stratified by microsatellite instability- and TP53 mutation- status. *Hum Mutat,* 29**,** E252-62.

DARBUKA, E. 2018. *Kolorektal Kanserli Hastalarda TCEAL7 Geninin Araştırılması.* Istanbul University.

DATABASE, A. P. S. *Transcription elongation factor A protein-like 7* [Online]. Available: https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/Q9BRU2 [Accessed].

DEKKER, E., TANIS, P. J., VLEUGELS, J. L. A., KASI, P. M. & WALLACE, M. B. 2019. Colorectal cancer. *Lancet,* 394**,** 1467-1480.

DIEP, C. B., KLEIVI, K., RIBEIRO, F. R., TEIXEIRA, M. R., LINDGJAERDE, O. C. & LOTHE, R. A. 2006. The order of genetic events associated with colorectal cancer progression inferred from meta-analysis of copy number changes. *Genes Chromosomes Cancer,* 45**,** 31-41.

DONG, Y., ZHAO, J., WU, C. W., ZHANG, L., LIU, X., KANG, W., LEUNG, W. W., ZHANG, N., CHAN, F. K., SUNG, J. J., NG, S. S. & YU, J. 2013. Tumor suppressor functions of miR-133a in colorectal cancer. *Mol Cancer Res,* 11**,** 1051-60.

DOW, L. E., O'ROURKE, K. P., SIMON, J., TSCHAHARGANEH, D. F., VAN ES, J. H., CLEVERS, H. & LOWE, S. W. 2015. Apc Restoration Promotes Cellular Differentiation and Reestablishes Crypt Homeostasis in Colorectal Cancer. *Cell,* 161**,** 1539-1552.

DRULINER, B. R., RUAN, X., SICOTTE, H., O'BRIEN, D., LIU, H., KOCHER, J. A. & BOARDMAN, L. 2018. Early genetic aberrations in patients with sporadic colorectal cancer. *Mol Carcinog,* 57**,** 114-124.

DUCASSE, M. & BROWN, M. A. 2006. Epigenetic aberrations and cancer. *Mol Cancer,* 5**,** 60.

EAST, J. E., VIETH, M. & REX, D. K. 2015. Serrated lesions in colorectal cancer screening: detection, resection, pathology and surveillance. *Gut,* 64**,** 991-1000.

EDELSTEIN, D. L., CRUZ-CORREA, M., SOTO-SALGADO, M., AXILBUND, J. E., HYLIND, L. M., ROMANS, K., BLAIR, C., WILEY, E., TERSMETTE, A. C., OFFERHAUS, J. A. & GIARDIELLO, F. M. 2015. Risk of Colorectal and Other Cancers in Patients With Serrated Polyposis. *Clin Gastroenterol Hepatol,* 13**,** 1697-9.

ENG, C. & JI, H. 1998. Molecular classification of the inherited hamartoma polyposis syndromes: clearing the muddied waters. *Am J Hum Genet,* 62**,** 1020-2.

ENSEMBL. *Gene: TCEAL7* [Online]. Available: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000182916;r=X:103330229-103332326 [Accessed].

ENSEMBL. *Transcript: ENST00000332431.5 TCEAL7-201* [Online]. Available: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000182916;r=X:103330196-103332326;t=ENST00000332431 [Accessed].

ERDOGAN, A. & LEE, Y. Y. 2020. Chapter 8 - Colon and pelvic floor anatomy and physiology. *In:* RAO, S. S. C., LEE, Y. Y. & GHOSHAL, U. C. (eds.) *Clinical and Basic Neurogastroenterology and Motility*. Academic Press.

FARIN, H. F., JORDENS, I., MOSA, M. H., BASAK, O., KORVING, J., TAURIELLO, D. V., DE PUNDER, K., ANGERS, S., PETERS, P. J., MAURICE, M. M. & CLEVERS, H. 2016. Visualization of a short-range Wnt gradient in the intestinal stem-cell niche. *Nature,* 530**,** 340-3.

FEARON, E. R. & VOGELSTEIN, B. 1990. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell,* 61**,** 759-67.

FIJTEN, G. H., STARMANS, R., MURIS, J. W., SCHOUTEN, H. J., BLIJHAM, G. H. & KNOTTNERUS, J. A. 1995. Predictive value of signs and symptoms for colorectal cancer in patients with rectal bleeding in general practice. *Fam Pract,* 12**,** 279-86.

FISCHER, J. M., CALABRESE, P. P., MILLER, A. J., MUÑOZ, N. M., GRADY, W. M., SHIBATA, D. & LISKAY, R. M. 2016. Single cell lineage tracing reveals a role for TgfβR2 in intestinal stem cell dynamics and differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 113**,** 12192-12197.

FLEMING, M., RAVULA, S., TATISHCHEV, S. F. & WANG, H. L. 2012. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *J Gastrointest Oncol,* 3**,** 153-73.

FRANK, S. A. 2007. *In:* FRANK, S. A. (ed.) *Dynamics of Cancer: Incidence, Inheritance, and Evolution.* Princeton (NJ): Princeton University Press

Copyright © 2007, Steven A Frank.

GENECARDS. *TCEAL7 Gene - Transcription Elongation Factor A Like 7* [Online]. Available: https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TCEAL7 [Accessed].

GOEL, A., ARNOLD, C. N., NIEDZWIECKI, D., CARETHERS, J. M., DOWELL, J. M., WASSERMAN, L., COMPTON, C., MAYER, R. J., BERTAGNOLLI, M. M. &

BOLAND, C. R. 2004. Frequent inactivation of PTEN by promoter hypermethylation in microsatellite instability-high sporadic colorectal cancers. *Cancer Res,* 64**,** 3014-21.

GOEL, A. & BOLAND, C. R. 2012. Epigenetics of colorectal cancer. *Gastroenterology,* 143**,** 1442-1460.e1.

GOEL, A., XICOLA, R. M., NGUYEN, T. P., DOYLE, B. J., SOHN, V. R., BANDIPALLIAM, P., ROZEK, L. S., REYES, J., CORDERO, C., BALAGUER, F., CASTELLS, A., JOVER, R., ANDREU, M., SYNGAL, S., BOLAND, C. R. & LLOR, X. 2010. Aberrant DNA methylation in hereditary nonpolyposis colorectal cancer without mismatch repair deficiency. *Gastroenterology,* 138**,** 1854-62.

