T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOLOREKTAL KANSERLİ HASTALARDA HOMOSİSTEİN DÜZEY DEĞİŞİMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Basem Mabruk M. RAJAB

Danışman	**Prof. Dr. Bayram KIRAN**
Jüri Üyesi	**Prof. Dr. İlhan YAYLIM**
Jüri Üyesi	**Doç. Dr. Üyesi Aytaç GÜDER**
Jüri Üyesi	**Dr. Öğr. Üyesi Dilşad ÖZERKAN**
Jüri Üyesi	**Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY**

DOKTORA TEZİ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

KASTAMONU –2019

TEZ ONAYI

Basem Mabruk M. RAJAB tarafından hazırlanan "**Kolorektal Kanserli Hastalarda Homosistein Düzey Değişimlerinin Değerlendirilmesi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı**'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Prof. Dr. Bayram KIRAN Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. İlhan YAYLIM İstanbul Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Dilşad ÖZERKAN Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Aytaç GÜDER Giresun Üniversitesi	.....

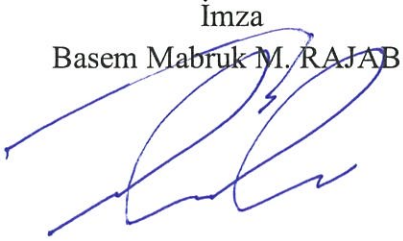
27/02/2019

Enstitü Müdürü	Prof. Dr. Hasbi YAPRAK	.....

TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.

İmza
Basem Mabruk M. RAJAB



ÖZET

Doktora Tezi

KOLOREKTAL KANSERLİ HASTALARDA HOMOSİSTEİN DÜZEY DEĞİŞİMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Basem Mabruk M. RAJAB
Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Genetik ve Biyomühendislik Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Bayram KIRAN

Homosistein, sağlık ve hastalık üzerinde önemli rol oynayan bir aminoasittir. Tehlikeli ve ölüm riski yüksek bir hastalık olan kanser dünya çapında tüm insanlık için ciddi bir risk faktörüdür. Bu nedenle kanser üzerine bilimsel araştırmaların yoğun bir şekilde çalışılması gereklidir. Ayrıca, Homosistein düzeyleri ile hastaların klinik patolojik parametreleri arasındaki ilişki olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, Türkiye'de kolorektal kanserli (KRK) hastalarda Homosistein çeşitliliği hakkında yeni veriler elde etmeyi amaçladık. Bu kapsamda, kolorektal kanserli hastalar ve sağlıklı kontrol grubu aynı sosyoekonomik gruptan ve benzer yaş-cinsiyet dağılımlarına özen gösterilerek seçildi. Belirlenen KRK'li otuz bir hastada ve yirmi iki sağlıklı kontrolde homosistein düzeyi saptandı. Bu kapsamda, kolorektal kanserli hastalar ve sağlıklı kontrol grubu aynı sosyoekonomik gruptan ve benzer yaş-cinsiyet dağılımlarında olmasına özen gösterilerek seçildi. Belirlenen KRK'li ve sağlıklı kontrol gruplarındaki bireylerde homosistein düzeyleri saptandı. Her iki grup arasında (KRK'li grup; 63,32 ± 2,10 ve kontrol grubu; 56,2 ±3,07 yaş) homosistein düzeyleri bakımından önemli bir fark gözlenmedi (p=0.053). KRK'li grup ve kontrol grubunun yaş, cinsiyet ve patolojik parametreleri (tümör yerleşimi, tümör evresi, lenf nodu metastazı, uzak metastaz, perinöral invazyon, müsinöz komponent varlığı) gibi özellikleri arasında da belirgin bir fark belirlenmedi. KRK'li grubun homosistein düzeylerinin, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bulundu. Bu sonuç, yüksek homosistein düzeyinin kolorektal kanser riskinin artması ile ilişkili olduğunu desteklemektedir. KRK'li (n=31) ve kontrol grublarının (n=22) patolojik parametrelerinin karşileştırıldığında, KRK'li grubun Homosistein düzeylerinin (12.51 ±2.02), kontrol grubu üyelerine (8.02± 0.18) göre yüksek olduğu gözlendi (p=0.042). Her iki grubun tüm patolojik parametreleri için homosistein düzeyleri arasında anlamlı fark (p> 0,05) olmamasına rağmen müsinöz bileşeni olan bireylerde homosistein düzeyleri biraz daha yüksek bulundu ancak bu istatistiksel olarak anlamlı değildir (p> 0,05). Burada elde edilen sonuçlar daha büyük bir örnekle çalışılarak doğrulanmalıdır. Aynı zamanda, kolorektal kanserdeki plazma Hcy seviyelerinin verilerini değerlendirmek için daha fazla sayıda hasta ile daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Homosistein, KRK, Tümör, Patolojik Parametre

2019, 80 sayfa
Bilim Kodu: 923

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

EVALUATION OF HOMOCYSTEINE LEVELS VARIATIONS IN PATIENTS WITH COLERECTAL CANCER

Basem Mabruk M. RAJAB
Kastamonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Genetic and Bioengineering

Supervisor: Prof. Dr. Bayram KIRAN

Abstract: Homocysteine is an amino acid that plays an important role in health and disease. Cancer, a disease with a high risk of death and danger, is a serious risk factor for all humanity worldwide, so it is necessary to study the scientific researches on cancer intensively. It is also known that there is a relationship between homocysteine levels and the clinical pathological parameters of patients. In this study, we aim to achievenew data on the diversity of Homocysteine in patients suffered from colorectal cancer in Turkey. In this context, patients with colorectal cancer and healthy control group were selected from the same socioeconomic group and with similer age-gender distributions. Homocysteine levels were determined among thirty one patients with CRC and twenty two healthy controls. There was no significant age difference between the cases (63,32 ± 2,10 years) and the controls (56,2 ±3,07years) (p=0.053). Also, among of CRC and control groups' characteristics regarding age, gender, and clinicopathological parameters (tumor location, tumor stage, lymph nodal metastasis, distance metastasis, perineural invasion, the presence of mucinous component) were no significant. The homocysteine levels of the CRC group were higher than the control group. This result supports that high homocysteine levels are associated with increased risk of colorectal cancer. When the pathologic parameters of CRC (n = 31) and control groups (n = 22) were compared, it was observed that the homocysteine levels of the CRC group (12.51 ± 2.02) were higher than the control group (8.02 ± 0.18) (p = 0.042). Although homocysteine levels were not significantly different (p> 0.05) for all pathological parameters of both groups, homocysteine levels were found to be slightly higher in patients with mucinous component, but this was not statistically significant (p> 0.05). The results obtained here should be verified by working with a larger sample. At the same time, further studies with larger numbers of patients are needed to evaluate the data of plasma Hcy levels in colorectal cancer.

Key Words: Homosistein, KRK, Tumor, Patologic Parametry

2019, 80 pages
Science Code: 923

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim sırasında, tez konumun planlanmasında ve değerlendirilmesi sırasında ilgi ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Bayram KIRAN ve çalışmalarım boyunca benden desteğini esirgemeyen Prof. Dr. İlhan YAYLIM hocalarıma gönülden teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca Kastamonu Üniversitesine ve İstanbul Üniversitesi Moleküler Tip Anabilim Dalı/İstanbul Üniversitesi Tip Fakültesi'ne çalışmalarımda her türlü imkânı sağladıkları için ziyadesiyle müteşekkir olduğumu belirtmek isterim. Doktora derecesini almak için bana bu bursu veren Libya Hükümetine 'de teşekkürü bir borç bilirim.

Yıllarca süren çalışmalarım boyunca ve bu tezin araştırılması ve yazılması sürecinde bana her türlü destek sağladıkları için aileme vd.,adaşlarıma, bu başarının onların desteği olmadan gerçekleşmeyeceği bilinciyle çok derinden şükranlarımı sunuyorum.

Basem Mabruk M. RAJAB
Kastamonu, Şubat, 2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLOLAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Kolekrektal Kanser	1
1.1.1. Kolerektal Kanserde Genetik Tedavi Yolları	2
1.1.2. MTHFR Geninin Kolerektal Kanser ve 677T Polimorfizmi	3
1.1.3. Kolerektal Kanserin Epigenetiği	5
1.1.4. Kolerektal Kansere Çevresel Etkiler	7
1.2. Homosistein	8
1.2.1. Homosistein Yapısı ve Biyokimyası	10
1.2.2. Homosistein Formları	13
1.2.3. Homosistein Normal Değer Aralıkları	14
1.2.4. Homosisteinin Metabolizması	15
1.2.4.1. *Homosistein Kaynakları ve Biyosentezi*	15
1.2.4.2. *Homosistein Yıkımı(Katabolizma)*	17
1.2.4.3. *Homosistein Mekanizmasının Düzenlenmesi*	18
1.2.5. Homosisteinin Bağışıklık Sistemi Hücrelerine Etkileri	18
1.2.6. Homosistein Toksisitesi	19
1.2.6.1. *DNA Metilleme Seviyesine Homosisteinin Etkileri*	22
1.2.7. Homosistein Seviyeside Genetik Olmayan Faktörlerin Etkisi	23
1.2.7.1. *Fizyolojik Faktörler*	23
1.2.7.2. *Beslenme Faktörleri*	23
1.2.7.3. *Renal Fonksiyon*	25
1.2.7.4. *Hormon Seviyelerinde Artma ve Azalma*	25
1.2.7.5. *İlaçlar*	25
1.2.8. Genetik Faktörler	26
1.2.9. Homosistinüri	27
1.2.10. Hipohomosisteinemi	28
1.2.11. Hiperhomosisteinemi	30
1.2.12. Homosistein Seviyelerinden Etkilenen Hastalıklar	31
1.2.12.1. *Kardiyovasküler Hastalıklar*	31
1.2.12.2. *Diyabet Hastalığı*	32
1.2.12.3. *Hipertansiyon*	32

1.2.12.4. *Böbrek Yetmezliği* 33
1.2.12.5. *Tiroid Yetmezliği* 33
1.2.12.6. *Gastrointestinal Sistem Hastalıkları* 33
1.2.12.7. *Romatizmal Eklem İltihabı* 34
1.2.12.8. *HİV/AIDS* 34
1.2.12.9.*Doku Hasarı* 34
1.2.12.10. *Down Sendromu* 35
1.2.12.11. *Alzheimer, İmme Ve Parkinson Hastalıkları* 35
1.2.12.12. *Diğer Sistemik Hastalıklar* 36
1.3. Homosistein ile Kanser Hastalıkları Arasındaki İlişki 37
1.3.1. Kanser Hastalıklarında Metiyoninin Rolü 37
1.3.1.1 *Kanser Hastalıkları ile Folat ve Homosistein İlişkisi* 37
1.3.2. Kanser Hücreleri ve Apoptoz Mekanizması 41
1.3.3. Kanser Hücrelerinde DNA Tamir Mekanizması 42
1.3.4. Homosistein Düzeyi ve Kolerektal Kanser Arasıdaki İlişki 42
1.3.4.1. *Kolerektal Kanser Patogenezlerinde Hiperhomosisteinemi* 43
2. LİTARETÜR ÖZETİ 47
3.YÖNTEM 52
3.1.Çalışma Konuları 52
3.2.Elisa Analiz Metodu 53
3.3.Veriler ve İstatistik Analiz 55
4.BULGULAR 57
4.1.Koleraktal Kanser Hastaları ve Kontrol Grubunun Özellikleri 57
4.2.İstatistiksel Analizler 60
5.TARTIŞMA 61
6.ÖNERİLER 64
KAYNAKLAR 65
ÖZGEÇMİŞ 80

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

KRK	Kolorektal Kanser
MSI	Mikrosatellit İnstabilite
CIMP	CpG ada Metiletör Fenotip
KIN	Kromozomal İnstabilite
TNM	Tümör Bölgesel Lenf Bezleri Uzak Metastaz
LOH	Heterozigosite Kaybı
HRT	Hormon Replasman Terapisi
NSAIDs	Steroid Olmayan Antiinflamatuar İlaç
Hcy	Homosistein
tHcy	Toplam Homosistein
HHcy	Hiperhomosistein
MS	Metiyonin Sistein
BHMT	Betain Homosistein Metiltransferaz
CBS	Sistatyonun ß-Sentaz
SAM	S-adenozil metiyonin
THF	Tetrahidrofolat
MTHFR	Metilentetrahidrofolat Redüktaz
SAH	S-adenozilmetiyonin
FAD	Flavin adenin dinükleotid
NOS	Nitrik oksit sentaz
NMDA	N-Metil-D-aspartat reseptör
ERKs	Ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz
MAPK	Mitojen aktive eden protein kinaz
COMT	Katekol-O-Metiltransferaz
CEs	Catekol estrojenler
RA	Romatoid artrit
ESRD	Son Evre Böbrek Hastalığı
KIN	Servikal İntraepitelyal Displazi
PLP	Pirodoksal-5 '-fosfat
DCA	Deoksikolik asit
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi
FPIA	Fluorescence Polarization Immunoassay
ELISA	Enzim Aktivitesine Bağlı İmmunoteknik

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.Koleraktal Kanserde DNA Metilesyonu 6
Şekil 2.Homosisteinin Molekül Yapısı. 11
Şekil 3.Plazmadaki Homosistein Formları..... 13
Şekil 4.Metiyonin-Homosistein Metabolizması. 17
Şekil 5.Homosistein Metabolizmasının Düzenlenmesi..... 18
Şekil 6.DNA Metilleme Seviyesine Homosisteinin Etkileri..... 22
Şekil 7.Homosisteinüri..... 28
Şekil 8.Numunelerin Seyreltilmesi. 53
Şekil 9.Homosistein konsantrasyonları. 57

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.Homosisteinin Kandaki Referans Aralıkları 15
Tablo 2.Hcy Seviyelerini Etkileyen Bazı İlaçlar 26
Tablo 3.Hiperhomosisteinemi Sınıflandırılması 31
Tablo 4.ELİSA'da Örnekleme Protokolü 55
Tablo 5.Kolraktal Kanser Hastaları ve Kontrol Grubunun Özellikleri 56
Tablo 6.Kolorektal Kanser Hastaları ve Kontrollerin Özellikleri…… 58
Tablo 7.Klinikopatalojik Parametrelerle Karşileştırmalı Homosistein Seviyeleri 59

1. GİRİŞ

1.1. Kolorektal Kanser

Kolon kanseri veya bağırsak kanseri olarak da adlandırilen kolorektal kanser (KRK), kolon, rektum ve apendist anormal büyümelerini içerir. 2012 verilerine göre, dünya çapında erkeklerde %10, kadınlarda ise %9.2 oranında, akciğer ve meme kanserinin ardından üçüncü en sık rastlanan kanser türüdür (Young vd., 2015). Hastalığın başarı ile tedavisi tanı anında tümör evresine aşırı derecede bağlıdır. KRK vakalarının sadece % 40'ı erken evrede teşhis edilir ve yeni tanı konan hastaların yaklaşık %50'sinde kanser metastatik fazdadır (Gonzalez ve Cruz, 2015). Metastatik KRK hala kanserden ölümlerin en yaygın dördüncü nedenidir (Singh vd., 2015).

KRK hastalarının 5 yıla kadar yaşama oranları, %65-90 aralığındayken tüm hastaların %70'inde görülen lokalize lenf nodu metastazları veya organ metastazı olan hastalar için bu oran % 13'tür (Gonzalez ve Cruz, 2015). Her ne kadar cerrahi işlem KRK tedavisinde temel tedavi yöntemi olsa da hastaların %30-40'ında bölgesel olarak yerleşik ileri düzeyde veya metastatik faza ulaşmış durumlar vardır ve bunlar sadece cerrahi işlemle tedavi edilemezler (De Schoolmeester vd., 2013). Bu nedenle, hastalığın yeniden nüks etme riski olan ve metastatik hastalar, adjuvan kemoterapi tedavisini almaktadır. Tanı ve tedavide son zamanlardaki ilerlemeye rağmen, hedefe yönelik tedavilerin de dahil olmak üzere, bu ileri KRK'nin prognozu zayıf kalmaktadır (Kocian vd., 2011).

Moleküler biyolojideki ilerlemeler, kolorektal karsinogeneze yol açan bazı genetik mekanizmaların netleşmesine yardımcı olmuştur. Çoğu KRK vakası sporadik genetik ve/veya epigenetik değişikliklere bağlı olmakla birlikte, tüm KRK vakalarının % 10-20'sinde soydan gelen bir bileşen vardır (Gonzalez ve Cruz, 2015). KRK'de anormal gen ekspresyonuna neden olan üç ana moleküler mekanizma vardır: mikrosatellit instabilitesi (MSI), ada metilet veya fenoTip (CIMP) ve kromozomal instabilite (KIN) (Gonzalez ve Cruz, 2015; De Schoolmeester vd., 2010). Bu konuda gerçekleştirilen çok fazla sayıda bilimsel çalışmadan elde edilen kanıtlar, tümör progresyonunun sadece kanser hücrelerine özgü genetik değişimlerle değil çevresel

faktörlerle de yönetildiğini düşündürmektedir. Bu nedenle, genetik değişiklikler ve Tümör Lenf Nodları Metastazı (TNM) evrelemesine ek olarak, tümör dokusuna ve peritümöral alanlara sızan immün hücrelerin kantitatif bir değerlendirmesi, bağımsız bir sonuç belirleyicisi olarak önerilmiştir (Kocian vd., 2011). İmmün tümör mikro-çevresinde yoğunlaşmış fikirler, yeni immün temelli biyo-işaretleyiciler ve tedavi için immün yolları hedefleyen yeni ajanların gelişimini incelemeye imkan vermiştir (Markman vd., 2015).