GRADY, W. M. & PRITCHARD, C. C. 2014. Molecular alterations and biomarkers in colorectal cancer. *Toxicol Pathol,* 42**,** 124-39.

GREALLY, M., KELLY, C. M. & CERCEK, A. 2018. HER2: An emerging target in colorectal cancer. *Curr Probl Cancer,* 42**,** 560-571.

GREER, E. L. & SHI, Y. 2012. Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance. *Nat Rev Genet,* 13**,** 343-57.

GREGORY, P. A., BRACKEN, C. P., SMITH, E., BERT, A. G., WRIGHT, J. A., ROSLAN, S., MORRIS, M., WYATT, L., FARSHID, G., LIM, Y. Y., LINDEMAN, G. J., SHANNON, M. F., DREW, P. A., KHEW-GOODALL, Y. & GOODALL, G. J. 2011. An autocrine TGF-beta/ZEB/miR-200 signaling network regulates establishment and maintenance of epithelial-mesenchymal transition. *Mol Biol Cell,* 22**,** 1686-98.

GUINNEY, J., DIENSTMANN, R., WANG, X., DE REYNIÈS, A., SCHLICKER, A., SONESON, C., MARISA, L., ROEPMAN, P., NYAMUNDANDA, G., ANGELINO, P., BOT, B. M., MORRIS, J. S., SIMON, I. M., GERSTER, S., FESSLER, E., DE SOUSA, E. M. F., MISSIAGLIA, E., RAMAY, H., BARRAS, D., HOMICSKO, K., MARU, D., MANYAM, G. C., BROOM, B., BOIGE, V., PEREZ-VILLAMIL, B., LADERAS, T., SALAZAR, R., GRAY, J. W., HANAHAN, D., TABERNERO, J., BERNARDS, R., FRIEND, S. H., LAURENT-PUIG, P., MEDEMA, J. P., SADANANDAM, A., WESSELS, L., DELORENZI, M., KOPETZ, S., VERMEULEN, L. & TEJPAR, S. 2015. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med,* 21**,** 1350-6.

GUO, Y., LIAO, Y., JIA, C., REN, J., WANG, J. & LI, T. 2013. MicroRNA-182 promotes tumor cell growth by targeting transcription elongation factor A-like 7 in endometrial carcinoma. *Cell Physiol Biochem,* 32**,** 581-90.

HANAHAN, D. & WEINBERG, R. A. 2000. The hallmarks of cancer. *Cell,* 100**,** 57-70.

HANIGAN, C. L., VAN ENGELAND, M., DE BRUINE, A. P., WOUTERS, K. A., WEIJENBERG, M. P., ESHLEMAN, J. R. & HERMAN, J. G. 2008. An inactivating mutation in HDAC2 leads to dysregulation of apoptosis mediated by APAF1. *Gastroenterology,* 135**,** 1654-1664.e2.

HE, T. C., SPARKS, A. B., RAGO, C., HERMEKING, H., ZAWEL, L., DA COSTA, L. T., MORIN, P. J., VOGELSTEIN, B. & KINZLER, K. W. 1998. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science,* 281**,** 1509-12.

HEINEN, C. D., SCHMUTTE, C. & FISHEL, R. 2002. DNA repair and tumorigenesis: lessons from hereditary cancer syndromes. *Cancer Biol Ther,* 1**,** 477-85.

HENRIKSON, N. B., WEBBER, E. M., GODDARD, K. A., SCROL, A., PIPER, M., WILLIAMS, M. S., ZALLEN, D. T., CALONGE, N., GANIATS, T. G., JANSSENS, A. C., ZAUBER, A., LANSDORP-VOGELAAR, I., VAN BALLEGOOIJEN, M. & WHITLOCK, E. P. 2015. Family history and the natural history of colorectal cancer: systematic review. *Genet Med,* 17**,** 702-12.

HGNC. *Gene group: Transcription elongation factor A like family (TCEAL)* [Online]. Available: https://www.genenames.org/data/genegroup/#!/group/1216 [Accessed].

HOWE, J. R., MITROS, F. A. & SUMMERS, R. W. 1998. The risk of gastrointestinal carcinoma in familial juvenile polyposis. *Ann Surg Oncol,* 5**,** 751-6.

HSIEH, P. & YAMANE, K. 2008. DNA mismatch repair: molecular mechanism, cancer, and ageing. *Mech Ageing Dev,* 129**,** 391-407.

HU, T. & LI, C. 2010. Convergence between Wnt-β-catenin and EGFR signaling in cancer. *Mol Cancer,* 9**,** 236.

HUANG, C. Y., CHEN, Y. M., ZHAO, J. J., CHEN, Y. B., JIANG, S. S., YAN, S. M., ZHAO, B. W., PAN, K., WANG, D. D., LV, L., LI, Y. F., WANG, W., ZHOU, Z. W. & XIA, J. C. 2013. Decreased expression of transcription elongation factor A-like 7 is associated with gastric adenocarcinoma prognosis. *PLoS One,* 8**,** e54671.

HUANG, T., LIN, C., ZHONG, L. L., ZHAO, L., ZHANG, G., LU, A., WU, J. & BIAN, Z. 2017. Targeting histone methylation for colorectal cancer. *Therap Adv Gastroenterol,* 10**,** 114-131.

HUMPHRIES, A. & WRIGHT, N. A. 2008. Colonic crypt organization and tumorigenesis. *Nat Rev Cancer,* 8**,** 415-24.

HUR, K., CEJAS, P., FELIU, J., MORENO-RUBIO, J., BURGOS, E., BOLAND, C. R. & GOEL, A. 2014. Hypomethylation of long interspersed nuclear element-1 (LINE-1) leads to activation of proto-oncogenes in human colorectal cancer metastasis. *Gut,* 63**,** 635-46.

IACOPETTA, B. 2003. TP53 mutation in colorectal cancer. *Hum Mutat,* 21**,** 271-6.