KRK biyolojisinde bağışıklık sisteminin önemi, rezeke edilmiş KRK karsinogenezinde immün infiltratların geriye dönük öngörüleri ile belirlenir. Tümör infiltre lenfositlerin varlığı, özellikle lokal lenf nodları yanı sıra tümör mikroçevresindeki $CD8^+$ lenfositlerin varlığı, daha iyi prognozla ilişkilendirilmiştir (Oberg vd., 2002). Bundan da ötesi, KRK tümörlerinin spesifik bölgelerinin sitotoksik hafıza T lenfositler ($CD8^+CD45RO^+$, T-hücreleri) ile daha fazla infiltrasyonu, KRK'nin nüksetme riskini azaltması ve sağ kalma oranını iyileştirmesi ile ciddi şekilde bağlantılıdır (Galon vd., 2006; Pages vd., 2009). Bu efektör hafıza T-hücrelerinin varlığının, relaps riskini azaltmada ve daha yüksek sağ kalma üzerinde hiçbir tedavi görmemiş T-hücrelerinden daha önemli olduğu da bilinmektedir. T-hücrelerinin diğer inflamatuar hücrelerden farklı prognostik etkileri, T-hücre yanıtlarını modüle eden kanser immünoterapilerinin sağ-kalma oranlarında bir artma sağlayabileceği öne sürülmektedir. En umut verici yaklaşımlar arasında, bağışıklık kontrol noktası moleküllerinin antitümör bağışıklığını uyarmasını bloke etmek vardır (Chen, 2015).

1.1.1 Kolorektal Kanserde Genetik Tedavi Yolları

Kolon kanserinde, genetik ve epigenetik bileşenlere sahip en az 2 farklı yol vardır: kromozomal instabilite yolu (KIN) ve mikrosatellit instabilitesi (MSI) yolu. Çoğu KRK (%65-70), KIN yolu aracılığıyla, öncü lezyonlar olarak adenomlar ile ortaya çıkar. Genetik yöntem, kromozomal ayrılma, telomer stabilitesi ve DNA hasar tepkisi ile karakterize edilir ve kromozomal dengesizliğe (çok kromozomluluk) ve yüksek oranda heterozigotluk kaybına (LOH) yol açar (Vogelstein vd., 1988).

İlk olarak, kolon karsinogenezinde APC, Kras ve p53 genlerde spesifik bir mutasyon dizisi önerilmesine rağmen daha karmaşık ve heterojen gen mutasyonları modellerini içeren çok sayıda alternatif KIN yolu vardır (Smith vd., 2002).

MSI, DNA uyumsuzluğu onarım kapasitesinin kaybını yansıtır ve tüm KRK'lerin %10-15'inde bulunur. Lynch sendromunda (kalıtsal polip dışı kolorektal kanser), *MLH1, MSH2, MSH6, PMS2* veya *EPCAM* gibi önemli DNA onarım enzim genlerindeki mutasyonlar, DNA kopya hatalarının düzeltilmesine izin vermeyebilir. Bu hatalar bazen büyüme düzenleyici genleri etkileyerek kansere neden olur. SSA tırtıklı neoplazi yolunun öncü lezyonlarıdır. Bu yol genom boyunca inversiyon veya delesyon mutasyonlarının birikmesiyle gelişir, genomik instabiliteye yol açar ve çoğu durumda MSI-yüksek (MSI-H) adenokarsinomlara yol açar (Perucho vd., 1996).

BRAF mutasyonu ve hipermetillenmiş SLC5A8 önemli rol oynar. Progresif hücre döngüsü kontrolü kaybı ve azalmış ve değiştirilmiş sitoplazmik farklılaşma SSA'ların karakteristik morfolojik değişikliklerini meydana getirmektedir (Goldstein vd., 2006). KRK için ayrı yollar tanımlamaya yönelik girişimler olmasına rağmen, birden fazla yolun çakışan özellikleri sıklıkla bir tümörde bulunur (Shen vd., 2007). Çoğu KRK'de APC ve TGFBR2/SMAD4 gibi mutant genler yaygındır ve kolon karsinogenezinde merkezi bir rolü olduğu düşünülmektedir (Pritchard vd., 2011).

1.1.2 MTHFR geninin kolorektal kanser ve 677T polimorfizmi

TT varyantı olan bireyler, folat durumunun yeterli olması koşuluyla BT ve CC genoTiplerine kıyasla %40-50 oranında daha düşük kolorektal kanser riskine sahiptir. TT genoTipinin folat alımı yüksek olduğu ve alkol alımının az olduğu veya olmadığı sürece bir miktar koruma sağlayabileceği anlamına gelir ancak koruma düşük folat durumu veya artmış alkol tüketimi ile zayıflayalabilir (Slattery vd., 1999). C677T polimorfizminin ve folat, metiyonin, vitamin B6 ve B12 ve alkol alımının etkisi üzerine araştırma yapılmıştır. Örneğin, MTHFR geninin 677TT genoTipine sahip bireyler, CC genoTipine sahip olanlara göre biraz daha düşük kolon kanseri riskine sahiptir. Vitaminlerin yüksek alımı, CC genoTipi ve düşük vitamin alımı olan bireylere göre TT genoTipine sahip katılımcılarda % 30-40

aralığında risk azalması ile ilişkilendirilmiştir (Slattery vd., 1999). C677T polimorfizmi ile kolorektal kanser riski arasındaki ilişki 144 erkek hasta ve 627 kontrol bireyi (Health Professionals Follow-Up Study katılımcileri arasından seçilmiştir) üzerinde incelenmiştir. TT genoTipi için ayarlanmış OR değeri 0,57 olarak belirlenmiştir. Yüksek miktarda alınan metiyonin ve düşük alkol tüketimi daha düşük bir insidansla ilişkili olduğu görülmüştür ancak haftada beş ya da daha fazla alkollü içecek tüketimi TT genoTipinde erkekler hastalarda risk azalma etkisini ortadan kaldırmıştır. TT genoTipli bireylerde, metiyonin alımı ile ters korelasyon biraz daha güçlüdür. Bu durum metil grubunun desteğinin TT bireylerinde özellikle kritik olduğunu düşündürmektedir (Chen vd., 1996). Bir vaka-kontrol çalışmasında, C677T polimorfizm, folat, alkol ve kolorektal kanser arasındaki ilişkileri incelenmiştir. Kan örnekleri alınan 40-84 yaşlarındaki katılımcilerın alkol alımı miktarları belirlendi. 12 yıl takip edilen 202 kolorektal kanser vakası 326 kontrolle eşleştirildi. TT genoTipi olan erkeklerin diğer genoTipleri olanlara göre, kolorektal kanser riski yarı yarıya olduğu belirlendi. Yeterli folat düzeyine sahip olanlarda ise üç kat daha az risk olduğu gözlendi. Ancak plazma folatı 3 ng/ml'den az olan hastalarda, yeterli düzeyde erkek hasta ile kıyaslandığında genel olarak sıradışı bir artış olduğu fark edildi (Ma vd., 1997). 2001 yılında yapilen bir çalışmada, premalign kolorektal karsinomlar için iki yüksek risk kategorisi belirlenmiştir: birinci olarak, düşük folat statüsüne sahip sigara içenler ve TT genoTipi, ikinci olarak da CC genoTipi ve yüksek folat durumu olan sigara içenler (Ulvik vd., 2001). 527 vaka ve 645 kontrol içeren Minnesota CPRU hastalık kontrol çalışmasında, C677T polimorfizmi ve kolorektal adenomlar arasında bir ilişki olduğu da ortaya koyulmuştur. Folat, B12 vitamini, B6 vitamini veya metiyonin diyet alımları ile adenom riskleri arasındaki ilişkiler, genoTipe bağlı tutarlı modeller ortaya çıkarmıştır. TT genoTipine sahip ve bu besin maddelerinin herhangi biri en düşük miktarda alan bireyler yüksek adenom riski altında olduğu görülmüştür. Bu risk, bu besin maddelerinin yüksek miktarda alan TT genoTipli deneklerle karşileştırıldığında iki ile üç kat arasında artmıştır. Alkol tüketimiyle risk artışı sadece CC genoTipli deneklerde gözlenmiştir. TT genoTipi olan denekler arasında, orta derecede alkol tüketimi olanların en düşük risk altında olduğu bulunmuştur (Ulrich vd., 1999). Başka bir vaka kontrol çalışmasında, 331 kolorektal adenoma sahibi hasta ve 350 kontrol bireyinde, C677T genoTipli, RBC ve plazma folatı saptanmıştır. RBC ve

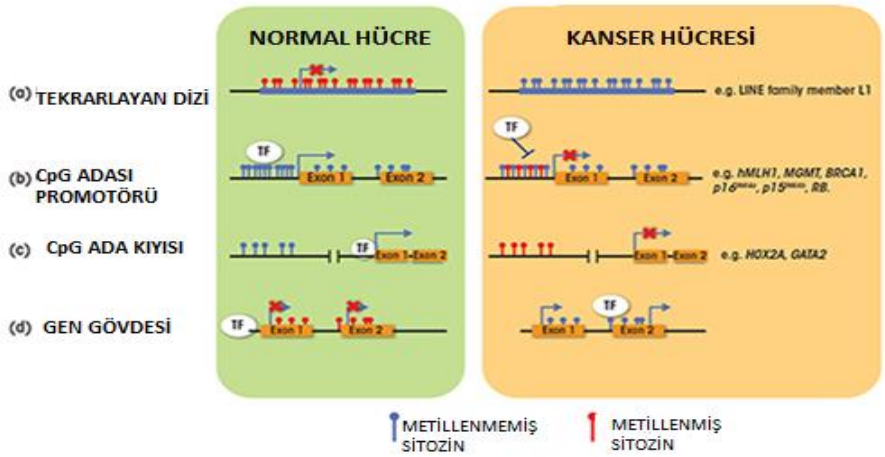
plazma folatlı düşük çeyreğinde yer alan durumlarda, TT homozigotları için CC veya BT genoTipine sahip olanlara göre adenom riski artmış ancak en yüksek çeyrekte ise TT homozigotlarında risk azalmıştır. Bu çalışmada da TT genoTipi ve alkol ile etkileşim arasında anlamlı bir ilişki belirlenmiştir (Levine vd., 2000).

1.1.3 Kolorektal Kanserin Epigenetiği

Diğer habis tümörler gibi Kolorektal Kanserin Epigenetiği, normal kolonik epitelyumu kansere dönüştüren genetik ve epigenetik değişiklikler içeren heterojen bir hastalık olarak kabul etmektedir (Migliore vd., 2011). Epigenetik, DNA dizisini zorunlu olarak değiştirmeden gen ekspresyon seviyelerini modifiye edebilen mekanizmalardır. Epigenetik, DNA diziliminde kalıcı değişikliklere atfedilemeyen ancak gen ifadesinin dinamiklerini düzenlemek için yeterince güçlü olan çevresiyle uyumlu, sık, güçlü ve yaygın kalıtsal değişimler olarak da tanımlanmaktadır (Berger vd., 2006; Rodenhiser vd., 2006). Epigenetik regülasyondan sorumlu primer süreçler, DNA metillemesi, histon proteinin modifikasyonları ve non-kodlayıcı RNA'lar (mikroRNA'lar [miRNA'lar], uzun non-kodlayıcı RNA'lar, küçük çekirdekli RNA'lar gibi) yoluyla transkripsiyonel gen regülasyonunu içerir (Ducasse M, Brown MA., 2006). Gen mutasyonuna ek olarak, kanser gelişimi sırasında gen fonksiyonunu değiştirmek için alternatif bir yöntem DNA metilesyonudur. DNA metilesyonu, gen regülasyonunda önemli bir rol oynayan epigenetik bir olaydır (Hamilton, 1992), (Hiltunen vd., 1997). Metilesyon, ardışık olarak proteinlerin DNA'ya bağlanma şeklini etkileyebilen bir metil grubuna sahip sitozin kalıntıları vasıtasıyla DNA sentezinden sonra gerçekleşir ve böylece transkripsiyon süreKINi etkileyebilecek bir metil grubu eklenmiş olur (Razin ve Riggs, 1980). Bu şekilde, DNA metilesyonu, hücre içinde başka bir gen ekspresyon kontrol seviyesi uygular. Bu, DNA metilesyon paternindeki herhangi bir anormallik, etkili hücresel işlevi etkileyebilecek genlerin uygunsuz ifadesi ile sonuçlanabileceği anlamına gelir. Gerçekten de, düşük bir genomik metilesyon seviyesi, KRK dahil olmak üzere, birkaç kanser türü için ortaya konan en erken moleküler anormalliklerden biridir (Feinberg ve Vogelstein, 1983; Makos vd., 1992; Feinberg vd., 1988). Bu genom genişliğinde hipometilesyonun, tümöre neden olan süreci destekleyen onkogenlerin aşırı ekspresyonuna yol açtığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, tersine C-G adaları olarak bilinen izole edilmiş GC bakımından zengin bölgelerde hipermetilesyon da, kanser ile yakından ilişkilidir

ve önemli tümör baskileyıcı genleri inaktive ettiğine inanılmaktadır (Issa, 1999). Şekil 1' de görüldüğü üzere, KRK'de, APC (Esteller vd., 2000) ve hMLH1 (Nakagawa vd., 2001; Suter vd., 2003) dahil olmak üzere çeşitli genlerle ilişkili CpG adalarında hipermetilesyon gösterilmiştir. DNA metilesyon paternlerindeki değişiklikler genellikle KRK gelişiminde erken bir olay olarak kabul edildiğinden, anormal metilesyon nedenleri araştırılmaktadır. Özellikle ilgi çekici olan, folik asitin, DNA metilesyonuna yol açan metabolik yolun anahtar bileşeni olmasıdır. Ayrıca, folat metabolik enzimlerdeki genetik polimorfizmlerin etkisi, KRK'nin gelişmesine neden olur (Slattery, 1999).

DNA metilesyonu gen gösteriminin, DNA'nın kararlılığının, konfigürasyonunun, mutasyonunun önemli bir belirleyicisidir. Kromozomal kararsızlığa yol açan DNA onarım yollarının inaktivasyonu neoplastik süreci başlatabilir ve hızlandırabilir (Blount vd., 1997). Kanserde kaydedilen ilk moleküler değişiklikler, küresel hipometilesyon DNA metilesyonunun aberasyonları ve kanser gelişimi için aday mekanizmalar olmuştur. Birçok deneysel çalışma, karsinojenezde DNA'nın bozulmuş metilesyonunun rolünü desteklemektedir (Lu vd., 1998). Sadece DNA hipometilesyonu değil, aynı zamanda folat eksikliği de mutasyonlara yol açan kromozomal instabiliteye katkıda bulunabilir (Chen vd,. 1998). Ayrıca aktif folat eksikliği, hem purinlerin hem de timidinin bozulmuş sentezine neden olduğu belirtilmiştir (Duthie, 1999).



Şekil 1. Kolorektal kanserde DNA metilesyonu

1.1.4 Kolorektal Kansere Çevresel Etkiler

Son 40 yılda yapılan epidemiyolojik çalışmalar, pozitif aile öyküsü, et tüketimi, sigara ve alkol kullanımı dâhil olmak üzere kolorektal neoplazi ile ilişkili başlıca risk faktörlerini belirlemeye yardımcı olmuştur. Bu çalışmalar aynı zamanda, hormon replasman tedavisi (HRT), steroidal olmayan anti-enflamatuar ileçlar (NSAID'ler) ve fiziksel aktivite gibi diğer faktörler ile birlikte, sebze alımı, kalsiyum ve folat durumu gibi diyet faktörleri dâhil olmak üzere, KRK'nin geliştirilmesine karşı birkaç koruyucu faktör belirlemiştir. Özellikle beslenmenin KRK insidansı üzerinde önemli bir etkisi vardır. KRK'nin geliştirilmesinde veya önlenmesinde rol oynayabilecek çeşitli gıdaların spesifik besinlerini ve bileşenlerini tanımlayan birçok çalışma bulunmaktadır. KRK vakalarının %50-80'ninde ise beslenme ile ilişkili olduğu bulunduğundan dolayı (Willett, 1995), epidemiyolojik çalışmalar ve KRK riski arasında bir bağlantı sağlamak için bu etkileşimlerin altta yatan moleküler temelini ve mekanizmalarını anlamak önemlidir. 1997 yılında Dünya Kanser Araştırma Fonu (WCRF, 1997), sebze içeriği yüksek beslenmelerin KRK riskini azalttığını bildirmiştir. Raporda ayrıca lif ve nişasta bakımından zengin beslenmenin muhtemelen riski azalttığı, yüksek et ve alkol içeriğinin ise riski artırdığı belirtilmiştir. Bu panelde, bu önerilere uymanın KRK'yi %66-75 oranında azaltabileceği ön görülmüştür. Benzer şekilde, Sağlık Politikasının Tıbbi Yönleri Komitesi (COMA, 1998) tarafından, daha az kırmızı ve işlenmiş et ve daha fazla sebze ve lif içeren besinlerin KRK riskinin azalmasıyla ilişkili olduğu ılımlı derecede tutarlı kanıtlar olduğu konusunda ihtiyatlı bir açıklama yapılmıştır. KRK'nin gelişmesi ve önlenmesi konusundaki bilgilerimiz, epidemiyolojik, hayvan, vaka-kontrol ve kohort çalışmaları dâhil olmak üzere çok çeşitli çalışmalardan gelmektedir. Gıda alımı ve gıdaların bileşimi hakkında güvenilir veri eksikliği, epidemiyolojik çalışmaları engellemektedir. Bu çalışmalarda kullanilen yöntemler, KRK riskini artırabilecek veya azaltabilecek besin bileşenlerini tanımlamak için oldukça kaba cihazlardır. Birbiriyle çatışan ve kafa karıştırıcı sonuçlar elde edilmiştir. Bu farklılıkların çoğu henüz çözülmemesine rağmen, bu verilerin yorumlanmasının belirsiz olabileceği belgelenmiştir (Willett, 2000).