IACOPETTA, B. J., WELCH, J., SOONG, R., HOUSE, A. K., ZHOU, X. P. & HAMELIN, R. 1998. Mutation of the transforming growth factor-beta type II receptor gene in right-sided colorectal cancer: relationship to clinicopathological features and genetic alterations. *J Pathol,* 184**,** 390-5.

IMAJO, M., MIYATAKE, K., IIMURA, A., MIYAMOTO, A. & NISHIDA, E. 2012. A molecular mechanism that links Hippo signalling to the inhibition of Wnt/β-catenin signalling. *Embo j,* 31**,** 1109-22.

JANSEN, M., DE LENG, W. W., BAAS, A. F., MYOSHI, H., MATHUS-VLIEGEN, L., TAKETO, M. M., CLEVERS, H., GIARDIELLO, F. M. & OFFERHAUS, G. J. 2006. Mucosal prolapse in the pathogenesis of Peutz-Jeghers polyposis. *Gut,* 55**,** 1-5.

JASCHKE, N., HOFBAUER, L. C., GÖBEL, A. & RACHNER, T. D. 2020. Evolving functions of Dickkopf-1 in cancer and immunity. *Cancer Lett,* 482**,** 1-7.

JASMINE, F., RAHAMAN, R., DODSWORTH, C., ROY, S., PAUL, R., RAZA, M., PAUL-BRUTUS, R., KAMAL, M., AHSAN, H. & KIBRIYA, M. G. 2012. A genome-wide study of cytogenetic changes in colorectal cancer using SNP microarrays: opportunities for future personalized treatment. *PLoS One,* 7**,** e31968.

JASPERSON, K. W., TUOHY, T. M., NEKLASON, D. W. & BURT, R. W. 2010. Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology,* 138**,** 2044-58.

JOHNSON, S. M., GROSSHANS, H., SHINGARA, J., BYROM, M., JARVIS, R., CHENG, A., LABOURIER, E., REINERT, K. L., BROWN, D. & SLACK, F. J. 2005. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell,* 120**,** 635-47.

JOOSTEN, S. P. J., SPAARGAREN, M., CLEVERS, H. & PALS, S. T. 2020. Hepatocyte growth factor/MET and CD44 in colorectal cancer: partners in tumorigenesis and therapy resistance. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer,* 1874**,** 188437.

JOSSE, C., BOUZNAD, N., GEURTS, P., IRRTHUM, A., HUYNH-THU, V. A., SERVAIS, L., HEGO, A., DELVENNE, P., BOURS, V. & OURY, C. 2014. Identification of a microRNA landscape targeting the PI3K/Akt signaling pathway in inflammation-

induced colorectal carcinogenesis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,* 306**,** G229-43.

KAHN, M. 2011. Symmetric division versus asymmetric division: a tale of two coactivators. *Future Med Chem,* 3**,** 1745-63.

KAMBARA, T., SIMMS, L. A., WHITEHALL, V. L., SPRING, K. J., WYNTER, C. V., WALSH, M. D., BARKER, M. A., ARNOLD, S., MCGIVERN, A., MATSUBARA, N., TANAKA, N., HIGUCHI, T., YOUNG, J., JASS, J. R. & LEGGETT, B. A. 2004. BRAF mutation is associated with DNA methylation in serrated polyps and cancers of the colorectum. *Gut,* 53**,** 1137-44.

KANAI, Y. & HIROHASHI, S. 2007. Alterations of DNA methylation associated with abnormalities of DNA methyltransferases in human cancers during transition from a precancerous to a malignant state. *Carcinogenesis,* 28**,** 2434-42.

KASI, A., HANDA, S., BHATTI, S., UMAR, S., BANSAL, A. & SUN, W. 2020. Molecular Pathogenesis and Classification of Colorectal Carcinoma. *Curr Colorectal Cancer Rep,* 16**,** 97-106.

KAVURI, S. M., JAIN, N., GALIMI, F., COTTINO, F., LETO, S. M., MIGLIARDI, G., SEARLEMAN, A. C., SHEN, W., MONSEY, J., TRUSOLINO, L., JACOBS, S. A., BERTOTTI, A. & BOSE, R. 2015. HER2 activating mutations are targets for colorectal cancer treatment. *Cancer Discov,* 5**,** 832-41.

KINZLER, K. W. & VOGELSTEIN, B. 1996. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell,* 87**,** 159-70.

KRISHNAMURTHY, N. & KURZROCK, R. 2018. Targeting the Wnt/beta-catenin pathway in cancer: Update on effectors and inhibitors. *Cancer Treat Rev,* 62**,** 50-60.

KRISTT, D., TURNER, I., KOREN, R., RAMADAN, E. & GAL, R. 2000. Overexpression of cyclin D1 mRNA in colorectal carcinomas and relationship to clinicopathological features: an in situ hybridization analysis. *Pathol Oncol Res,* 6**,** 65-70.

LAFFERTY-WHYTE, K., BILSLAND, A., HOARE, S. F., BURNS, S., ZAFFARONI, N., CAIRNEY, C. J. & KEITH, W. N. 2010. TCEAL7 inhibition of c-Myc activity in alternative lengthening of telomeres regulates hTERT expression. *Neoplasia,* 12**,** 405-14.

LAMBERT, M., JAMBON, S., DEPAUW, S. & DAVID-CORDONNIER, M. H. 2018. Targeting Transcription Factors for Cancer Treatment. *Molecules,* 23.

LAO, V. V. & GRADY, W. M. 2011. Epigenetics and colorectal cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol,* 8**,** 686-700.

LENGAUER, C., KINZLER, K. W. & VOGELSTEIN, B. 1998. Genetic instabilities in human cancers. *Nature,* 396**,** 643-9.

LEPOURCELET, M., CHEN, Y. N., FRANCE, D. S., WANG, H., CREWS, P., PETERSEN, F., BRUSEO, C., WOOD, A. W. & SHIVDASANI, R. A. 2004. Small-molecule antagonists of the oncogenic Tcf/beta-catenin protein complex. *Cancer Cell,* 5**,** 91-102.

LIU, F., KONG, X., LV, L. & GAO, J. 2015. TGF-β1 acts through miR-155 to down-regulate TP53INP1 in promoting epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell phenotypes. *Cancer Lett,* 359**,** 288-98.

LIU, T., WEI, Q., JIN, J., LUO, Q., LIU, Y., YANG, Y., CHENG, C., LI, L., PI, J., SI, Y., XIAO, H., LI, L., RAO, S., WANG, F., YU, J., YU, J., ZOU, D. & YI, P. 2020. The m6A reader YTHDF1 promotes ovarian cancer progression via augmenting EIF3C translation. *Nucleic Acids Res,* 48**,** 3816-3831.

LIU, X., SONG, X. & LI, H. 2021. Transcription elongation factor A-like 7, regulated by miR-758-3p inhibits the progression of melanoma through decreasing the expression levels of c-Myc and AKT1. *Cancer Cell Int,* 21**,** 43.

LLOSA, N. J., CRUISE, M., TAM, A., WICKS, E. C., HECHENBLEIKNER, E. M., TAUBE, J. M., BLOSSER, R. L., FAN, H., WANG, H., LUBER, B. S., ZHANG, M., PAPADOPOULOS, N., KINZLER, K. W., VOGELSTEIN, B., SEARS, C. L., ANDERS, R. A., PARDOLL, D. M. & HOUSSEAU, F. 2015. The vigorous immune microenvironment of microsatellite instable colon cancer is balanced by multiple counter-inhibitory checkpoints. *Cancer Discov,* 5**,** 43-51.

LOCHHEAD, P., CHAN, A. T., GIOVANNUCCI, E., FUCHS, C. S., WU, K., NISHIHARA, R., O'BRIEN, M. & OGINO, S. 2014. Progress and opportunities in molecular pathological epidemiology of colorectal premalignant lesions. *Am J Gastroenterol,* 109**,** 1205-14.

LUKOMSKA, A., KIM, J., RHEAUME, B. A., XING, J., HOYT, A., LECKY, E., STEIDL, T. & TRAKHTENBERG, E. F. 2021. Developmentally upregulated transcriptional elongation factor a like 3 suppresses axon regeneration after optic nerve injury. *Neurosci Lett,* 765**,** 136260.

MA, H., BROSENS, L. A. A., OFFERHAUS, G. J. A., GIARDIELLO, F. M., DE LENG, W. W. J. & MONTGOMERY, E. A. 2018. Pathology and genetics of hereditary colorectal cancer. *Pathology,* 50**,** 49-59.

MAKINO, H., TAJIRI, T., MIYASHITA, M., SASAJIMA, K., ANBAZHAGAN, R., JOHNSTON, J. & GABRIELSON, E. 2005. Differential expression of TCEAL1 in esophageal cancers by custom cDNA microarray analysis. *Dis Esophagus,* 18**,** 37-40.

MARKOWITZ, S. D. & BERTAGNOLLI, M. M. 2009. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med,* 361**,** 2449-60.

MATSUI, A., IHARA, T., SUDA, H., MIKAMI, H. & SEMBA, K. 2013. Gene amplification: mechanisms and involvement in cancer. *Biomol Concepts,* 4**,** 567-82.

MEDEMA, J. P. 2013. Cancer stem cells: the challenges ahead. *Nat Cell Biol,* 15**,** 338-44.

MEDEMA, J. P. & VERMEULEN, L. 2011. Microenvironmental regulation of stem cells in intestinal homeostasis and cancer. *Nature,* 474**,** 318-26.

MENDOZA, M. C., ER, E. E. & BLENIS, J. 2011. The Ras-ERK and PI3K-mTOR pathways: cross-talk and compensation. *Trends Biochem Sci,* 36**,** 320-8.

MENG, F., HENSON, R., WEHBE-JANEK, H., GHOSHAL, K., JACOB, S. T. & PATEL, T. 2007. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology,* 133**,** 647-58.

MENTER, D. G., DAVIS, J. S., BROOM, B. M., OVERMAN, M. J., MORRIS, J. & KOPETZ, S. 2019. Back to the Colorectal Cancer Consensus Molecular Subtype Future. *Curr Gastroenterol Rep,* 21**,** 5.

MESCHER, A. L. 2013. *Junqueira's basic histology : text and atlas*.

MINOO, P., BAKER, K., GOSWAMI, R., CHONG, G., FOULKES, W. D., RUSZKIEWICZ, A. R., BARKER, M., BUCHANAN, D., YOUNG, J. & JASS, J. R. 2006. Extensive DNA methylation in normal colorectal mucosa in hyperplastic polyposis. *Gut,* 55**,** 1467-74.

MOTOYAMA, K., INOUE, H., TAKATSUNO, Y., TANAKA, F., MIMORI, K., UETAKE, H., SUGIHARA, K. & MORI, M. 2009. Over- and under-expressed microRNAs in human colorectal cancer. *Int J Oncol,* 34**,** 1069-75.

MUNRO, M. J., WICKREMESEKERA, S. K., PENG, L., TAN, S. T. & ITINTEANG, T. 2018. Cancer stem cells in colorectal cancer: a review. *J Clin Pathol,* 71**,** 110-116.

NAGEL, R., LE SAGE, C., DIOSDADO, B., VAN DER WAAL, M., OUDE VRIELINK, J. A., BOLIJN, A., MEIJER, G. A. & AGAMI, R. 2008. Regulation of the adenomatous polyposis coli gene by the miR-135 family in colorectal cancer. *Cancer Res,* 68**,** 5795-802.

NAGY, J. A., CHANG, S. H., DVORAK, A. M. & DVORAK, H. F. 2009. Why are tumour blood vessels abnormal and why is it important to know? *Br J Cancer,* 100**,** 865-9.

NARAYAN, S. & ROY, D. 2003. Role of APC and DNA mismatch repair genes in the development of colorectal cancers. *Mol Cancer,* 2**,** 41.

NELSON, S. & NÄTHKE, I. S. 2013. Interactions and functions of the adenomatous polyposis coli (APC) protein at a glance. *J Cell Sci,* 126**,** 873-7.