1.2 Homosistein

1932 yılında Butz ve du Vigneaud tarafından keşfedildikten sonra, homosistein, (Hcy) aminoasitlerin metabolizmasında önemli bir ara ürün olarak gösterildi. Bununla birlikte, 1962 yılına kadar homosisteinin biyomedikal önemi hakkında çok az şey biliniyordu. Zekâ geriliği, hızlandırılmış büyüme, göz merceği çıkığı olan çocuklarda ve sık vasküler tromboz vakalarında idrarda homosistein salgilendığı bulunmuştu. Birkaç yıl sonra, homosisteinüri ve homosistein düzeyindeki homosistein düzeylerine neden olan, sistatiyonin-β-sintazın (CBS) genetik bir bozukluğu tanımlanmıştır (Mudd vd,. 1964). 1969'da Mc Cully, bu vakalarda düz kas proliferasyonu, progresif arter stenozu ve hemostatik değişiklikler dahil olmak üzere vasküler patolojiyi tanımladı. Ateroskleroz, kobalamin metabolizmasında genetik bir bozukluk ve sistatiyonin-β-sentaz eksikliği olan bir hastada yaygın bir özellik olduğu bulunmasına rağmen trombozun baskın olduğu son yıllarda belirlendi (Mc Cully, 1969). Homosistein, metiyoninin sindirilmesinden sonra karaciğer tarafından oluşturulan protein olmayan sülfür içeren aminoasittir. Hayvansal gıda proteinleri, bitki kökenli olanlara göre çok daha yüksek oranda oluşmaktadır. Çünkü hayvan kökenli proteinler, bitki kökenli olanlardan daha fazla metiyonin içermektedir. Homosistein, 135.2 Da molekül ağırlığına sahip kükürt içeren bir aminoasittir. Hcy proteini veya DNA içinde yer almaz ancak sülfür içeren aminoasit, metiyonin'den türetilen bir metabolik ara üründür (Tyrrell vd., 1997). Bu formların toplamı homosistein olarak adlandırılır. Homosistein bazen “homocyst(e)ine” olarak yazılır çünkü bu terim ölçülen tüm moleküler türleri daha net bir şekilde tanımlar. Homosistein için "Hcy" ve toplam homosistein için "tHcy" kısaltması, genel olarak plazma veya serum seviyelerine atıfta bulunulduğunda kullanılır. Rutin analizler, genellikle plazma veya serumda, bazen CSF'de, nadiren idrarda tHcy'yi ölçer. Serum konsantrasyonları, normal olarak analitik koşullara bağlı olarak plazma seviyelerinden biraz daha yüksektir. tHcy'nin farklı franksiyonlarının analizi (okside veya indirgenmiş, serbest veya bağlı) karmaşıktır ve sadece araştırma amacıyla kullanılır. Son yıllarda, plazma, serum ve CSF'de homosistein ölçümü için çeşitli testler geliştirilmiştir. Bir sonraki adım, günümüzde çoğu rutin laboratuarda homosisteinin belirlenmesine imkân veren enzim-immün testlerinin günümüzdeki uygulaması olmuştur. Üç enzim doğrudan Hcy metabolizmasına dâhil olur:

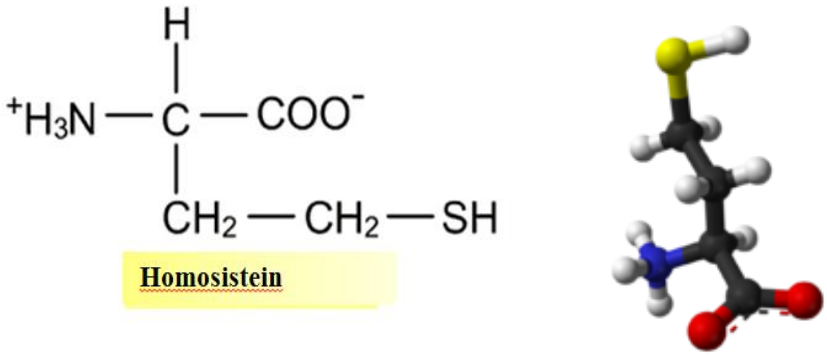
Metiyonin sentaz (MS), Betain homosistein metiltransferaz (BHMT) ve Sistatiyonin-β-sentaz (CBS). Diğer bazı enzimler dolaylı olarak dahil edilir. B6 ve B12 vitaminleri, bu enzimlerin kofaktörleridir ve folat, MS ortamlı reaksiyonda bir substrat olarak bulunurlar. Hcy'nin metabolizması, genetik bir enzim bozukluğunun neden olduğu ya da kofaktörlerin eksikliğinden kaynaklanan metabolizmadaki bozukluklardır. Normalde tHcy'nin hücresel bir birikimi ve dolaşımda sonradan seviyesinin artması ile sonuçlanır. Karaciğer ve böbreğin, homosistein alımını ve metabolizmasını sağlayan en önemli organlar olduğu düşünülmektedir. Bu görevler yakın zamanda gözden geçirilmiştir (Blom, 2000). Plazma tHcy değeri her iki KINsiyette de 6 µmol/L ortalama değerinda olmak üzere yaşamları boyunca yükselmektedir (Minniti vd., 2000). Ergenlik döneminde ise, bu değerler erkeklerde kadınlara göre daha fazla artmaktadır (Jacques vd., 1999). Aynı zamanda, tHcy değerleri ortalama değerden bir sapma dağılımı göstermeye başlar ve tHcy değeri 3-5 µmol/L değerlerine ulaşır. 40-42 yaşlarında, erkek ve kadınlar arasında yaklaşık 2 µmol / L'lik bir fark oluşur ve ortalama 9 µmol/L ortalama değerlerine sahip olur (Nygard vd.,. 1995).

KINsiyet farkı kısmen hormonal durum ile açıklanabilir (Morris vd., 2000). Erkeklerde göreceli kas kütlesi de, kreatif Hcy üretiminin oluşumu gibi bazı farklılıkları açıklayabilir (Mudd, 1995). Beslenme alışkanlıkları da bazen KINsiyetler arasında farklılığı doğurabilir (Refsum vd.,1996). Bu durumda kadınlarda tHcy düzeylerinin daha düşük olmasına neden olabilir. KINsiyetler arasında farklılık gösterebilecek psikolojik faktörler bile bu farklılıklara katkıda bulunabilir (Stoney ve Engehretsan, 2000). Beslenme ve diğer yaşam tarzı faktörleri, tHcy'nin önemli belirleyicileridir ve büyük ölçüde farklı toplumlar arasında neden tHcy düzeylerinin değiştiğini açıklayabilir. Örneğin, Fransız toplumunda, İrlandalılardan daha düşük olduğu görülmüştür (Malinow vd., 1996). Kanser hastalarında dolaşımdaki toplam homosistein (tHcy) yükselmesi, anti-folat ileçlarla tedavi edilmemiş olmasına rağmen gözlenebilir. Tedavi gören kanser hastalarından alınan seri örneklerde, tHcy değişiminin tümör belirteçleri ile çakıştığı görülmüştür. (Langman vd., 1999).

Tümör hücrelerinin hızlı çoğalması, dolaşımdaki daha yüksek tHcy konsantrasyonlarına neden olur. Hem tHcy hem de tümör belirteçlerinin derişimleri Tümör hücresinin büyümesi sırasında paralel olarak artar ancak sadece tHcy derişimi tümör hücre ölümüne yanıt vererek düşüşe geçer. Hiperhomosisteinemi ile ilişkili olarak folat eksikliği, oksidatif stres, anormal DNA metilesyonu ve homosistein tiyolakton üretimi dahil olmak üzere birçok biyokimyasal değişiklik tanımlanmıştır. Bu durum neden yüksek homosisteinin karsinojeneze yol açtığını açıklamaktadır. Bu varsayımdan yola çıkarak, tedavi sırasında kanser hastalarını izlemek için daha hassas bir tümör belirteçleri ve karsinojenez için bir risk faktörü olarak hiperhomosisteinemi olarak kullanilebileceği söylenebilir. (Özkan vd., 2007).

1.2.1 Homosistein Yapısı ve Biyokimyası

Homosistein, metiyonin demetilesyonuyla üretilen bir sülfhidril taşıyan aminoasittir. Karbon atomu ayrıca 3 hidrojen atomu taşır ve metilesyon denilen bir süreçte diğer moleküllere hızla aktarılır. Bu şekilde, metilesyon bir karbon atomunun metiyoninden diğer moleküllere aktarılmasını sağlar. Bu biyokimyada hayati bir süreçtir ve folik asit, kobalamin (B12), kolin, betain ve muhtemelen dimetilglisin gibi kofaktörleri gerektirir. Bunların hepsi metil gruplarının aktarımında görev alabilirler. Örneğin, metilesyon şu proseslerde gereklidir; kas enerjisi için kreatin oluşturulması, tüm vücutta hücre enerjisi için karnitin oluşturulması, hücre membranı stabilitesi ve kolesterol atılımı için taurin oluşturulması, bağ dokular ve eklem yüzeylerini korumak için glukozamin oluşturulması, hücre düzenlemesi ve hücre yapısı için fosfolipitler oluşturulması ve hücre büyümesi için spermin oluşturulması prosesleri. Şekil 2'de görüldüğü üzere, üç H ve bir C atomu içeren metil grubu organik kimyanın en küçük moleküllerinden biridir ancak diğer O, S, N ve H taşıyan C atomları elektronik bağ yapma yeteneğine sahiptir. Metil grubu, yaşam kimyasındaki en aktif aktörlerden biridir. Homosistein ise metil karbonlarını uygun reaksiyon bölgelerine taşıyan taşıma faktörlerinden biridir. Bu proseste, sadece kofaktör vitaminler, aminoasitler, mineraller ve enzimler dengede ise homosistein aminoasidi; metiyonin, sistatiyonin ve adenozil homosisteinine dönüştürülür,. (Mc Cully, 1969).



Şekil 2. Homosisteinin molekül yapısı

Doğal olarak oluşan proteinlerde yer alamayan homosistein, metiyonin ve sistein ile yakından ilişkili olan sülfür içeren bir aminoasittir. Metilesyon döngüsünde Organizmalarda bulunan homosistein, metiyoninin metabolizması sırasında oluşur. İndirgenmiş homosistein, redoks reaksiyonlarına katilebilen ve fizyolojik bir pH'da oto-oksidasyona duyarlı olan ve böylece iki homosistein molekülü (homosistin) veya sistein ile karışık disülfür arasında disülfit bağları oluşturabilen, yüksek derecede reaktif bir serbest tiyol grubuna sahiptir. Alternatif olarak, indirgenmiş homosistein, örneğin albümin gibi proteinlerle disülfür bağları oluşturabilir. Hücre içinde homosistein indirgenmiş olarak bulunur. Hücrenin dışa aktarılmasının tahmin edilen indirgenmiş homosistein taşıyıcı ile düzenlendiği bildirilmiştir (Bloom vd., 2000). İnsan vücudunda bulunan homosistein, iki aşamalı bir reaksiyonda, SAM (S-adenozil metiyonin) 'den oluşur ancak besin homosisteininin insanlara herhangi bir metiyonin kattığına dair bir işaret yoktur (De Bree vd., 2001, Morris vd.,. 2001). Metiyonin sentaz (MS) ve metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) gibi homosistein metabolizmasında rol oynayan diğer enzimlerdeki ciddi bozukluklar keşfedilmiştir. Tüm bu bozuklukların ortak noktası, homosisteinüri ve vasküler patolojinin yanı sıra zihinsel rahatsızlıklarda gözlenmesiydi (Rozen, 1996).

Homosisteinin çoğu, kandaki plazma proteinlerine bağlanır ve inaktif olarak kabul edilir. Serbest homosistein, kan damarlarını (endotel hücreleri) oluşturan hücrelere güçlü bir toksin olarak kabul edilir.

Toplam homosistein (tHcy) konsantrasyonu, hiperhomosisteinemide hesaba katılarak 12 μmol/L'den daha yüksek olarak kabul edilir. Kandaki özel proteinler ve hücrelerle etkileşime girerek kanın pıhtileşmasına neden olur. Bu nedenle, yüksek seviyelerde homosistein, spesifik sağlık sorunlarıyla ilişkilendirilir. Homosistein iki ana yolla metabolize edilir: Transsülfürasyon ve metilesyon. Normalde, homosisteinin yaklaşık %50'si, trans-sülfürleme yoluyla sisteine dönüştürülür. Homosistein, sistein ve α-ketobutirat bağlı olan sistatiyonin oluşturmak için serin formu ile yoğunlaşır. Geri kalan %50'si ise yeniden metillenir ve bir karbon metabolizmasının önemli bir bileşenini simgeleyen metiyonini oluşturur (Yi vd., 2000).

Homosistein ($O^{\bullet-}_2$) süper oksit ve hidroksil radikali (•OH) oksidasyonunda, hem endotel hücre yüzeyinde hem de plazmadaki lipoprotein partiküllerinde meydana gelen bir etki olan lipit peroksidasyonunu başlatır. Bu nedenle, sistein vasküler hücreler ve düşük yoğunluklu lipoproteinin yükseltgeme yetenekleri yardımıyla $O^{\bullet-}_2$ üretimi gerçekleştirilir. Böylece Hcy konsantrasyonu, okside düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) konsantrasyonu ile pozitif korelasyon gösterir. Hiperhomosisteinemi (HHcy) hastaları genellikle lipit peroksidasyonunun nihai ürün düzeyinin artmasına ve LDL oksidasyonuna karşı artan bir duyarlılığa sahiptirler (Abu-lebdh vd., 2006).

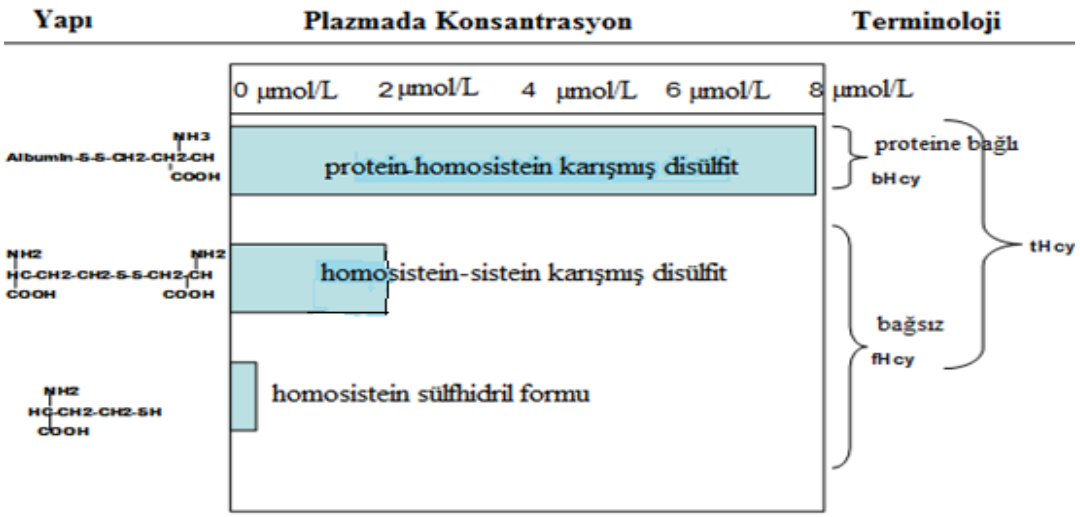
SAM, vücut boyunca kimyasal reaksiyonlar sırasında metil gruplarını sunma yeteneğinden dolayı değerlidir. Artriti tedavi etmek için kullanilen ve homosistein seviyelerini düşüren mükemmel bir madde olan faydalı bir doğal antidepresandır. SAM, metiyonine geri dönüştürülebilir veya trans-sülfürleme yoluyla sistein veya taurine dönüştürülebilir. Diğer bir hayati kimyasal ise, vücudun en iyi yaşlanma geciktirici ajanlarından biri olarak düşünülen ve detoksifiye edici olarak çalışan glutatyon denilen SAM'den üretilir. Düşük glutatyon seviyesi ile artan ölüm riski ilişkilendirilmiştir. Sağlıklı bir yaşamın anahtarı, homosistein düzeyini ve glutatyon seviyesini yükseltmektir (Morris vd., 2001). Bir kofaktör olarak hareket eden B6 vitamini türevi (piridoksal 5-fosfat), sistatiyoninin sistein ve α-ketobutirik aside dönüşümü için gereklidir. Aşırı metiyonin varlığında, Hcy, transsülfürleme yoluyla metabolize edilir. Düşük metiyonin seviyesi durumunda ise homosistein çoğunlukla metiyonine dönüşür (Hvas v., 2004).

Plazmada, serbest indirgenmiş formda normal olarak sadece %1 oranında homosistein bulunur. Plazma homosisteininin yaklaşık %70'i albümine bağlanır. Geri kalanlar, ağırlıklı olarak sistein veya homosistein ile dimer homosistin oluşturmak üzere disülfit bağı oluşturur. Bununla birlikte, *in vivo* çalışmalarda, farklı homosistein türlerinin oluşumu hakkında nispeten az veri elde edilmiştir (Blom, 2000).

1.2.2 Homosistein Formları

Plazmada, homosistein çeşitli şekillerde bulunur (Şekil 3). Plazma Hcy'nin yaklaşık %70-80'i esas olarak albümin olmak üzere plazma proteinlerine bağlıdır. Yaklaşık %20-30 serbest (bağlanmamış) franksiyon olup, homosistein (dimer olarak), homosistein-sistein karışık disülfid, homosistein tiyolakton ve yaklaşık %1'i serbest indirgenmiş (sülfhidril) olmak üzere serbest oksitlenmiş formlardan oluşur. (L.J vd., 1999). Kan alındığında, numuneler hemen dondurulsa bile serbest Hcy proteine bağlanır ancak bu plazmada tHcy ölçümünü etkilemez (Refsum vd., 1985).