NENCLARES, P. & HARRINGTON, K. J. 2020. The biology of cancer. *Medicine,* 48**,** 67-72.

NIELSEN, M., JOERINK-VAN DE BELD, M. C., JONES, N., VOGT, S., TOPS, C. M., VASEN, H. F., SAMPSON, J. R., ARETZ, S. & HES, F. J. 2009. Analysis of MUTYH genotypes and colorectal phenotypes in patients With MUTYH-associated polyposis. *Gastroenterology,* 136**,** 471-6.

NUCCI, M. R., ROBINSON, C. R., LONGO, P., CAMPBELL, P. & HAMILTON, S. R. 1997. Phenotypic and genotypic characteristics of aberrant crypt foci in human colorectal mucosa. *Hum Pathol,* 28**,** 1396-407.

OGINO, S. & GOEL, A. 2008. Molecular classification and correlates in colorectal cancer. *J Mol Diagn,* 10**,** 13-27.

OGINO, S., NOSHO, K., KIRKNER, G. J., KAWASAKI, T., CHAN, A. T., SCHERNHAMMER, E. S., GIOVANNUCCI, E. L. & FUCHS, C. S. 2008. A cohort study of tumoral LINE-1 hypomethylation and prognosis in colon cancer. *J Natl Cancer Inst,* 100**,** 1734-8.

ORHAN, C., BULUT, P., DALAY, N., ERSEN, E. & BUYRU, N. 2019. Downregulation of TCEAL7 expression induces CCND1 expression in non-small cell lung cancer. *Mol Biol Rep,* 46**,** 5251-5256.

PAGÈS, F., MLECNIK, B., MARLIOT, F., BINDEA, G., OU, F. S., BIFULCO, C., LUGLI, A., ZLOBEC, I., RAU, T. T., BERGER, M. D., NAGTEGAAL, I. D., VINK-BÖRGER, E., HARTMANN, A., GEPPERT, C., KOLWELTER, J., MERKEL, S., GRÜTZMANN, R., VAN DEN EYNDE, M., JOURET-MOURIN, A., KARTHEUSER, A., LÉONARD, D., REMUE, C., WANG, J. Y., BAVI, P., ROEHRL, M. H. A., OHASHI, P. S., NGUYEN, L. T., HAN, S., MACGREGOR, H. L., HAFEZI-BAKHTIARI, S., WOUTERS, B. G., MASUCCI, G. V., ANDERSSON, E. K., ZAVADOVA, E., VOCKA, M., SPACEK, J., PETRUZELKA, L., KONOPASEK, B., DUNDR, P., SKALOVA, H., NEMEJCOVA, K., BOTTI, G., TATANGELO, F., DELRIO, P., CILIBERTO, G., MAIO, M., LAGHI, L., GRIZZI, F., FREDRIKSEN, T., BUTTARD, B., ANGELOVA, M., VASATURO, A., MABY, P., CHURCH, S. E., ANGELL, H. K., LAFONTAINE, L., BRUNI, D., EL SISSY, C., HAICHEUR, N., KIRILOVSKY, A., BERGER, A., LAGORCE, C., MEYERS, J. P., PAUSTIAN, C., FENG, Z., BALLESTEROS-MERINO, C., DIJKSTRA, J., VAN DE WATER, C., VAN LENT-VAN VLIET, S., KNIJN, N., MUȘINĂ, A. M., SCRIPCARIU, D. V., POPIVANOVA, B., XU, M., FUJITA, T., HAZAMA, S., SUZUKI, N., NAGANO, H., OKUNO, K., TORIGOE, T., SATO, N., FURUHATA, T., TAKEMASA, I., ITOH, K., PATEL, P. S., VORA, H. H., SHAH, B., PATEL, J. B., RAJVIK, K. N., PANDYA, S. J., SHUKLA, S. N., WANG, Y., ZHANG, G., KAWAKAMI, Y., MARINCOLA, F. M., ASCIERTO, P. A., SARGENT, D. J., FOX, B. A. & GALON, J. 2018. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *Lancet,* 391**,** 2128-2139.

PAGLIUCA, A., VALVO, C., FABRIZI, E., DI MARTINO, S., BIFFONI, M., RUNCI, D., FORTE, S., DE MARIA, R. & RICCI-VITIANI, L. 2013. Analysis of the combined action of miR-143 and miR-145 on oncogenic pathways in colorectal cancer cells reveals a coordinate program of gene repression. *Oncogene,* 32**,** 4806-13.

PAI, R. K., BETTINGTON, M., SRIVASTAVA, A. & ROSTY, C. 2019. An update on the morphology and molecular pathology of serrated colorectal polyps and associated carcinomas. *Mod Pathol,* 32**,** 1390-1415.

PAPAGIANNAKOPOULOS, T., SHAPIRO, A. & KOSIK, K. S. 2008. MicroRNA-21 targets a network of key tumor-suppressive pathways in glioblastoma cells. *Cancer Res,* 68**,** 8164-72.

PAULI, A., RINN, J. L. & SCHIER, A. F. 2011. Non-coding RNAs as regulators of embryogenesis. *Nat Rev Genet,* 12**,** 136-49.

PERRY, J. M., TAO, F., ROY, A., LIN, T., HE, X. C., CHEN, S., LU, X., NEMECHEK, J., RUAN, L., YU, X., DUKES, D., MORAN, A., PACE, J., SCHROEDER, K., ZHAO, M., VENKATRAMAN, A., QIAN, P., LI, Z., HEMBREE, M., PAULSON, A., HE, Z., XU, D., TRAN, T. H., DESHMUKH, P., NGUYEN, C. T., KASI, R. M., RYAN, R., BROWARD, M., DING, S., GUEST, E., AUGUST, K., GAMIS, A. S., GODWIN, A., SITTAMPALAM, G. S., WEIR, S. J. & LI, L. 2020. Overcoming Wnt-β-catenin dependent anticancer therapy resistance in leukaemia stem cells. *Nat Cell Biol,* 22**,** 689-700.

PERUCHO, M. 1996. Cancer of the microsatellite mutator phenotype. *Biol Chem,* 377**,** 675-84.

RATTAN, R., NARITA, K., CHIEN, J., MAGUIRE, J. L., SHRIDHAR, R., GIRI, S. & SHRIDHAR, V. 2010. TCEAL7, a putative tumor suppressor gene, negatively regulates NF-kappaB pathway. *Oncogene,* 29**,** 1362-73.

RICCI-VITIANI, L., FABRIZI, E., PALIO, E. & DE MARIA, R. 2009. Colon cancer stem cells. *J Mol Med (Berl),* 87**,** 1097-104.

RICHMAN, S. D., SOUTHWARD, K., CHAMBERS, P., CROSS, D., BARRETT, J., HEMMINGS, G., TAYLOR, M., WOOD, H., HUTCHINS, G., FOSTER, J. M., OUMIE, A., SPINK, K. G., BROWN, S. R., JONES, M., KERR, D., HANDLEY, K., GRAY, R., SEYMOUR, M. & QUIRKE, P. 2016. HER2 overexpression and amplification as a potential therapeutic target in colorectal cancer: analysis of 3256 patients enrolled in the QUASAR, FOCUS and PICCOLO colorectal cancer trials. *J Pathol,* 238**,** 562-70.

ROBERTS, P. J. & DER, C. J. 2007. Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene,* 26**,** 3291-310.

RODRÍGUEZ-PAREDES, M. & ESTELLER, M. 2011. Cancer epigenetics reaches mainstream oncology. *Nat Med,* 17**,** 330-9.

ROGER, L., JONES, R. E., HEPPEL, N. H., WILLIAMS, G. T., SAMPSON, J. R. & BAIRD, D. M. 2013. Extensive telomere erosion in the initiation of colorectal adenomas and its association with chromosomal instability. *J Natl Cancer Inst,* 105**,** 1202-11.

ROSKOSKI, R., JR. 2019. Small molecule inhibitors targeting the EGFR/ErbB family of protein-tyrosine kinases in human cancers. *Pharmacol Res,* 139**,** 395-411.

ROWAN, A., HALFORD, S., GAASENBEEK, M., KEMP, Z., SIEBER, O., VOLIKOS, E., DOUGLAS, E., FIEGLER, H., CARTER, N., TALBOT, I., SILVER, A. & TOMLINSON, I. 2005. Refining molecular analysis in the pathways of colorectal carcinogenesis. *Clin Gastroenterol Hepatol,* 3**,** 1115-23.

RUBINSTEIN, M. R., WANG, X., LIU, W., HAO, Y., CAI, G. & HAN, Y. W. 2013. Fusobacterium nucleatum promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/β-catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe,* 14**,** 195-206.

SAEED, O., LOPEZ-BELTRAN, A., FISHER, K. W., SCARPELLI, M., MONTIRONI, R., CIMADAMORE, A., MASSARI, F., SANTONI, M. & CHENG, L. 2019. RAS genes

in colorectal carcinoma: pathogenesis, testing guidelines and treatment implications. *J Clin Pathol,* 72**,** 135-139.

SAKAMOTO, N., FENG, Y., STOLFI, C., KUROSU, Y., GREEN, M., LIN, J., GREEN, M. E., SENTANI, K., YASUI, W., MCMAHON, M., HARDIMAN, K. M., SPENCE, J. R., HORITA, N., GREENSON, J. K., KUICK, R., CHO, K. R. & FEARON, E. R. 2017. BRAF(V600E) cooperates with CDX2 inactivation to promote serrated colorectal tumorigenesis. *Elife,* 6.

SALZ, T., LI, G., KAYE, F., ZHOU, L., QIU, Y. & HUANG, S. 2014. hSETD1A regulates Wnt target genes and controls tumor growth of colorectal cancer cells. *Cancer Res,* 74**,** 775-86.

SAMEER, A. S., NISSAR, S. & FATIMA, K. 2014. Mismatch repair pathway: molecules, functions, and role in colorectal carcinogenesis. *Eur J Cancer Prev,* 23**,** 246-57.

SAMUELS, Y. & VELCULESCU, V. E. 2004. Oncogenic mutations of PIK3CA in human cancers. *Cell Cycle,* 3**,** 1221-4.

SCHEPER, M. A., NIKITAKIS, N. G., SARLANI, E., SAUK, J. J. & MEILLER, T. F. 2006. Cowden syndrome: report of a case with immunohistochemical analysis and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod,* 101**,** 625-31.

SCHMITTGEN, T. D. & LIVAK, K. J. 2008. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc,* 3**,** 1101-8.

SCHREIBMAN, I. R., BAKER, M., AMOS, C. & MCGARRITY, T. J. 2005. The hamartomatous polyposis syndromes: a clinical and molecular review. *Am J Gastroenterol,* 100**,** 476-90.

SEARS, C. L., GEIS, A. L. & HOUSSEAU, F. 2014. Bacteroides fragilis subverts mucosal biology: from symbiont to colon carcinogenesis. *J Clin Invest,* 124**,** 4166-72.

SHARMA, R. P. & CHOPRA, V. L. 1976. Effect of the Wingless (wg1) mutation on wing and haltere development in Drosophila melanogaster. *Dev Biol,* 48**,** 461-5.

SHI, X. & GARRY, D. J. 2010. Myogenic regulatory factors transactivate the Tceal7 gene and modulate muscle differentiation. *Biochem J,* 428**,** 213-21.

SHIH, I. M., WANG, T. L., TRAVERSO, G., ROMANS, K., HAMILTON, S. R., BEN-SASSON, S., KINZLER, K. W. & VOGELSTEIN, B. 2001. Top-down morphogenesis of colorectal tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 98**,** 2640-5.

SIEGEL, R. L., MILLER, K. D., FEDEWA, S. A., AHNEN, D. J., MEESTER, R. G. S., BARZI, A. & JEMAL, A. 2017. Colorectal cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin,* 67**,** 177-193.

SLABY, O., SVOBODA, M., MICHALEK, J. & VYZULA, R. 2009. MicroRNAs in colorectal cancer: translation of molecular biology into clinical application. *Mol Cancer,* 8**,** 102.