Serbest ve proteine bağlı Hcy ve onun disülfürü, genel olarak toplam homosistein (tHcy) veya homosist(e)in olarak adlandırılır. Ağır hiperhomosisteinemide (>100 nmol/1), albüminin homosistein bağlanma kapasitesi aşıldığında, indirgenmiş formlar % 20'ye kadar tHcy oluşturabilir. (Ueland vd., 1996).



Şekil 3. Plazmadaki Homosistein Formları

1.2.3. Homosistein Normal Değer Aralıkları

Klinik test laboratuarları, sağlıklı bir insanda 5-15 μmol/L değerleri aralığında bir homosistein değeri dikkate alınır. Yaşam süresini uzatma adına, optimal sağlık için 15 μmol/L değerinin üst sınırın çok yüksek olduğuna inanmaktadır. Çalışmalar, yetişkinlerde homosistein ≥6.3 μmol/L ve üzeri değerlerinde ateroskleroz riskinin (Homosistein Çalışmaları İşbirliği), kalp krizi ve felç vakalarının arttığını göstermektedir (Broxmeyer, 2004). Kandaki homosistein değerleri yaşa bağlı olarak artabilir (Elias, 2005). Bunun sonucu olarak, sigara (Targer, 2000), alkol (Sakuta 2005) ve kahve tüketiminin (Carlsen, 2005), obezite (Guzelmeric, 2007) artması ve fiziksel aktivite düzeylerinin azalmasına (Nygard, 1995) bağlı olarak B12 vitaminini absorbe etme kabiliyeti (Zeng 2003), böbrek fonksiyonunun kötüleşmesi (Mann 2008), gözlenebilir ve bunlara ileveten genetik olarak metil tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) 'de MTHFR C677T varyantı olarak bilinen bir genetik polimorfizmi de benzer etkileri gösterir (McNulty, 2008).

Elli yaş üzerinde, homosistein değeri 8 μmol/L altında olması beklenir. Diğer faktörlere bağlı olarak, sağlıklı bir kanda uygun seviyede homosistein elde etmek için normalden fazla B vitamini alımına gereksiniminiz olabilir. Yayınlanmış çalışmalardan elde edilen veriler, homosistein için güvenli "normal aralık" olmadığını ortaya koymaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar, daha yüksek homosistein düzeylerinin "normal" olarak kabul edilen seviyelerde bile daha yüksek riskle ilişkili olduğunu göstermiştir (Robinson, 1995).

On binlerce vaka üzerinde otuz yılı aşkın bir süredir yaşam süresi uzatma üzerine yapılan çalışmalar, homosistein değeri için 8 μmol/L derişiminin altında bir seviyede olması gerektiğini önermektedir. Bu eşik hedefinin, B6, B12, folat, TMG ve diğer homosistein düşürücü besin maddelerinin optimum miktarlarda alındığı durumlarda gerçekçi bir hedef olduğunu kabul edilmektedir (McLean, 2004). Tablo 1'e göre homosistein düzeyleri genellikle erkeklerde kadınlardan daha yüksektir ve yaşla birlikte artmaktadır. Batı toplumlarındaki yaygın düzeyler 10-12 μmol/L aralığındadır ve düşük B-vitamin tüketimi toplumlarda veya yaşlılarda 20 μmol/L seviyelerine erişebilir (Refsum, H vd., 2006).

Tablo 1. *Homosisteinin kandaki referans aralıkları*

KINsiyet	Yaş	Alt Limit	Üst Limit	Birim	Yükseklik	Terapötik Hedef
Kadın	12–19 yaş	3.3	7.2	µmol/L	> 10.4 µmol/L	< 6.3 µmol/L
	>60 yaş	4.9	11.6	µmol/L		
Erkek	12–19 aş	4.3	9.9	µmol/L	> 11.4 µmol/L	
	>60 yaş	5.9	15.3	µmol/L		

1.2.4 Homosisteinin Metabolizması

1.2.4.1 Homosistein Kaynakları ve Biyosentezi

İnsan vücudunda kullanilen homosistein kaynağı, metiyonin açısından zengin proteinli gıdaların alınmasından sonra karaciğerin oluşturduğu diyetten elde edilen değildir. Sindirilen metiyonin homosistein üretimi için bir metil grubunun ($-CH_3$) uzaklaştırıldığı hücrelere ve kan dolaşımına alınır (Selhub vd., 1999). Bunun yerine, metiyoninden çok adımlı bir işlemle biyosentez yapılır. Birinci adımda, metiyonin, *S-adenozil metiyonin* (SAM) verecek şekilde, S-adenozil-metiyonin sentaz tarafından katalizlenen bir reaksiyon olan ATP'den bir adenozin grubu alır. Ardından, SAM, metil grubunu bir alıcı moleküle, yani (epinefrin sentezi sırasında bir alıcı olarak bir norepinefrin, DNA metilesyonu süreKINde bir ara alıcı olarak DNA metiltransferaz) transfer eder. Adenozin daha sonra L-homosistein verecek şekilde hidroliz olur. L-homosistein iki temel dönüşüm gerçekleştirir; tetrahidrofolat (THF) üzerinden L-metiyonin'e dönüşümü ve Sistatyonin β-sentaz (CBS) ile katalize edilen homosistein ve serinin yoğunlaştırılmasından sonra sistatyonin yoluyla L-sistine dönüşür ardından bu aminoasitler sisteine dönüştürülür (Mudd vd., 2001).

Transmetillemenin metabolik yolu

İnsanlarda Hcy'nin bilinen tek öncüsü olan metiyonin gıda proteinlerinden ya da metiyonin adenoziltransferaz ile katalize edilen bir reaksiyonda metiyoninin ATP ile enzimatik yoğunlaştırılmasından oluşan iki ara ürün S-adenozilmetiyonin (SAH) vasıtasıyla Hcy'ye transmetilleme yolu ile Hcy'den elde edilir ve S-adenozilmetoksin, S-adenozilmetiyoninin, bir metil grubunun üretilmesi ile oluşturulan, vücuttaki çeşitli

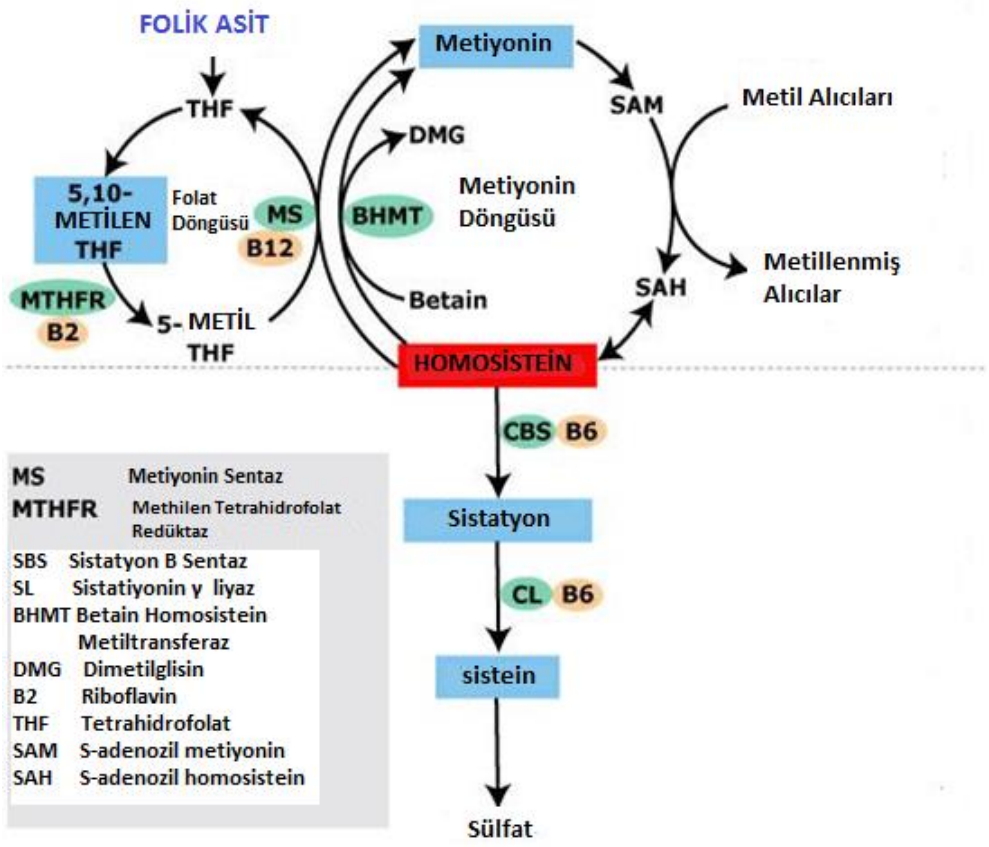
metil akseptörler tarafından kullanılmak üzere, hücresel metilesyon gereksinimlerinin yaklaşık olarak %80'ini tedarik eder.

Transsülfürlemenin metabolik yolu

Transsülfürleme mekanizmasında, oluşturulan Hcy'nin yaklaşık %47'si serin ile geri dönüşümsüz bir şekilde, sistatiyonin ß-sentaz ile katalizlenen bir reaksiyonda, bir kofaktör olarak B6 vitamininin aktif metaboliti olan pridoksal 5'-fosfat ile sistatiyonin meydana getirecek şekilde yoğunlaşır. Sistatiyonin, sistein ve α-ketobutirat oluşturmak için bir ikinci piridoksal 5'-fosfat bağımlı enzim olan p-sistatiyonion ile hidrolize edilir. Aşırı sistein, daha sonra glutatyona bağlanabilir veya taurin ve inorganik sülfata yükseltgenebilir veya idrarla dışarı atılabilir (Mudd., 2001).

Tekrardan metillemenin metabolik yolu

Tekrardan metillemenin metabolik yolunda, metiyonin sentazı (5'-metiltetrahidrofolat-homosistein metil transferaz) ile bir kofaktör olarak B12 vitamininin aktif formu olan metilkobalamin ile katabolize edilen bir reaksiyonda metil grubu donörü olarak folik asidin aktif formu olan metiyonine metillenerek geri dönüşür. Bu reaksiyon tüm dokularda ortaya çıkar. Şekil 4' e göre betain (trimetilglisin) betain-homosistein metiltransferaz ile katalize edilen bir reaksiyonda metil grubu vericisi olarak görev yapabilir. Bu reaksiyon esas olarak karaciğerde (ve insanlarda böbreklerde) oluşur (McKeever vd., 1991). B12 vitaminine ve folata bağlıdır (Finkelstein, 1990). 5'-metiltetrahidrofolat, 5',10-metiltetrahidrofolatın, 5,10-metilenetetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi tarafından, flavin adenin dinükleotid (FAD) formunda bir kofaktör olarak riboflavin ile katalize edilen bir reaksiyonda oluşturulmaktadır (Mudd v., 2001). HHcy ve/veya homosisteinüriye yol açan bu mekanizmaların bozulması, enzimatik eksiklikten ya da mikrobesin eksikliklerinden kaynaklanabilir (Selhub vd., 1993).



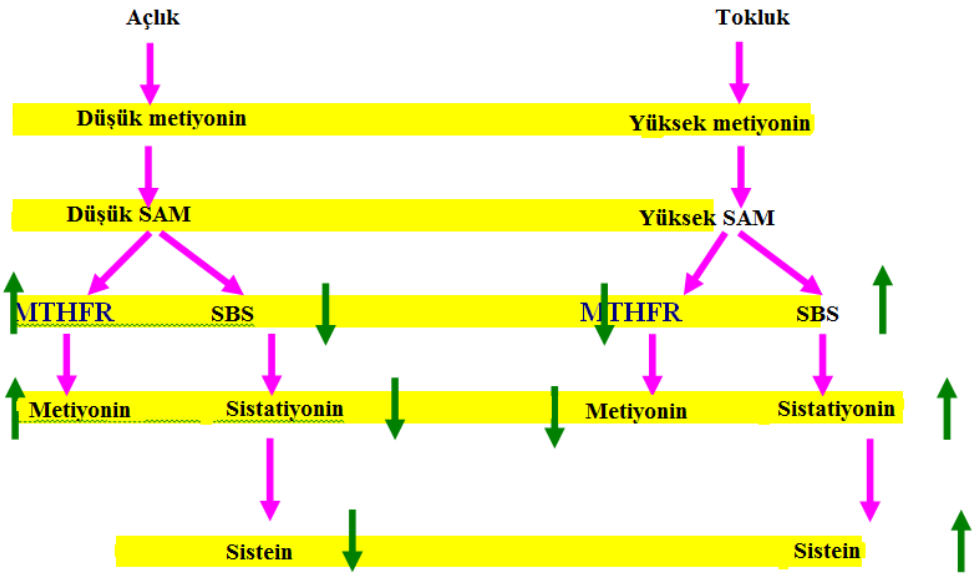
Şekil 4. Metiyonin-Homosistein metabolizması

1.2.4.2 Homosistein yıkımı (katabolizması)

CBS ve sistatiyonazın sistein üretmek için ardışık etkisi ile homosistein tersinmez yıkımı (katabolizması) büyük ölçüde karaciğer ve böbreklerde gerçekleşir, ancak bunun dışında birkaç başka dokuda da meydana gelebilir. Enzime bağlı B6 vitamininde doğuştan gelen kusurlar homosisteinüriye neden olur ve bu durum vasküler hastalıklara homosistein artışını bağlayan ilk kanıtlardan biri olmuştur. CBS, hiperhomosisteinemi ve kardiyovasküler hastalık arasındaki bağlantı bir derleme çalışmasında ayrıntılı olarak tartışılmıştır. Bu çalışmaya göre, özel beslenme şekilleri ile kombine edilen yetersiz CBS vurgusu iyi tanımlanmış ters vasküler çıktilerla sonuçlandığı ifade edilmiştir (Dayal, 2008).

1.2.4.3 Homosistein metabolizmasının düzenlenmesi

S-adenozilmetiyonin, hem transsülfürleme hem de tekrar metilleme mekanizmalarını düzenleyerek plazma tHcy'nin temel belirleyicisi olarak görev yapar (Şekil 5). Tekrar metilleme, açlık durumunda aktif ve bazal Hcy seviyelerini belirlemekten sorumlu olmasına rağmen transsülfürleme mekanizması yüksek protein ile beslenmede olduğu gibi metiyonin yüklenmesinden sonra baskın olur. Protein alımı sonrası yüksek düzeyde S-adenozilmetiyonin, N^5,N^{10}-metilentetrahidrofolat redüktaz (N^5,N^{10}-MTHFR) enziminin inhibe edilmesine ve sistatiyonin-β-sentazın (CBS) uyarılmasına beden olarak trans-sülfürleme mekanizmasını desteklerken, s-adenozilmetiyonin seviyesinin düşük olmasına neden olmasına rağmen açlık durumunda, N^5,N^{10}-MTHFR'nin uyarılmasına ve tekrardan metilleme mekanizmasını desteklemek için sistatiyonin-β-sentaz inhibisyonuna neden olur (Selhub v., 1993).



Şekil 5. Homosistein metabolizmasının düzenlenmesi

1.2.5 Homosisteinin bağışıklık sistemi hücrelerine etkileri

Dolaşımda yüksek düzeyde Hcy bulunması, bağışıklık sisteminin hücrelerini de etkileyebilir. T hücreleri gibi monositlerin ve lenfositlerin, endotelyal hücrelere

yapışmalarının, yağ şeritlerinin oluşumu ve ateroskleroz gelişimi ile ilişkili inflamatuar süreçlerin başlatılmasında ve geliştirilmesinde önemli bir adım olduğu düşünülmesine (Gerrity, 1980) rağmen nötrofil gibi polimorfonükleer hücrelerin endotelyal hücrelere adhezyonu akut iltihaplanmanın temel kanıtıdır (Issekutz vd., 1980). Ayrıca aktive edilmiş monositler ve makrofajlar tarafından üretilen interlökin (IL)-1, tümör nekroz faktörü (TNF) ve interferonu da kapsayan bazı enflamatuar sitokinleri, endotelyumun endotele çekimine ve adezyonuna aracılık eden kemokinlere, diğer sitokinler ve endotelyum lökositlerin çekiciliğini ve yapışmasını sağlayan adezyon moleküllerinin olumlu yönde düzenlenmesine neden olabilir (Collins, 1993). Hcy, enflamatuar sitokin IL-8 ve monosit kemoatraktan protein-1'in salımının yanı sıra, nötrofillerin endotelyal hücrelere yapışması (Dudman vd., 1999) gibi enflamatuar süreçleri teşvik ettikleri *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla gösterilmiştir (MCP-1). Bununla birlikte, inflamatuar sitokin uyarımı altında Hcy'nin monosit ve T-hücre etkileşimleri üzerindeki etkisi hakkında nispeten az bilgi sahibiyiz. In vitro bir çalışmada, Hcy'nin, endotelyal hücre adezyon moleküllerinin sitokinle uyarılmış ekspresyonunu ve endotelyal hücrelere monosit ve T hücresi yapışmasını güçlendirdiği, Hcy'nin aterosklerozun patojenezine katkıda bulunabileceği mekanizmalarının olduğu gösterilmiştir (Jacobsen DW, Poddar R. 1998).

1.2.6. Homosistein toksisitesi

Uzun yıllar alan çalışmalarla, Hcy toksisitesine odaklanan farklı hipotezler geliştirilmiştir. Ancak, bu hipotezlerden hiçbiri Hcy biyotoksisitesini açık bir şekilde açıklayamamaktadır. Literatürde, Hcy biyotoksisitesinin üç temel mekanizması ön plana çıkmaktadır: Homosisteinleme olarak bilinen protein yapı modifikasyonları, oksidatif stres indüktiflemesi ve eksitotoksisite.