SOLEAS, J. P., D'ARCANGELO, E., HUANG, L., KAROUBI, G., NOSTRO, M. C., MCGUIGAN, A. P. & WADDELL, T. K. 2020. Assembly of lung progenitors into developmentally-inspired geometry drives differentiation via cellular tension. *Biomaterials,* 254**,** 120128.

STRACCI, F., ZORZI, M. & GRAZZINI, G. 2014. Colorectal cancer screening: tests, strategies, and perspectives. *Front Public Health,* 2**,** 210.

STRING. Available: https://string-db.org/cgi/network?taskId=bOxWtXxWvUGX&sessionId=bA1GeQ0OCp4O [Accessed].

STRUHL, K. 1998. Histone acetylation and transcriptional regulatory mechanisms. *Genes Dev,* 12**,** 599-606.

SUN, D., YU, F., MA, Y., ZHAO, R., CHEN, X., ZHU, J., ZHANG, C. Y., CHEN, J. & ZHANG, J. 2013. MicroRNA-31 activates the RAS pathway and functions as an

oncogenic MicroRNA in human colorectal cancer by repressing RAS p21 GTPase activating protein 1 (RASA1). *J Biol Chem,* 288**,** 9508-18.

SUN, Y., JIA, X., HOU, L. & LIU, X. 2016. Screening of Differently Expressed miRNA and mRNA in Prostate Cancer by Integrated Analysis of Transcription Data. *Urology,* 94**,** 313.e1-6.

SUNG, H., FERLAY, J., SIEGEL, R. L., LAVERSANNE, M., SOERJOMATARAM, I., JEMAL, A. & BRAY, F. 2021. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin,* 71**,** 209-249.

SUZUKI, K., SUZUKI, I., LEODOLTER, A., ALONSO, S., HORIUCHI, S., YAMASHITA, K. & PERUCHO, M. 2006. Global DNA demethylation in gastrointestinal cancer is age dependent and precedes genomic damage. *Cancer Cell,* 9**,** 199-207.

SUZUKI, M., SHIGEMATSU, H., NAKAJIMA, T., KUBO, R., MOTOHASHI, S., SEKINE, Y., SHIBUYA, K., IIZASA, T., HIROSHIMA, K., NAKATANI, Y., GAZDAR, A. F. & FUJISAWA, T. 2007. Synchronous alterations of Wnt and epidermal growth factor receptor signaling pathways through aberrant methylation and mutation in non small cell lung cancer. *Clin Cancer Res,* 13**,** 6087-92.

SYNGAL, S., BRAND, R. E., CHURCH, J. M., GIARDIELLO, F. M., HAMPEL, H. L. & BURT, R. W. 2015. ACG clinical guideline: Genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. *Am J Gastroenterol,* 110**,** 223-62; quiz 263.

TACIAK, B., PRUSZYNSKA, I., KIRAGA, L., BIALASEK, M. & KROL, M. 2018. Wnt signaling pathway in development and cancer. *J Physiol Pharmacol,* 69.

TAZAWA, H., TSUCHIYA, N., IZUMIYA, M. & NAKAGAMA, H. 2007. Tumor-suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of the E2F pathway in human colon cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 104**,** 15472-7.

TEN BERGE, D., KUREK, D., BLAUWKAMP, T., KOOLE, W., MAAS, A., EROGLU, E., SIU, R. K. & NUSSE, R. 2011. Embryonic stem cells require Wnt proteins to prevent differentiation to epiblast stem cells. *Nat Cell Biol,* 13**,** 1070-5.

TETSU, O. & MCCORMICK, F. 1999. Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature,* 398**,** 422-6.

THIAGALINGAM, S., LENGAUER, C., LEACH, F. S., SCHUTTE, M., HAHN, S. A., OVERHAUSER, J., WILLSON, J. K., MARKOWITZ, S., HAMILTON, S. R., KERN, S. E., KINZLER, K. W. & VOGELSTEIN, B. 1996. Evaluation of candidate tumour suppressor genes on chromosome 18 in colorectal cancers. *Nat Genet,* 13**,** 343-6.

TJALSMA, H., BOLEIJ, A., MARCHESI, J. R. & DUTILH, B. E. 2012. A bacterial driver-passenger model for colorectal cancer: beyond the usual suspects. *Nat Rev Microbiol,* 10**,** 575-82.

TOH, T. B., LIM, J. J., HOOI, L., RASHID, M. & CHOW, E. K. 2020. Targeting Jak/Stat pathway as a therapeutic strategy against SP/CD44+ tumorigenic cells in Akt/β-catenin-driven hepatocellular carcinoma. *J Hepatol,* 72**,** 104-118.

TOMAR, V. S., PATIL, V. & SOMASUNDARAM, K. 2020. Temozolomide induces activation of Wnt/β-catenin signaling in glioma cells via PI3K/Akt pathway: implications in glioma therapy. *Cell Biol Toxicol,* 36**,** 273-278.

TOYOTA, M., AHUJA, N., OHE-TOYOTA, M., HERMAN, J. G., BAYLIN, S. B. & ISSA, J. P. 1999. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 96**,** 8681-6.

TOYOTA, M., OHE-TOYOTA, M., AHUJA, N. & ISSA, J. P. 2000. Distinct genetic profiles in colorectal tumors with or without the CpG island methylator phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 97**,** 710-5.

VAN DER WATH, R. C., GARDINER, B. S., BURGESS, A. W. & SMITH, D. W. 2013. Cell organisation in the colonic crypt: a theoretical comparison of the pedigree and niche concepts. *PLoS One,* 8**,** e73204.

VAN RIJNSOEVER, M., GRIEU, F., ELSALEH, H., JOSEPH, D. & IACOPETTA, B. 2002. Characterisation of colorectal cancers showing hypermethylation at multiple CpG islands. *Gut,* 51**,** 797-802.

VAQUERIZAS, J. M., KUMMERFELD, S. K., TEICHMANN, S. A. & LUSCOMBE, N. M. 2009. A census of human transcription factors: function, expression and evolution. *Nat Rev Genet,* 10**,** 252-63.