Homosisteinleşmeyi tetikleyen homosistein

Hcy toksisitesi, bu bileşiğin proteinlere kovalent bağlanarak işlevlerini değiştirmesine dayandırılmıştır. Bu süreç homosisteinleme olarak adlandırılır ve proteinlerin translasyon sonrası modifikasyonu olarak kabul edilir. Protein homosisteinleme derecesi, plazma Hcy'nin seviye artışı ile orantılıdır (Perla-Kaján, 2007). S-homosisteinleme, Hcy'nin serbest tiyol grubundan bir protein

molekülündeki bir Cys'den ayrilen molekül kalıntısından elde edilen bir başka serbest tiyol grubuna bağlanması ve disülfit bağı yapmasıyla meydana gelir. Bu değişiklikler, proteinlerin tiyol bağımlı redoks durumu üzerinde güçlü bir etkisi vardır. N-homosisteinleme, Hcy-tiyolaktonun (Hcy-TL) yüksek reaktivitesinin bir sonucu olduğu deneysel çalışmalarla göstermiştir (Jakubowski vd., 1999). N-homosisteinleme, çoğunlukla yeni serbest tiyol gruplarının tepkimesiyle proteinlerin işlevini etkiler ve serbest amino gruplarının inaktivasyonu, proteinlerin toplam redoks potansiyelini ve bunu takiben artan oksidatif stresi etkiler (Petras vd., 2014). N-homosisteinlemenin patolojik etkileri büyük olasılıkla endoplazmik retikulum baskısı ve ileri düzeyde protein yıkımı nedeniyle hücre zehirlenmesi ile sonuçlanabilir (Sharma vd., 2015).

Homosistein ve oksidatif stres

Önerilen ilk hipotezlerden biri, Hcy tiol grubunu içeren redoks reaksiyonlarında oluşan hidrojen peroksidin (H_2O_2) bu bileşiğin toksisitesinden sorumlu olduğunu gösterdi. Oksidatif stres, reaktif türlerin üretiminin artması ile indirgenmiş antioksidan seviyeleri arasında bir dengesizlik olarak tanımlanmaktadır (Timkova vd., 2016).

Oksidatif stres, plazma proteinlerine, çoğunlukla albümin, diğer düşük moleküler kütleli plazma tiyollerinin veya ikinci bir Hcy molekülünün disülfür bağı oluşturarak Hcy'nin serbest tiyol grubunun oksidasyonu sırasında üretilir. Hcy molekülü reaktif oksijen türlerinin üretimini arttırır. Diğer moleküllerden elektronları çıkarabilen ve sonraki endotelyal disfonksiyona yol açabilen lipitlerin, proteinlerin, karbonhidratların ve nükleik asitlerin oksidasyonunu indükleyebilen hidroksil radikalleri oluşturabilirler (Faraci vd., 2004). Hcy metabolitlerinin oto-oksidasyonu, güçlü oksitleyici ajan H_2O_2'nin birikmesine yol açar. Nöronların nekrotik ölümü, Hcy metabolitleri ile hücrelerin uzun süreli inkübasyonu tarafından tetiklenir (Boldyrev vd., 2014). Oksitlenmiş biyomoleküllerin birikmesi, birçok hücresel mekanizmanın biyolojik işlevlerini değiştirir. Hcy kaynaklı oksidatif stres için çeşitli mekanizmalar önerilmiştir:

1- Hcy otoksidasyonu.
2- Hücrelerdeki antioksidanların enzimatik aktivitesinin inhibisyonu.
3- Endotelyal yüzeylerden hücre-dışı süperoksit dismutazın bozulması.
4- NADPH oksidazlarının aktivasyonu.
5- Süperoksit anyonun, nitrik oksit sentaz (NOS) bağımlı üretimi (Lehotsky vd., 2015).

Ayrıca, reaktif oksijen türleri ve oksidatif stres, nitrik oksit ve süperoksit radikal reaksiyonunun bir indikatörü olan nitrotirozinin oluşumuna yol açar ve bu da tirosin nitrasyonuna yol açan güçlü oksidan peroksinitrit oluşumuna ve protein fonksiyonundaki değişime neden olur ve hücresel fonksiyon bozukluğunu indükler (Postea vd., 2006).

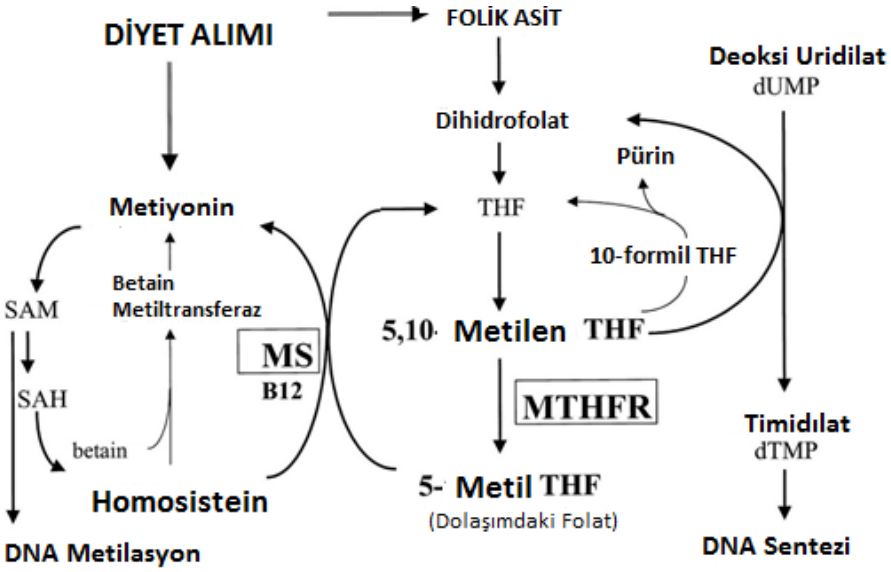
Bir nörotoksin olarak homosistein

Hcy'nin beyin dokusu üzerindeki toksik etkisi, Hcy eliminasyonu için başlıca metabolik yolların iki tanesinin eksikliğinden kaynaklanır: Hcy'den metiyonine betain aracılı dönüşüm ve Hcy'nin sisteine transsülfürlenmesi. Ayrıca, Hcy molekülü, N-metil-D-aspartat reseptörü (NMDA) yanısıra hem glutamat reseptörleri (metabotropik gruplar (I ve III grupları)) hem de iyonotropik (α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropiyonat (AMPA)) reseptörleri için bir agonist görevi görür (Boldyrev vd., 2014). Bu reseptörlerin aşırı uyarılması, artan sitoplazmik kalsiyum düzeyi, daha yüksek serbest radikal üretimi ve apoptoza yol açan kaspazların aktivasyonu ile sonuçlanır (Mattson vd., 2003). Nöronal hücrelerin Hcy bağlı NMDA reseptör indüksiyonu, hücre dışı sinyal düzenlenmiş kinazların (ERK'ler), mitojenle aktive olmuş protein kinazın (MAPK) ve p38 MAPK'ın geçici aktivasyonuna bağlı olarak ölümlerine yol açabilir (Kovalska vd., 2015). Sadece nöronal hücreler Hcy'nin toksik etkilerine maruz kalmamakta aynı zamanda gliyal hücreleri de etkilemektedir (Skovierova vd., 2015). Astrositlerin beyin homeostazındaki önemi, nörojenezde yardımcı olmak, beynin merkezini oluşturan gri maddenin mikro yapısında ve aynı zamanda enerji metabolizmasında belirlemede de iyi bir şekilde belgelenmiştir (Verkhratsky vd., 2006). Hepsinden de öte, HHcy çoğunlukla hücre içi Ca^{2+} mobilizasyonu ve ardışık apoptotik olayların gelişmesini takip eden endoplazmik retikulum stresi, beyin parankimi ve endotel disfonksiyonunda hücre dışı matriksin

yeniden şekillenmesi ile sonuçlanır. Hcy'nin kendisinin kan-beyin bariyerini (BBB) kesintiye uğrattığını kanıtlamıştır (Kamath vd., 2006).

1.2.6.1 *DNA metilleme seviyesine homosisteinin etkileri*

DNA'nın tekrardan metillemesi ve DNA transmetillemesi reaksiyonlarında yer alan S-adenozilmetiyonin (SAM) metil grubu donörünün öncüsü olan metiyonini üretmesinin sonucu olarak homosistein, DNA metilleme seviyesini etkilemektedir (Şekil 6) (Laird, 2003). İlave mekanizmalar DNA sentezi ve onarımını sağlamak amacıyla timidilet gibi nükleotitlerin mevcudiyetinde değişikliklere yol açan folat-bağımlı reaksiyonları içerebilir (Das vd., 2004).



Şekil 6. DNA metilleme seviyesine homosisteinin etkileri

Son olarak, katekol östrojenleri (CEs) gibi çeşitli katekol substratlarının katekol-O-metiltransferaz (COMT) aracılı metilleme metabolizmasının kuvvetli bir inhibitörü olan S-Adenozil-L-homosisteinin metabolik birikimi yoluyla patojenik etkilerini gösterebilir. Hedef organlardaki katekol östrojenlerinin metillemesi güçlü bir antianjiyojenik ve antikanser ajanı olan 2-metoksiöstradiol oluşumunun azalmasından ve prokarsinojenik 4-hidroksiöstradiolün birikiminin artmasından sorumludur. Bunun sonucunda, hedef organlarda östrojen kaynaklı hormonal kanserin gelişmesine yol açar (Zhu, 2002).

1.2.7 Homosistein seviyesinde genetik olmayan faktörlerin etkisi

Genetik olmayan faktörler de, plazma tHcy düzeylerinin belirlenmesinde rol oynar. Bu faktörleri belirleyen beslenme içeriği (folat, B6 vitamini ve B12 vitamini dâhil), böbrek fonksiyonu, sigara içimi ve kahve tüketimini kapsar. Daha az bilinen diğer faktörler ise, etnik soy, fiziksel egzersiz, arteriyel hipertansiyon ve hiperkolesterolemi de dahil olmak üzere plazma tHcy seviyelerini etkileyebilir (Kraus vd., 1999).

1.2.7.1 Fizyolojik Faktörler

KINsiyet, plazma tHcy düzeylerinin önemli bir belirleyicisidir ve plazma tHcy düzeyi erkeklerde kadınlardan daha yüksektir (Estrada vd., 2001). Plazma tHcy seviyesi menopoz sonrası kadınlarda menopoz öncesi kadınlara göre daha yüksektir. Buna rağmen aynı yaşlardaki erkeklerin seviyesinden daha düşüktür. İki KINsiyet arasındaki hormonal profil farkı bu durumu açıklamaya faydalı olmamasına rağmen, iki KINsiyet arasındaki vücut kas kütlesi farkı bu çeşitliliği açıklamaktadır. Hcy düzeyleri her iki KINsiyette de yaşla birlikte artmaktadır (Nygard vd., 1998). Bu mekanizmalar da belirsiz olmakla birlikte, bu durum Hcy metabolizmasında rol oynayan enzimlerin giderek azalan aktivitesine, beslenme eksikliklerine, hormonal değişikliklerin ilerlemesine veya yaşla birlikte fizyolojik fonksiyonların azalmasına bağlı olabilir. Sigara kullanımı, plazma tHcy düzeylerinin temel yaşam aktörü olarak bildirilmiştir (Nygard vd., 1998). Bunun altında yatan mekanizma da net değildir ancak dolaylı olarak beslenmeyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Oshaug vd., 1998). Arteriyel hipertansiyon (Tyrrel vd., 1997), egzersiz eksikliği, hematokrit değeri, ürik asit, kolesterol konsantrasyonu (Nygard vd., 1995) ve albümin seviyesi de plazma tHcy düzeylerinin belirleyici faktörü olarak rol oynamaktadır (Kang vd., 1986).

1.2.7.2 Beslenme faktörleri

Beslenme biçimi plazma Hcy seviyelerini önemli ölçüde etkiler. Beslenme homosistein için zengin bir kaynak değildir ancak Hcy sentezinde önemli bir rol oynar. Gerçekte ise, Hcy'nin dolaşımdaki plazma seviyeleri, doğrudan metiyonin alımı ve B-vitamini tüketimiyle ters orantılıdır (Segel vd., 1995). Hayvansal

proteinler açısından zengin olan beslenme rejimi, bitkisel proteinler açısından zengin olanlara göre daha fazla metiyonin içeriğine sahiptir. Buna ek olarak, taze meyve, yeşil sebzeler ve vitamin takviyelerinin yüksek alımı, plazma tHcy düzeylerinin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir (Kushi vd., 1995). En önemli vitaminler arasında, plazma tHcy düzeylerinin önemli bir belirleyicisi olan folik asit bulunmaktadır. Bu nedenle plazma tHcy folat eksikliğinin erkenden uyaran hassas bir biyolojik belirtecidir. Plazma tHcy düzeylerinin serum ve kırmızı hücre folat konsantrasyonu ile ters orantılı olduğu bulundu (Mezzano vd., 2001). Vitamin B6 temel olarak plazma tHcy seviyelerinin derecesini etkilerken, açlık durumunda tHcy seviyeleri B6 vitamini eksikliğinden etkilenmez (Fonseca vd., 1999). B12 vitamini, Hcy metabolizmasının tekrardan metilleme metabolizmasında önemlidir ve HHcy, B12 vitamini eksikliği durumunu erken uyarıcısı olarak kabul edilir. Alkol tüketimi yüksek plazma tHcy seviyeleri ile ilişkilendirilirken, alkol tüketiminin etkisi net değildir ancak bira tüketimi, biraların yüksek folat içerikleri nedeniyle plazma tHcy seviyelerini azalttığı söylenebilir (Cravo vd., 1996).

Norveç Hordaland Üniversitesinde yapilen geniş çaplı bir homosistein çalışmasında, sigara tüketimi, tHcy'nin daha yüksek değerlere erişme etkisine neden olduğunu göstermiştir. Günlük içilen sigara sayısı, Hcy düzeylerinin en güçlü belirleyicilerinden biri olarak tanımlanmıştır (Nygard vd.,.1995). Bu artışın, kadınlarda, bir günde tüketilen sigara başına ortalama % 1 oranında, erkeklerde ise yaklaşık % 0,5 oranında olduğu belirlenmiştir. (Kato vd., 1999). İngiliz orta yaşlı erkek grup üzerinde yapilen bir araştırmada, sigara içenlerde tHcy düzeyinde oldukça anlamlı bir artış olduğu ve seviyelerin folat durumuna göre anlamlı derecede farklılık gösterdiği bulunmuştur (Dekou vd., 2001). Sigara içen hem sağlıklı deneklerde hem de Kardiyovasküler hastalığı olan hastalarda (CVD), tHcy düzeyi yüksek ve folat ve/veya B6, B12 vitaminleri ise düşük seviyelerde olduğu belirlenmiştir (Cafolla vd., 2000). Sigara içmek, muhtemelen hem daha az meyve ve sebze tüketimi, hem de artan bir gereksinim nedeniyle vitamin içerikını zayıflatarak tHcy düzeyini arttırır. Ayrıca metilleme reaksiyonlarının doğrudan nikotin tarafından etkilendiğine dair bazı deneysel kanıtlar da vardır (Godin ve Crooks, 1986). Sigara dumanı ve metiyonin sentazdan (MS) elde edilen azotlu bileşikler arasında olası doğrudan bir etkileşim olduğu bir araştırma sonucunda belirlenmiştir (Bergman vd., 1997).

1.2.7.3 Renal fonksiyon

Böbrek, Hcy metabolizmasında önemli bir organdır (Bostom vd., 1995). Böbrek fonksiyonu ile ilişkili olabilen serum kreatinin ile tHcy düzeyi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (Mezzano vd., 2001). Ayrıca, plazma tHcy konsantrasyonunun glomerüler filtrasyon hızıyla yüksek korelasyon gösterdiği ve orta derecede böbrek yetmezliğinde ve böbrek fonksiyonlarında azalma durumlarında ise belirgin bir artış olduğu gözlenmiştir. Bu durum, glomerüler filtrasyon oranının, plazma tHcy seviyelerinin güçlü bir belirleyicisi olduğunu göstermektedir (Litwin vd., 1999).

1.2.7.4 Hormon seviyelerinde artma ve azalma

Bazı hormonlar plazma tHcy seviyelerini artırır ya da azaltır. Örneğin, östrojen Hcy düşürücü bir etkiye sahiptir, bu nedenle gebe kadınlarda plazma tHcy düzeyleri, gebe olmayanlara göre daha düşüktür ve menopoz öncesi kadınlara kıyasla, menopoz sonrasında da daha yüksektir (Wouters vd., 1995). Testesteron hormonunun ise plazma tHcy seviyeleri üzerinde ihmal edilebilir bir etkisi vardır.

Steroidler Hcy seviyesi üzerinde azaltıcı etkiye sahiptirler (Massy vd., 1994). Tiroid hormonları da plazma tHcy seviyelerini etkileyebilir. Hipotiroidili hastalar yüksek plazma tHcy seviyelerine sahipken, hipertiroidizm plazma tHcy düzeylerinde değişiklik göstermemektedir (Nedrebo vd., 1998). Şeker hastalığı olan vakalarda, hiperhomosisteinemi esas olarak diyabetik nefropati ile birlikte görülür. Birçok vakada, böbrek fonksiyonu korunursa, insüline bağlı şeker hastalığı, plazma tHcy seviyelerinin artması ile ilişkililendirilemez (Van Der Berg vd., 1996).

1.2.7.5 İlaçlar

Birçok ilaç plazma Hcy seviyelerini etkileyebilir (Tablo 2). Bazı etken maddeler, oral kontraseptif ve östrojen olarak Hcy düzeyi üzerinde düşürücü etkiye sahiptirler (Wouters vd., 1995). Diğerleri ise kortikosteroidler gibi davranarak plazma tHcy seviyelerini arttırabilirler (Massy vd., 1994).