VELTMAN, J. A., FRIDLYAND, J., PEJAVAR, S., OLSHEN, A. B., KORKOLA, J. E., DEVRIES, S., CARROLL, P., KUO, W. L., PINKEL, D., ALBERTSON, D., CORDON-CARDO, C., JAIN, A. N. & WALDMAN, F. M. 2003. Array-based comparative genomic hybridization for genome-wide screening of DNA copy number in bladder tumors. *Cancer Res,* 63**,** 2872-80.

VOGT, M., MUNDING, J., GRÜNER, M., LIFFERS, S. T., VERDOODT, B., HAUK, J., STEINSTRAESSER, L., TANNAPFEL, A. & HERMEKING, H. 2011. Frequent concomitant inactivation of miR-34a and miR-34b/c by CpG methylation in colorectal, pancreatic, mammary, ovarian, urothelial, and renal cell carcinomas and soft tissue sarcomas. *Virchows Arch,* 458**,** 313-22.

WALTHER, A., HOULSTON, R. & TOMLINSON, I. 2008. Association between chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer: a meta-analysis. *Gut,* 57**,** 941-50.

WALTHER, A., JOHNSTONE, E., SWANTON, C., MIDGLEY, R., TOMLINSON, I. & KERR, D. 2009. Genetic prognostic and predictive markers in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer,* 9**,** 489-99.

WANG, X., YANG, Y., MOORE, D. R., NIMMO, S. L., LIGHTFOOT, S. A. & HUYCKE, M. M. 2012. 4-hydroxy-2-nonenal mediates genotoxicity and bystander effects caused by Enterococcus faecalis-infected macrophages. *Gastroenterology,* 142**,** 543-551.e7.

WEBER, M., HELLMANN, I., STADLER, M. B., RAMOS, L., PÄÄBO, S., REBHAN, M. & SCHÜBELER, D. 2007. Distribution, silencing potential and evolutionary impact of promoter DNA methylation in the human genome. *Nat Genet,* 39**,** 457-66.

WESTERMAN, A. M., ENTIUS, M. M., DE BAAR, E., BOOR, P. P., KOOLE, R., VAN VELTHUYSEN, M. L., OFFERHAUS, G. J., LINDHOUT, D., DE ROOIJ, F. W. & WILSON, J. H. 1999. Peutz-Jeghers syndrome: 78-year follow-up of the original family. *Lancet,* 353**,** 1211-5.

WIESE, K. E., NUSSE, R. & VAN AMERONGEN, R. 2018. Wnt signalling: conquering complexity. *Development,* 145.

WOLFF, E. M., BYUN, H. M., HAN, H. F., SHARMA, S., NICHOLS, P. W., SIEGMUND, K. D., YANG, A. S., JONES, P. A. & LIANG, G. 2010. Hypomethylation of a LINE-1 promoter activates an alternate transcript of the MET oncogene in bladders with cancer. *PLoS Genet,* 6**,** e1000917.

XI, Y. & XU, P. 2021. Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040. *Transl Oncol,* 14**,** 101174.

XIONG, B., CHENG, Y., MA, L. & ZHANG, C. 2013. MiR-21 regulates biological behavior through the PTEN/PI-3 K/Akt signaling pathway in human colorectal cancer cells. *Int J Oncol,* 42**,** 219-28.

XIONG, Z., WANG, M., YOU, S., CHEN, X., LIN, J., WU, J. & SHI, X. 2022. Transcription Regulation of Tceal7 by the Triple Complex of Mef2c, Creb1 and Myod. *Biology (Basel)*, 11.

YAMAUCHI, M., MORIKAWA, T., KUCHIBA, A., IMAMURA, Y., QIAN, Z. R., NISHIHARA, R., LIAO, X., WALDRON, L., HOSHIDA, Y., HUTTENHOWER, C., CHAN, A. T., GIOVANNUCCI, E., FUCHS, C. & OGINO, S. 2012. Assessment of colorectal cancer molecular features along bowel subsites challenges the conception of distinct dichotomy of proximal versus distal colorectum. *Gut*, 61**,** 847-54.

YAN, Z., SHENG, Z., ZHENG, Y., FENG, R., XIAO, Q., SHI, L., LI, H., YIN, C., LUO, H., HAO, C., WANG, W. & ZHANG, B. 2021. Cancer-associated fibroblast-derived exosomal miR-18b promotes breast cancer invasion and metastasis by regulating TCEAL7. *Cell Death Dis*, 12**,** 1120.

YANG, A. D., FAN, F., CAMP, E. R., VAN BUREN, G., LIU, W., SOMCIO, R., GRAY, M. J., CHENG, H., HOFF, P. M. & ELLIS, L. M. 2006. Chronic oxaliplatin resistance induces epithelial-to-mesenchymal transition in colorectal cancer cell lines. *Clin Cancer Res*, 12**,** 4147-53.

YOO, L. I., CHUNG, D. C. & YUAN, J. 2002. LKB1--a master tumour suppressor of the small intestine and beyond. *Nat Rev Cancer*, 2**,** 529-35.

YUE, X., LAN, F. & XIA, T. 2019. Hypoxic Glioma Cell-Secreted Exosomal miR-301a Activates Wnt/β-catenin Signaling and Promotes Radiation Resistance by Targeting TCEAL7. *Mol Ther*, 27**,** 1939-1949.

ZHANG, M., WENG, W., ZHANG, Q., WU, Y., NI, S., TAN, C., XU, M., SUN, H., LIU, C., WEI, P. & DU, X. 2018. The lncRNA NEAT1 activates Wnt/β-catenin signaling and promotes colorectal cancer progression via interacting with DDX5. *J Hematol Oncol*, 11**,** 113.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

KOLOREKTEL KANSERLİ HÜCRE HATTINDA TCEAL7 GENİNİN WNT/B-KATENİN YOLAĞINDAKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ORİJİNALLİK RAPORU

%9	%8	%3	%4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	%2
2	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%1
3	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<%1
4	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<%1
5	oys.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
6	hdl.handle.net İnternet Kaynağı	<%1
7	etd.lib.nsysu.edu.tw İnternet Kaynağı	<%1
8	Submitted to Eskisehir Osmangazi University Öğrenci Ödevi	<%1
	acikerisim.sakarya.edu.tr	