Tablo 2. *Hcy seviyelerini etkileyen bazı ileçlar*

1-	Antikonvülsan ileçlar (fenitoin, karbamazpin, fenoparbiton, primidon
2-	Folat antagonistleri (metotreksat)
3-	B12 Vitamini antagonistleri (nitröz oksit)
4-	B6 Vitamini antagonistleri (izoniazid, teofilin)
5-	Tiazid Tipi diüretikler
6-	Siklosporin A
7-	Trimetoprim
8-	Kortikosteroitler
9-	Pirimetamin
10-	Kolesterol düşürücü ileçlar (kolestiramin, kolesTipol, nikotinik asit)

1.2.8 Genetik faktörler

Plazma tHcy düzeylerinin belirlemesinde, başlıca genetik anormallikler olmak üzere genetik faktörler rol oynamaktadır. Homosisteini metabolize eden enzimleri, sistatiyonin-β-sintaz ve metilen tetrahidrofolatı da kapsayan mutasyonlar, homosistein seviyeleri ve homosisteinüriyi belirlemek için en önemli genetik faktörlerdir. Sistatiyonin-β-sintaz geninde en az 92 farklı mutasyon tespit edilmiştir (Kraus vd., 1999).

Bu mutasyonların çoğunluğu fonksiyonel değildir. Diğer bir ifadeyle, mutasyon 1278T ve G307S, etkilenen gen çiftlerinden yarısından fazlasını temsil etmektedir. Heterozigot sistatiyonin β-sentaz mutasyonları genel nüfusun %0.5-1.5'inde görülür ve hücresel düzeyde enzim aktivitesinin düşmesinden dolayı plazma tHcy düzeylerinin ılımlı yükselmeleri ile ilişkilendirilebilir (Mudd vd., 2001). MTHFR geninde ondan fazla noktada mutasyon tanımlanmıştır (Goyette vd., 1994). Gen çiftlerinin üçte biri ile yarısı sıklığında rastlanan bir polimorfizm olan MTHFR geninin mutasyonlarından biri, alanin için valin sübstitüsyonuna neden olan nükleotid 677'nin uygun konumlarında C → T sübstitüsyonlarından kaynaklanır ve bu durum, aktivitesi azalmış enzimin termal olarak değiştirilebilen varyantı ile sonuçlanır. Bu mutasyona bağlı olarak yüksek plazma tHcy seviyeleri oluşabilir (Frosst vd., 1995). Metilentetrahidrofolat redüktaz enzimini kodlayan gende bir C677T polimorfizmi tanımlanmıştır (Kang vd., 1988). Bu polimorfizm, aktif folat

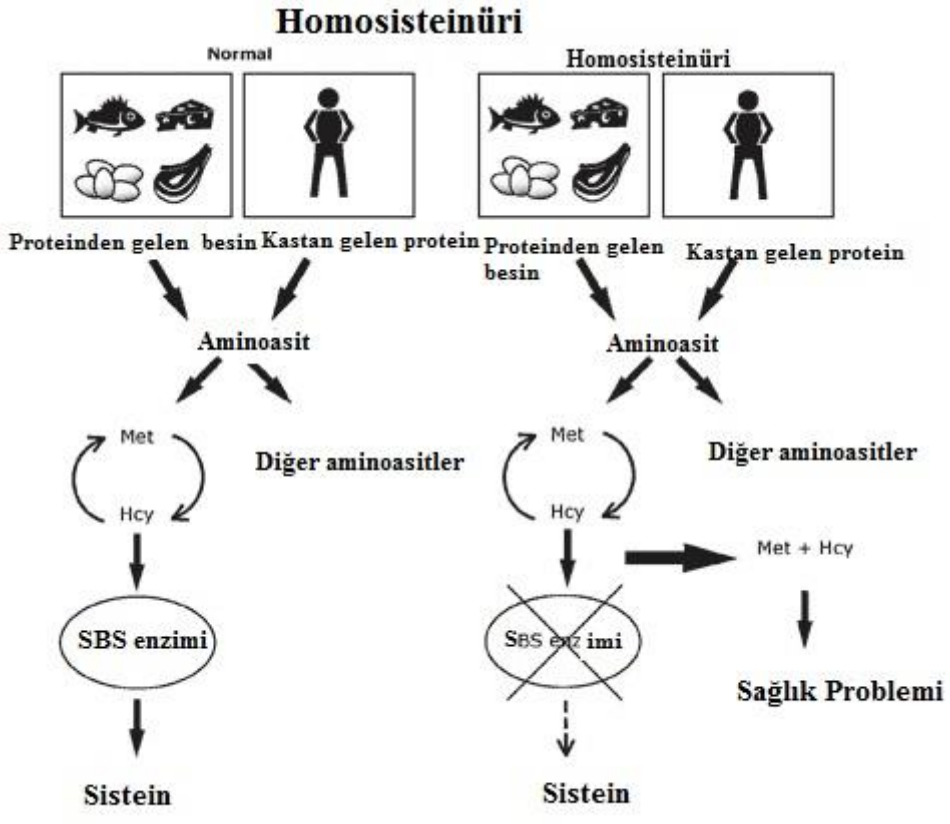
seviyesinde düşme ile sonuçlanan düşük enzim aktivitesine ve plazma tHcy seviyelerinde artışa neden olur. 677 nükleotid uzunluğundaki gende nokta mutasyonu sonucunda alanin kodonunu valine dönüştürerek, enzimin termolabil varyantı ile sonuçlanır. Aminoasit kalıntısı 429'un glutamatı alanine dönüştüren bir başka mutasyon olan A1298C polimorfizmi enzim aktivitesinin azalması ile ilişkilidir (Weisberg vd., 1998). A1298C polimorfizmi, sadece plazma tHcy seviyelerini etkilemez aynı zamanda MTHFR C677T polimorfizmi mevcut olduğunda da ılımlı bir etkiye sahip olabilir (Weisberg vd., 2001). Metiyonin sentaz geni de birçok mutasyona sahiptir ve bu polimorfizmler sadece A2756G polimorfizm gen çiftlerinin %18'inde iyi huylu etki gösterir ve plazma tHcy seviyelerinin artışı ile ilişkilidir (Van Der Put vd., 1997).

1.2.9 Homosisteinüri

Homosisisteinüri, metiyonin-homosistein metabolizmasında doğuştan gelen bir düzensizliktir ve kan ve idrarda tHcy konsantrasyonunun artması ile karakterize edilen kalıtsal bir hastalıktır. En az yedi farklı homosisteinüri Tipi tanımlanmıştır. Bunların hepsi otozomal resesif olarak kalıtsaldır. Bunlar arasında üç Tipi en önemlisidir:

Homosisteinüri Tip I (klasik homosisteinüri): Kalıtsal sistatiyonin-β-sentaz eksikliğinden kaynaklanan homosisteinüri Tipidir. Bu durum, en sık görülen HHcy'nin en yaygın genetik sebebidir. Bu enzimin geni, 21 kromozomunun uzun kolu üzerinde bulunur. Bu bozukluğun homozigot formu, açlık plazma tHcy konsantrasyonunun 400 μmol/L'ye kadar çıkmasına neden olabilir (Mudd vd., 2001).

Homosisteinüri Tip II: Metilkobalamin oluşumundaki bozukluklara bağlı olan homosisteinüri tipidir. Metokokobalamin, metiyonin sentez enziminin kofaktörü olup, Hcy'nin metiyonine yeniden metillenmesini katalize eder ve Homosisteinüri Tip III'den megaloblastik anemi varlığı ile ayırt edilebilir (Curran vd., 2000).



Şekil 7. Homosisteinüri

Homosisteinüri Tip III: Metilentetrahidrofolat redüktaz eksikliğine bağlı olan homosisteinüri tipidir. Bu, psikiyatrik semptomların geç başlaması ve nörolojik disfonksiyon ile karakterize edilen en şiddetli homosisteinüri biçimidir (Mudd vd., 1985). Metilentetrahidrofolat redüktazın aktivitesinin azalmasından dolayı, bir enzim N^5,N^{10}-metilenetetrahidro-folatı, Hcy'nin metiyonine metillenmesi için gerekli olan metil grubunu sağlayan N^5-metilenetetrahidrofolatı oluşturur. Bu enzimin geni, kromozom 1'in kısa kolunda bulunur. Bazı olgular folik asit, B12 vitamini, betain ve metiyonin takviyesine yanıt verir (Mudd vd., 2001).

1.2.10 Hipohomosisteinemi

Düşük homosistein düzeyleri çeşitli faktörlerin sonucudur. Metiyonin ve sistein aminoasitlerinin düşük alımı (metiyonin ağırlıklı olarak et proteininden gelir, bu yüzden et yemeyen veya çok az yiyen kişiler daha yüksek risk altında olabilir), MTHFR enziminin genetik olarak düşük olması, folat ve B12 vitaminlerinin yetersiz alımı veya faz II karaciğer reaksiyonu sülfasyonu yoluyla ksenobiyotiklerin artan

detoksifikasyonuna neden olabilir. Bu faktörler düşük homosistein seviyelerine bu durum da çeşitli klinik bozukluklara yol açacaktır. Kronik böbrek hastalığının kötüleşmesine yol açan yetersiz metiyonin alımında, yetersiz beslenme-enflamasyon-kaşeksi sendromunda hipo-homosisteineminin bir rol oynadığı gösterilmiştir. Bu homosistein hastanın hayatta kalma olasılığını belirlemede bir değişken olabilir. Hipohomosisteinemi aynı zamanda kardiyovasküler hastalıklarda aterosklerozun ilerlemesinin de bir nedenidir (Ganguly vd., 2015).

Folat ve B12 vitaminleri bakımından düşük beslenme alışkanlıkları da hipohomosisteinemiye yol açabilir. N^5,N^{10}-metilenetetrahidrofolatın yapısını oluşturan folat metilleme mekanizmasının önemli bir bileşenidir, bu nedenle folat, MTHFR enzimi tarafından katalize edilerek, bir metil grubunu, N^5,N^{10}-metilentetrahidrofolattan metiyonini oluşturan sisteine transfer edilmesi yoluyla SAM oluşumunu içeren transmetilesyon yolu için önemli bir substrat olacaktır. Folat, SAM seviyelerini düzenleyerek gen ekspresyonunun düzenlenmesinde çok önemlidir (Blom vd., 2011).

MTHFR eksikliği de vücutta düşük homosistein seviyelerine yol açabilir. Aynı zamanda, MTHFR, bir metil grubunun N^5,N^{10}-metilentetrahidrofolattan, homosistein oluşturan metiyonine transferinden sorumlu olan enzimdir. Genlerdeki bozukluklar, özellikle C677T gen polimorfizmi, 5-MTHF seviyelerinde azalma ile sonuçlanabilir ve hipohomosisteinemiye neden olur (Leclerc vd., 2013).

Hipohomosisteinemiye sahip olmanın etkileri, temel olarak, uzun süreli sistein kaybından kaynaklanır. Bununla birlikte, hipohomosisteinemi, GSH eksikliğine direnen serbest radikallerin artmasından kaynaklanan nedenle uzun süreli iltihaplanmalara neden olacaktır. Enflamasyon, kardiyovasküler sistemi, sinir sistemini, hatta böbrek sistemini etkileyebilecek çeşitli bozukluklara yol açabilir. Ateroskleroz, hastalığın iltihaplı yapısı nedeniyle önemli bir sorundur. Enflamasyon, beyinde yanlış protein katlanmasını indükleyerek Alzheimer hastalığına neden olur. Kronik böbrek yetmezliği tübüler sistemin iltihaplanmasının artmasına neden olabilir. GSH, oksidatif stresin etkilerini hafifletme, organlara verilen zararı önlemede önemli rol oynar. Bununla birlikte, GSH üretimini artması için homosistein varlığına büyük ölçüde ihtiyaç duyar (O'Leary vd., 2010).

1.2.11 Hiperhomosisteinemi

Hiperhomosisteineminin tanımlaması, çalışmalara göre farklılıklar gösterir (Faeh vd., 2006). Hiperhomosisteinemi, kanda homosisteinin anormal derecede yüksek bir seviyede (15 µmol/L üzerinde) olması ile karakterize edilen tıbbi bir durum olarak tanımlanmaktadır (Guo vd., 2009). İki Tip hiperhomosisteinemi vardır: bunlardan birincisi nadir görülen ancak ağır seyreden formudur ve homosistein metabolizmasında ve diğer formlarda yer alan enzimlerin majör genetik mutasyonlarından kaynaklanır. Daha sık görülen diğer türü ise, genetik ve çevresel faktörler gibi bir patojenezle ilişkili olarak orta derecede yüksek homosistein seviyelerine neden olur (Faeh. vd., 2006).

Hiperhomosisteinemi, homosistein metabolizmasında rol oynayan enzimlerin genetik bozukluklarından kaynaklanabilir. Söz konusu enzimlerarasında 5,10-metilen tetrahidrofolat redüktaz, metiyonin sentaz ve sistatiyonin-β-sentaz enzimleri sayılabilir (Curro vd., 2014). Diğer bir deyişle, fiziksel aktivite, orta derecede alkol tüketimi, yeterli seviyede folat ve B12 vitamini daha düşük homosistein düzeyleri ile ilişkilendirilir. Vejeteryanlar düşük plazma B12 seviyesi nedeniyle daha yüksek bir hiperhomosisteinemi riski taşıyor olabilirler ancak bu olumsuz fark çokta dikkate alınmayabilir (Shenov vd., 2014). Tablo 3'de görüldüğü gibi, hiperhomosisteinemi boyutu, açlık durumundaki plazma tHcy konsantrasyonuna göre aşağıdaki gibi hafif, orta ve şiddetli formlara ayrilebilir: 16-30 µmol/L arasında hafif, 31-100 µmol/L arasında orta dereceli ve 100 µmol/Lüzerinde ağır HHcy olarak kabul edilir (Kang vd., 1992).

Homosisteinüri genellikle tHcy değerleri 100 µmol/L'den fazla olan hastalarda görülür (Mudd vd., 2001).

Yukarıda hiperhomosisteinemiyi hafif, ılımlı ve şiddetli olarak sınıflandırıldığından bahsetmiştik ancak başka bir çalışmada bu sınıflandırmanın limitleri şu şekilde belirtilmiştir; 15-24 µmol/L arasında hafif, 25-100 µmol/L arasında orta dereceli ve 100 µmol/L'nin üzerinde şiddetli (De Stefano vd., 1996). Bununla birlikte, bu değerler kardiyovasküler hastalık gelişimi ile belirgin bir ilişki içinde değildir. Çünkü

açlık plazma tHcy konsantrasyonları 10-15 µmol/L arasında olan kişilerde de yüksek kardiyovasküler hastalık riski bulunmaktadır (Guba vd., 1996).

Tablo 3. *Hiperhomosisteinemi sınıflandırması*

	De Stefano vd.,.	Kang vd.,.
Normal plazma Hcy seviyeleri	5-15 µmol/L	5-15 µmol/L
Hafif hiperhomosisteinemi	15-24 µmol/L	-
Orta dereceli hiperhomosisteinemi	25-100 µmol/L	16-30 µmol/L
Orta üstü hiperhomosisteinemi	-	30-100 µmol/L
Ağır hiperhomosisteinemi	> 100 µmol/L	> 100 µmol/L

1.2.12 Homosistein seviyelerinden etkilenen hastalıklar

1.2.12.1 Kardiyovasküler hastalıklar

Deneysel bulgular, vasküler düz kas hücresi çoğalması, hafif hipertansiyon Hcy'nin aterosklerozu kolaylaştırmasına aracı olan önemli mekanizma olabileceğini düşündürmektedir. Klinik öncesi vasküler hastalıkların bir ölçüsü olan arteriyel intima-medyal duvar kalınlığının (IMT), çeşitli çalışmalarda tHcy ile anlamlı ve bağımsız ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Çeşitli çalışmalarda klinik öncesi vasküler hastalıkların bir ölçüsü olan arteriyel intima-medyal duvar kalınlığının (IMT), tHcy düzeyi ile arasında anlamlı ve bağımsız ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Hipertansiyonlu hastalarda, Hcy ve subklinik vasküler hastalık arasındaki ilişki daha güçlü olduğu görünmektedir (Malinow vd., 1993).

Brattstrom ve Wilcken bir çalışmalarında, böbreklerdeki aterosklerotik değişikliklerin Hcy metabolizmasını bozduğuna ve tHcy'de bir artışa neden olduğuna ve bu artışın sıklıkla rastlanan bir sonuç olabileceğine ve aynı zamanda da aterosklerozun bir sebebi olmayabileceğine belirtmişlerdir. Aynı zamanda, MTHFR geninin C677T polimorfizmi olan hastalarda ateroskleroz riskinin artmadığını gösteren bir meta-analize de değinmişlerdir. Son olarak da, şiddetli genetik bozukluklarda yüksek tHcy'nin, atardamarlardan daha ziyade damarları etkileyen bir primer trombotik bozuklukla ilişkisi olduğuna dikkat çekmişlerdir (Brattstrom ve Wilcken, 2000).

1.2.12.2 Diyabet hastalığı

Diyabet genellikle vasküler ve nörolojik komplikasyonlarla birlikte görülür ve hiperhomosisteinemi bu Tip komplikasyonları olanlarda, olmayanlara göre daha sık görülür. Bir çalışmada, Tip 1 diyabetli hastalar ve kontrol grubu karşileştırmasında, hem açlık hem de PML durumlarında tHcy düzeyi (12.0 μmol/L'ye karşı 7.7 μmol/L) anlamlı derecede arttığı görülmüştür. Normal aralığın üstünde olan hastaların (75 hastanın 26'sında), büyük oranda yüksek plazma trombomodulin seviyelerine sahip olduğu da görülmüştür. Aynı zamanda, normal aralıkta olan tHcy'li hastalarla karşileştırıldığında; nefropati 76 için %33, retinopati 69 için %51, nöropati için %57, makroanjiopati 57 için ise %33 daha yüksek olduğu gözlemlerine dayanarak geç dönem komplikasyonlarının daha yüksek rastlanilebilirliğe sahip olduğu belirtilmiştir (Hofman vd., 1998).

1.2.12.3 Hipertansiyon

Tip 2 diyabet hastalarında tHcy ve hipertansiyon arasında önemli bir ilişki gözlenmiştir. Hipotansiyonun primer mi yoksa sekonder mi olduğu net değildir. Yüksek tHcy seviyesi olan Tip 2 diyabetli hastalarda, normal tHcy'li hastalara göre (Fiorina vd., 1998) daha yüksek diyastolik ve ortalama arteriyel kan basınKINa aynı zamanda da sistolik kan basınKINa (Passaro vd., 2000) sahip olduğu bulunmuştur.

Tip 2 diyabetli, 40-74 yaş aralığında olan hipertansif hastalarda, tHcy'nin sistolik kan basıncı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. tHcy, hem MMA hem de B12 vitamini ve folat serum seviyeleri ile yüksek oranda uyum gösterdiği rapor edilmiştir (Stabler vd., 1999). Diyabetik olmayan normotansif ve hipertansif vakalar üzerinde yapılan bir çalışmada, açlık tHcy değeri, daha yüksek derecede insülin direnci olan hipertansif hastalarda, normotansif deneklere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Açlık tHcy değerinin, sadece hipertansif vakalarda oral glukoz toleransına tepki olarak meydana gelen insülin salgilenmasıyla önemli ölçüde ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Sheu vd., 2000).

1.2.12.4 Böbrek yetmezliği

Plazma Hcy konsantrasyonunun, böbrek yetmezliğinin çeşitli aşamalarında arttığı belirtilmiştir (Chauveau vd., 1993). Böbreklerin içindeki veya dışındaki Hcy metabolizmasının yavaşlamasına odaklanılmış bir çalışmada, böbrek yetmezliği seyrinde HHcy'nin patofizyolojik mekanizması çok faktörlü görünmektedir (Van Guldener vd., 1999). İdrar atılımıyla Hcy kaybı, Hcy'nin idrar atılımının sağlıklı kişilerde göz ardı edilebileceği için olasılık dışı mekanizma olarak tanımlanmıştır (Refsum vd., 1985).

1.2.12.5 Tiroid yetmezliği

Hipotiroidli hastalarda yüksek plazma tHcy seviyeleri gözlenmektedir (Green vd., 1995). Tiroid hormonları folat metabolizmasını etkiler ve hipertiroidizimde MTHFR aktivitesi artmasına bağlı olarak hipotiroidizmde azalmaktadır (Nair vd., 1994).

1.2.12.6 Gastrointestinal sistem hastalıkları

Hiperhomosisteinemi, gastrointestinal sistemin değişiklik yaparak iltihaplanmaya yol açar ve bunun sonucunda, metalloproteinaz-9, reaktif oksijen türleri ve süperoksidin yüksek seviyelere ulaşmasına neden olur (Danese vd., 2005). Ayrıca, C677T MTHFR polimorfizminin neden olduğu hiperhomosisteinemi, mezenterik venöz tromboz ve bağırsak enfarktüsü ile ilişkili olarak rapor edilmiştir (Munjal vd., 2011).

Yüksek plazma homosistein konsantrasyonunun kabızlık, inflamatuar bağırsak hastalığı, Crohn hastalığı ve kolorektal kanser gibi çeşitli gastrointestinal hastalıklarda ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Az miktarda gaita çıkışı olan kabızlık, hiperhomosisteineminin kendisinin de gastrointestinal sıkıntıya neden olabileceğini göstermektedir (Givvimani vd., 2012). Metil grubu metabolizmasına etkileyen spesifik ilaçlar, mide ağrısı ve hazımsızlık yan etkilerine neden olurlar. Özellikle, izotretinoin (örneğin, 13-cis-retinoik asit), büyük olasılıkla izotretinoin hastalarında gözlenen homosistein konsantrasyonlarında belirgin artışa bağlı olarak, ağır bağırsak problemleri ile ilişkilendirilmiştir (Gariballa vd., 2011). Bununla birlikte, inflamatuar bağırsak hastalığı olan hastalarda yüksek homosistein konsantrasyonları, aynı zamanda, gastrointestinal sistem kükürt aminoasitlerinin metabolizmasının çoğundan

sorumlu olmasına bağlı olarak hastalığın kendisinin bir sonucu da olabilir (Chowers vd., 2000).

1.2.12.7 Romatizmal eklem iltihabı

Romatizmal eklem iltihabı (RA) olan yirmi hastada, aç iken ölçülmüş yüksek tHcy düzeyleri (%33) sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında PML değerlerinin daha yüksek olduğu görülmüştür (Roubenoff vd., 1997). 2000 yılında yapilen bir çalışmada, yüksek tHcy seviyelerinin, kronik inflamasyonda IL-6'nın fazla üretimi ile ilişkili piridoksal fosfataz aktivitesinin akut faz yansıması olduğu önerilmiştir. Bu durum, B6 vitamin seviyesinin ve CBS aktivitesinin azalmasının bir sonucu olarak piridoksal fosfataz aktivitesinin uyarılmasına yol açacaktır (McCarty, 2000).

1.2.12.8 HIV/AIDS

Hem bilişsel hem de nörolojik bozukluklar HIV/AIDS hastalığında yaygın olarak karşileşilen bir durumdur. Metiyonin metabolizmasında ve DNA replikasyonunda meydana gelen bir bozulma, AIDS bunama kompleksinde patojenetik mekanizmalar olarak önerilmiştir (Regland ve Gottfries, 1992) ancak HIV enfekte veya AIDS hastalarında tHcy'de artış bildirilmemiştir. Bu konuda yapilen çalışmalar küçük ölçekli olduğundan dolayı birçok eksikliği barındırabilir. Bununla birlikte, HIV enfeksiyonunda oldukça reaktif olan indirgenmiş Hcy düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Naisbitt vd., 2000). İndirgenmiş Hcy'nin, Hcy'nin zararlı etkilerini yayabilecek reaktif oksijen türlerinin oluşumuna katkıda bulunduğu önerilmiştir. Ayrıca, indirgenmiş Hcy'nin metiyonin yüklemesi ile indüklenen endotelyal hasar ile yakından ilişkili olduğu da gösterilmiştir (Chambers vd., 2000).

1.2.12.9 Doku hasarı

Doku hasarı geçici olarak tHcy seviyesini artırabilir. Yaralanma sonrası yüksek tHcy düzeyinin nedeni, hücrelerden sızıntı olabileceği gibi, aynı zamanda onarım işlemlerinde metilleme reaksiyonlarının hızlanmasının bir etkisi olarak meydana gelen SAH ve homosistein oluşumunun artmasına neden olması olabileceği belirtilmiştir. On bir kritik hasta üzerinde yapilen bir çalışmada homosistein düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir (Schindler vd., 2000).

1.2.12.10 Down sendromu

Down sendromu, CBS geninin bulunduğu kromozom 21'in fazladan bir kopyasının varlığına atfedilir. Normal aktivitesinin yaklaşık %165'ine sahip olan CBS, Hcy'nin tekrardan metillenmesinin yavaşlamasına ve buna bağlı olarak da metiyonin ve SAM seviyelerinin azalmasına neden olabilir. Bu mekanizmanın Down sendromunda patogenetik bir mekanizma olduğu ileri sürülmüştür (Regland ve Gottfries, 1992). Bu mekanizma nedeniyle süreKIN yavaşlaması folat metabolizmasını bozar ve bu durumda, hastalarda folat antagonisti MTX'e karşı toleransı azaltır (James vd., 1999). CBS aktivitesinin artması, daha fazla Hcy'nin, metillenme kapasitesini azaltarak, yeniden metillemeden ziyade transsülfürleme olmasına neden olabilir. Bu yargı, aynı grubun daha sonraki bir çalışmasında da doğrulanmıştır. Down sendromlu 42 çocuk üzerinde yapılan analizlerde, tHcy, metiyonin, S-adenozilmetiyonin ve S-adenozilhomosistein'in plazma seviyelerinin, 35 normal çocukla karşileştırıldığında önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Plazma glutatyon, aynı zamanda, 21 numaralı kromozom üzerindeki süperoksit dismutaz geninin aşırı ekspresyonuna bağlı olan yüksek oksidatif stresi de önemli ölçüde azaltmıştır. Metiyonin, folik asit, B12 vitamini, timidin veya dimetilglisinin lenfoblastoz hücreler üzerine yapilen *in vitro* çalışmada metabolik profili geliştirdiği ifade edilmiştir (Pogribna vd., 2001). 2001 yılında Down sendromlu 60 hasta üzerinde yapilen bir çalışma, hastaların mental retardasyon derecesine göre ayrıldıklarında, şiddetli retardasyonlu olanlarında (n = 26), tHcy seviyesinin 13.4 μmol/L ve folat düzeylerinin 12 μmol/L olmasına karşın hafif veya orta derecede retardasyonlu olanlarda (n = 17) 8.6 μmol/L ve 15.2 μmol/L olarak belirlenmiştir (Anello vd., 2001).

1.2.12.11 Alzheimer, inme ve Parkinson hastalıkları

Yüksek plazma tHcy değeri, bilişsel gerileme, beyaz madde hasarı, beyin atrofisi, nörofibriler yumaklar ve bunama ile ilişkilendirilmiştir. Fareler üzerinde yapilen bir çalışmada, Hcy'nin, Alzheimer hastalığının başlangıcı ile ilgili olan β-amiloid plak oluşumunu arttırdığını gösterilmiştir (Li vd., 2014). Kan beyin bariyerinin sağlamlığı ve işlevindeki değişikliklerin de yüksek Hcy kan düzeylerinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Kamath vd., 2006). Hipertansiyonlu yaşlı insanlarda sık karşileşilen bir problem, HHcy ile inme arasında var olan belirgin ilişkidir.İnme geçiren

bireylerde, oksijen ve besin eksikliğinden kaynaklanan nedenle, beyne kan akışı kesilerek nöronal hücre ölümü ve beynin belirli bölgelerinde işlev kaybına yol açar (Sacco vd., 1997). Hem plazma hem de beyin omurilik sıvısındaki tHcy düzeylerinin artması, Parkinson hastalarında bilişsel gerileme ve depresyona neden olur. Bu durum, büyük ölçüde hareketten etkilenen ilerlemiş nörolojik bir bozukluktur ve 65 yaş üzeri ABD nüfusunun % 3-5'inden fazlası bu patolojiden olumsuz yönde etkilenmiştir. Klinik olarak bu hastalığı bulunduran kişiler, hırıldama, kas sertliği ve postural kararsızlık gibi belirtiler gösterir. Parkinson hastalarında, siyah madde'nin dopamin ile harekete geçen (dopaminerjik) nöronlarında Hcy aracılı oksidatif stres/hasar yaygın olarak görülür ve bu durum hastalığın ayırt edici özelliğidir. Hcy'nin neden olduğu dopaminerjik nöronlardaki oksidatif stres son zamanlarda yapilen çalışmalarda rapor edilmiştir (Bhattacharjee vd., 2016).

Son evre böbrek hastalığı (SEBH)

SEBH ve HHcy arasında güçlü bir ilişki vardır. Üremi hastalığına sahip kişilerin böbrek fonksiyonunda, yüksek kan Hcy seviyeleri ile ilişkili bozulma gözlenmiştir. Bu patolojiye katkıda bulunduğu bilinen yaygın nedenler yüksek tansiyon ve diyabettir.Kronik böbrek yetmezliği ve üremi, yüksek Hcy düzeylerinin gözlendiği durumlarda söz konusudur (Perna vd., 2012) ve bu hastalarda işlev azalması daha fazla hiperhomosisteinemik hale gelir (Long vd., 2016). Ayrıca, diyaliz ile Hcy'nin plazma seviyesindeki artış arasındaki ilişki resmileştirilmiştir. Diyaliz, geçicide olsa Hcy seviyesinin daha düşük olduğunu göstermiştir (Zheng vd., 2012).

1.2.12.12 *Diğer sistemik hastalıklar*

Çok sayıda kronik hastalık, pernisiyöz anemi de dahil olmak üzere HHcy'ye neden olabilir (Welch vd., 1998) ve bu bozukluğun erken tanısında yüksek plazma tHcy düzeyleri yardımcı olabilir (Sandharwalla vd., 1974). Hücreler arası folat kaybı nedeniyle yeme bozukluğu, kronik inflamatuar bağırsak hastalığı, folat metabolizmasına etkiyerek ve folat emilimini azaltarak HHcy'ye neden olur (Cattaneo vd., 1998). Ayrıca immün yetmezlik enfeksiyonu olan hastalarda yüksek plazma tHcy belirlenmiştir (Müller vd., 1996). Orta derecede plazma tHcy

konsantrasyonlarının da histopatolojik olarak Alzheimer hastalığı ile ilişkili olduğu doğrulanmıştır (Clarke vd., 1998).

1.3. Homosistein İle Kanser Hastalıkları Arasındaki İlişki

Homosistein metabolizması ve kanser arasındaki ilişkiler tutarsız görünebilir.B12 vitamini ve folat genellikle kanser üremesine karşı koruyucu bir etkiye sahip gibi görünmektedir. Fakat kanser türleri üzerindeki etkileri farklı olabilir. Bu etki, kanser türüne, genetik çeşitliliklere ve çevresel faktörlere göre de farklılaşabilir (Blount vd., 1997).

1.3.1. *Kanser hastalıklarında metiyoninin rolü*

Metiyonin, kanser üreme proseslerinde birçok basamakta rol oynar ve tüm hücrelerde, protein ve RNA sentezi için gereklidir. Bir diğer rolü de, hücreler içinde DNA'nın nükleus içinde metillemesi de dahil olmak üzere, çok sayıda molekül için gerekli bir metil donörü olarak görev yapan S-adenozilmetiyonin (SAM) için çıkış maddesidir (Ven Katachalam, 2015). Hipometilleme (yani genom çapında olan düşük metilleme) çeşitli kanserlerde rol oynamakta ve kromozomal kararsızlıkla sonuçlanmaktadır (Santini vd., 2001). Tümör baskileyıcı genlerin promotor bölgelerinin hipermetillemesi, bu genlerin ekspresyonunu etkili bir şekilde sönümlendirebilir. Karsinogenezin bu epigenetik değişimleri, metiyonin/folat döngüsünden meydana gelen metil gruplarının varlığı da dahil olmak üzere tümörün mikro çevresinden etkilenir (Davis vd., 2004).

1.3.1.1 *Kanser hastalıkları ile folat ve homosistein ilişkisi*

Yüksek plazma Hcy konsantrasyonu değerlerinin, meme, yumurtalık ve pankreas kanseri gibi çeşitli karsinom türleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Akut lenfoblastik lösemi, gerileme ile normalleşen plazma tHcy konsantrasyonunda belirgin yükselme ile ilişkilendirilir (Mayer vd., 1996). Düşük folat seviyelerinin ise, kolorektal kanser için yüksek risk anlamına geldiği bulunmuştur (Tseng vd., 1996). Kolorektal kanserli kadınlarda ve kontrol grubu üzerinde yapılan bir çalışmada elde edilen veriler, yüksek folat düzeyine sahip bireylerin kolorektal kanser riskinin yaklaşık %50 azaldığını, düşük folat düzeyi ve yüksek homosistein düzeylerine sahip olan

bireylerde ise yüksek risk bulunduğunu göstermiştir (Kato vd., 1999). Sigara içen erkek denekler üzerinde yapılan bir vaka kontrol çalışmasında ise düşük folat düzeylerinin kolon kanseri riskini artırdığı kanıtlanmıştır (Glynn vd., 1996). Bir başka çalışmada ise folat takviyesinin ülseratif kolit hastalarında neoplazi sonrasında koruyucu etki gösterdiği kanıtlanmıştır (Lashner vd., 1989). Diğer çalışmalar folat, homosistein ve meme kanseri arasındaki ilişkilere kanıt sağlamamaktadır (Wu vd., 1999). Hayvan deneklerle yapilen çalışmalarda, folat eksikliğinin kanser oluşumunu kolaylaştırdığını da ortaya koymuştur. Örneğin, folat bakımından eksik beslenen kolorektal kanserli farelerle yapilen bir çalışmada, bağırsak adenomlarının sayısında önemli bir düşüş sergilendiği belirlenmiştir (Song vd., 2000). Folat eksikliğinin ve buna bağlı olarak homosistein düzeylerinin yükselmesinin kanser oluşumunu hızlandırdığı mekanizmanın, tümör baskileyıcı genlerinde DNA hasarına ve mutasyonlarına neden olması beklenilebilir. Buna kanıt olarak da, folat içeriği eksik beslenmiş farelerin kolon hücrelerinde p53'ü kodlayan gende DNA zincir kırılmasının artması söylenebilir (Kim vd., 2000).

Folat eksikliği, lökositlerdeki kromozom kırılmalarını ve urasilin hatalı bağlanmasını arttırır ve bu tür hasarlı DNA sayısının artmasının da kanser oluşumunu destekleyebileceği ileri sürülmüştür (Blount ve Ames, 1995).Bu öngörü, folat bakımından eksik beslenmiş farelerden alınan lenfositlerle ilgili çalışmalarda doğrulanmış ve genişletilmiştir (Duthie vd., 2000). Sebze ve meyvelerde bol miktarda bulunan folatın yüksek miktarda alımının birkaç kanser türünde hastalık riskini azalttığı belirtilmiştir. Bozulmuş DNA onarım süreci ve proto-onkojen aktivasyonuna neden olabilen DNA metillemesinin kesintiye uğramasının kanser riskini artırmasına folat eksikliğinin neden olduğu önerilmiştir (Lewis, 2006). Folat ilişkili genlerdeki fonksiyonel polimorfizmlerin folat metabolizmasının değişmesine katkıda bulunmasına bağlı olarak, sadece folat alımından ziyade, polimorfizmlerin veya gen-çevre etkileşimlerinin meme kanseri riski üzerinde etkisi olabileceği biyolojik açıdan daha akla yatkın görülebilir (Lissowska, 2007). İnsanlarla yapılan çalışmalar, karsinojenezli hiperhomosisteinemi sonrası düşük folat ve/veya B12 ve B6 vitamini ile arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Çocuklar üzerinde yapılan bir çalışmada, bronşiyel metaplazi, servikal displazi, kolorektal adenom ve bazı beyin tümörleri gibi kötü huylu değişikliklerin yanısıra premalign lezyonlarda

folat eksikliği ile ilişkili bulunmuştur (Kim, 1999). Çeşitli epidemiyolojik ve vaka kontrol çalışmaları, düşük B12 vitamin olması durumunda ve farklı kanser türleri arasında da bir ilişki olduğunu göstermiştir (Kato vd., 1999). Diğer çalışmalar, vitaminlerin daha fazla alımının koruyucu etkilerini ortaya koymuştur (Giovannucci, Voorrips vd., 2000).

Göğüs kanseri

88756 hemşire üzerinde koruyucu sağlık taraması çalışmasında, toplam 3483 meme kanseri vakası belgelenmiştir. Genel olarak, meme kanseri ile folat alımı arasında bir ilişkili bilinmiyordu ancak günde en az 15 g alkol tüketen kadınlarda meme kanseri riski, düşük folat alımı olanlarda daha yüksek olduğu belirlendi. Günlük folat alımı en az 600 mg olan kadınlarda, günlük 150-300 mg alanlara göre meme kanser risklerinin %45 daha az olduğu gözlenmiştir (Zhang vd., 1999). İki çalışmada, alkol tüketimiyle kanser arasındaki ilişki doğrulanmıştır. Kanada Ulusal Meme Tarama Çalışması'nda, bir gıda sıklık anketinin uygulandığı bir vaka-kohort analizinde, folat alımı ile genel bir ilişki gözlenmedi ancak günde 14 g alkol tüketen kadınlarda, folat alımı ile göğüs kanseri riski arasında belirgin bir ilişki belirlendi (Rohan vd., 2000). 2569 meme kanseri hastası üzerinde yapılan bir çalışmada, gıda sıklık anketi kullanan bir İtalyan vaka-kontrol çalışmasında, folat alımı ile meme kanseri riski arasında doğrusal bir ilişki bulunmadı. Ancak bu ters ilişki, günde 25 gr veya daha fazla alkol tüketen menapoz öncesi vakalarda daha fazlaydı (Negri vd.,. 2000).

Bu nedenle, yüksek folat alımı ve yüksek alkol tüketimi olan kişilerde olumlu bir etkiye sahip gibi görünmektedir. Meme kanserinde B12 vitamini tüketimi ile bir ilişki de bildirilmiştir. 1974 ve 1989 yılları arasında Washington County Serum Bankından yaklaşık 27000 serum/plazma örneğinin analiz edildiği, ileriye dönük iç içe vaka-kontrol çalışmasında, B12 vitamini için bir eşik seviyesi belirlendi. Hem kohort hem de menopoz alt gruplarında, medyan B12 konsantrasyonları, kontrol gruplarına göre meme kanserli vakalarda daha düşük olarak belirlendi. Bununla birlikte, bu fark sadece postmenopozal olan kadınlardan alınan kan örneklerinde belirlendi. Bunların arasında, meme kanserine yakalanma riskinde artış, kontrol

grubunun en yüksek beşte dördüyle karşılaştırıldığında düşük B12 seviyeli olanların beşte birinde daha yüksek bulunmuştur (Wu vd., 1999).

Servikal intraepitelyal displazi

294 hasta ve 170 kontrol üzerinde yapilen bir çalışmada, servikal intraepitelyal displazi (CİN) şiddeti ile tHcy arasında ilişki olduğu bulunmuştur. Toplam Hcy, hasta grubunda, kontrol grubundan daha yüksek olarak belirlendi. Ayrıca, sigara içimi ve paritesi, tHcy konsantrasyonu 9.1 μmol/L'nin üzerinde olduğunda Servikal intraepitelyal displazi riskini artırdığı görülmüştür. Bu risk faktörleri ile ilgili ORs değerleri, tHcy'nin 9.12 μmol/L'den fazla olduğu durumda 4.7, 3.9 ve 4.0' olarak, tHcy'nin 9.12 μmol/L'den düşük olduğu durumda ise 3.0, 1.5 ve 2.0 olarak belirlendi. Toplam Hcy değerinin, folat ve B vitamini seviyesi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Thomson vd., 2000). Bununla birlikte, başka bir çalışma, servikal displazi, folat, B12 vitamini ve tHcy düzeyleri arasında beklendiği gibi anlamlı bir ilişki gösterememiş, ancak oluşan modeller muhtemel bir ilişkiyle uyum gözlenmiştir (Alberg vd., 2000). Skuamöz intraepitelyal lezyonlu 147 vaka ve 191 üyeli kontrol grubu üzerinde bir başka çalışmada da, folat, B12 vitamin veya tHcy ile anlamlı bir ilişki gösterememiş, ancak sistein plazma konsantrasyonları ve servikal displazi riski arasında anlamlı bir ters oran belirlenmiştir (Goodman vd., 2000).

Akciğer kanseri

55-69 yaş aralığında 55279 erkeğin incelendiği Diyet ve Kanserle ilgili Hollonda Kohort Çalışması'nda, 6.3 yıllık süre zarfında 939 akciğer kanserli vaka teşhis edildi. Bu çalışmada, sadece folat, akciğer kanseri riski ile ters orantılı olarak belirlenmiştir. Ters oranlar sigara içenlerde daha yüksek olarak belirlenmiştir (Voorrips vd., 2000).

Pankreas kanseri

Finli ve sigara bağımlısı pankreas kanserli 126 denek üzerinde vaka-kontrol çalışması yapılan kohort analizinde, hem folat hem de piridoksal-5'-fosfatın (PLP) serum konsantrasyonlarının, pankreatik kanser riski ile belirgin ters ilişki göstermiştir. Bu Kohort analizinin en yüksek serum tertilesindeki denekler, yaklaşık

olarak en düşük riskinin yarısına sahip olduğu görülmüştür (OR değeri, folat için 0.45, PLP için ise 0.48). Aynı çalışma grubu, 27101 erkek Amerikalı sigara içicisi üzerinde yaptıkları 13 yıl süren çalışmada, incelenen grubun 157'sinde pankreatik kanser geliştiğini belirtmişlerdir. En yüksek folat alımında en yüksek beşte bir içerisinde olan bireylerin, en düşük beşte bir olanlarla kıyaslandığında bu kanserin gelişmesi için 0,52 OR değerine sahip olduğu belirlenmiştir (Stoltenberg vd., 2001).

1.3.2 Kanser hücreleri ve Apoptoz mekanizması

Apoptoz, metazoa hücrelerinde sağlıklı yaşam-ölüm dengesini koruyan programlı hücre ölümüne verilen addır. Gelişmiş apoptoz, dejeneratif hastalıklara neden olabiliyorken, apoptoz mekanizmasında bozulmalar, kansere veya otoimmüniteye neden olabilir. Kusurlu apoptoz, kanser gelişimini desteklemesine rağmen apoptotik sinyaller, genomik bütünlüğün korunmasına katkıda bulunur. Apoptotik sinyaller karmaşıktır ve çeşitli seviyelerde tanzim edilmiştir. Karsinojenez sinyalleri, apoptotik mekanizmaların merkezi kontrol noktalarını iki şekilde düzenlerler;

- Apoptoz (IAP) proteinlerinin inhibitörü
- FLICE inhibitör protein (c-FLIP)

Tümör hücreleri, apoptozu baskilemak ve apoptatik ajanlara direnç kazandırmak için çeşitli moleküler mekanizmalardan bazilerını kullanabilir. Örnek olarak, Bcl-2 gibi antiapoptotik proteinlerin ekspresyonu veya BAX gibi proapoptotik proteinlerin downregülasyonu veya mutasyonu ile apoptozları bastırmak (Dietlein vd., 2014).

Apoptoz mekanizmasındaki gerçek aktörler kaspazlardır. Kaspaz ailesi, proteolitik kaskadlarda işbirliği yapan hücre içi sistein proteazlarından (insanlarda n=11) oluşur. Bu kaspazlar kendilerini ve birbirlerini aktive ederler. Bu proteolitik kaskadlar içinde, kaspazlar, apaptozun ya yukarı yönde "başlatıcıları" olarak ya da aşağı yönde “efektörleri” olarak konumlanırlar. Kaspazların aktivasyonu için bir kaç mekanizma vardır (Dietlein vd., 2014).

Apoptotik DNA parçalanması, programlanmış hücre ölümünün bir türü olan apoptozun temel bir özelliğidir. Apoptoz, kabaca 180 baz çifti ve bunların

mulTipletlerinin nüklozomlar arası fragmanlarına DNA kromatinlerinin ardışık yarılmasının sonucu oluşan endojen endonükleazların aktivasyonu ile karakterize edilir. Bu etki, DNA basamaklama testi, TUNEL testi veya Nicoletti testi gibi metotlar aracılığıyla, apoptozu saptamak için kullanilebilir (Riccardi vd., 2006).

1.3.3 Kanser hücrelerinde DNA tamir mekanizması

İnsan hücreleri, DNA'ya zarar verebilecek ve genomik kararsızlığa neden olabilecek endojen ve eksojen ajanlardan gelen hareketlere sürekli maruz kalmaktadır. Bu lezyonların birçoğu, DNA hasarının zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için DNA'ya yapısal bir hasar verir, hücreler DNA lezyonunun tipine bağlı olarak birkaç farklı mekanizmaya bölünebilen özel bir DNA onarım sistemi geliştirmiştir. Bu süreç şu basamakları içerir:

- Baz eksizyon onarımı
- Hatalı eşleşme tamiri
- Nükleotid eksizyon onarımı
- Hem homolog rekombinasyon hem de homolog olmayan uç katılımı içeren çift sarmal kırılma onarımı

DNA onarım yollarındaki kusurlar, kanser hücrelerinin, agresif fenotiplerine katkıda bulunan genomik değişimlerin artmasına neden olur. Bununla birlikte, tümörler, genotoksik stresin neden olduğu hasarı telafi etmek üzere DNA tamir mekanizmalarında destek almaktadır. Bu ikiye bölünme, izole DNA onarım mekanizmalarının neden sadece kanser hücrelerinde inaktif olduğunu açıklayabilir (Thomas ve Dexheimer, 2012). DNA onarım kusurları, kanser hücrelerine özgü olan ve sağlıklı dokularda bulunmayan genetik bozulmalardan kaynaklanır. Bu moleküler kusurların, yeni kanserin hücrelerinin, ileve mutasyonları artırmasına neden olan "mutasyona neden olan fenotip" ürettiği düşünülmektedir (Finkelstein, 2000).

1.3.4 Homosistein düzeyi ve kolorektal kanser arasındaki ilişki

Hiperhomosisteinemi, inflamasyonla ve kolorektal kanser riski ile ilişkilidir. Sistein, homosisteinin metabolik bir ürünü ve aynı zamanda da antioksidan glutatyonun bir

öncüsüdür. Sisteinin kolorektal kanser ile ilişkili olup olmadığı bilinmemektedir. Amaç, postmenopozal kadınlarda homosistein ve sistein ve kolorektal kanser oranı arasındaki ilişkiyi değerlendirmektir (Joshua vd., 2016). Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi, yüksek folat alımı ile kolon kanserinin düşük riski arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Ayrıca, alkol tüketmeyen erkeklerde bu ilişkiyi doğrulanırken kadınlarda ve alkol tüketenlerde bunun geçerli olmadığı belirtilmiştir(Su ve Arab, 2001). Serum folat ve homosistein düzeylerini ile kolorektal kanser riski arasında ilişkini araştırıldığı bir çalışmada; kolorektal kanser riski, ortalama serum folatına ve ortalamanın altında alkol tüketimi olan bireylere göre, ortalama serum folat değerine ve ortalamanın üstünde alkol alımına sahip olan bireylerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (I. Kato vd., 2006). Bununla birlikte, Chiang vd.,adaşları tarafından yapilen bir vaka-kontrol çalışması, artan homosistein konsantrasyonunun, oksidatif stres indikatörlerinden ve antioksidan kapasitelerinden bağımsız olarak kolorektal kanser riski ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir (Chiang vd., 2013). Malign hücrelerin çoğu, homosisteini metiyonin'e dönüştürmek için malign hücrelerin yetersizliğinden kaynaklanan metiyonine bağımlıdır. Yüksek homosistein değeri, karsinojenezin erken teşhis veya tekrar nüks ettiğinin belirlemek için duyarlı bir gösterge olabilir. Yumurtalık, meme, pankreas ve kolon kanseri vakalarında, homosistein serum düzeylerindeki değişiklikle paralelellik göstermiştir. Bu homosistein değeri değişiklikleri, tümör belirteci gibi davranarak serum toplam homosistein düzeyini, tümör hücresi aktivitesini veya tümör hücrelerinin hızlı çoğalma oranını yansıttığını düşündürmektedir (Wu ve Wu, 2002).

1.3.4.1 Kolorektal kanser patogenezlerinde hiperhomosisteinemi

Tümör hücrelerinin üremesinden kaynaklanan hiperhomosisteinemi, hücre doku kültürlerinin üzerine yapılan çalışmalarda ortaya çıkmıştır. Bazı biyokimyasal değişiklikler, kandaki homosistein oranının kanser için bir risk oluşturduğuna ve hiperhomosisteineminin karsinogenez için bir risk faktörü olduğuna işaret etmektedir. Hiperhomosisteinemi çoğunlukla folat eksikliği ile ilişkilendirilir. Gerçekte ise, homosistein, folat eksikliğinin belirlenmesi için duyarlı bir gösterge haline gelmiştir ve hiperhomosisteinemiden kaynaklanan kanser riskinin büyük bir kısmının folat değeri ile ilişkili olması muhtemeldir (Wu ve Wu, 2002).

Homosistein, kolon kanseri hücrelerinin büyümesini artırır ve homosisteinin büyüme arttırıcı etkisi folat tarafından tersine çevrilir (Akoğlu vd., 2004). Folat için için biyolojik göstergeler ile kadınlarda kolorektal kanser riski arasındaki ilişkiyi gösteren ilk epidemiyolojik çalışmada incelenmiştir (Kato vd., 1999). Kolorektal kanser patogenezinde, homosistein seviyesinin potansiyel rolünü araştıran farklı çalışmalar birbiriyle çelişen sonuçlar ortaya koymuştur. Bir vaka-kontrol çalışmasında, toplam homosistein düzeyleri, kontrol grubuna kıyasla kanser hastalarında (18 meme kanseri ve 29 kolorektal kanser) önemli ölçüde daha yüksek bulundu. Tek değişkenli analiz, toplam homosistein düzeyinin, hem meme hem de kolorektal kanser hastalarında, hem interlökin-6 hem de TNF-α ile önemli derecede ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, meme veya kolorektal kanserli hastalarda, TNF-α, toplam homosistein ile bağımsız olarak ilişkiliydi, bu da kansere bağlı enflamasyonun, yüksek toplam homosistein seviyeleri ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Araştırmacılar, homosistein kaynaklı hasarın hücre adezyon molekülleri, sitokinler ve kemokinler ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır ve bu nedenle de kanserin biyolojisine katkıda bulunabileceği belirtilmiştir (Ferroni vd., 2012). Kolorektal kanserli 226 vakada ortalama plazma homosistein düzeyi ve Kuzey İsveç Sağlık ve Hastalık Çalışmasından alınan 437 eşleştirilmiş referans kıyaslandığında önemli bir farklı belirlenmedi ve plazma homosistein konsantrasyonları kolorektal kanser riski ile ciddi bir ilişki göstermedi (Van Guelpen vd., 2006). Son evre böbrek hastalığı olan hastalarda yüksek homosistein konsantrasyonunun kolorektal tümör oluşumu ile ters orantılı olduğu bildirilmesine rağmen (Kaji vd., 2011), diğer üç vaka-kontrol çalışmasında, plazma homosistein düzeyleri ve kolorektal kanser arasında bir ilişki olduğu rapor edilmiştir. (Chandy vd., 2008). Kolorektal polipli 30 kişi üzerinde yapılan gözlemsel bir çalışmada, adenomatöz polipli hastalarda ortalama homosistein konsantrasyonunun hiperplastik polipli hastalara göre %22 daha yüksek olduğu bulunmuştur. Hiperplastik poliplerin genellikle kötü huylu potansiyeli olmadığı kabul edilmektedir (Kim vd., 1998). Kolorektal adenomalı 422 Koreli hasta ve 617 kontrol üzerinde yapilen bir çalışma, daha yüksek plazma homosistein konsantrasyonunun, kadınlarda adenom riskinin artması ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu göstermiştir (Lim vd., 2012).

Amerika Birleşik Devletleri'nde menopoz sonrası kadınların üzerinde (n = 988/grup) yapilen iç içe vaka-kontrol çalışmasında, yüksek plazma homosisteininin, yüksek kolorektal kanser riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, kolorektal kanser için çok değişkenli OR (%95 CI) değeri, en düşük çeyreği ile karşileştırıldığında, en yüksek çeyrekte homosistein için 1.46 (1.05, 2.04) olarak belirlendi (Miller vd., 2013). Tayvan'da yapilen bir diğer vaka-kontrol çalışmasında, oksidatif stres göstergeleri ve antioksidan kapasiteleri de dahil olmak üzere farklı potansiyel etkilere karşı ayarlamadan önce ve sonra, yüksek serum homosistein düzeyi ile yüksek kolorektal kanser riski arasında önemli bir ilişki bulunmuştur (Chiang vd., 2013). Homosistein ve kolorektal kanser arasındaki ilişki klinik çalışmalarda da araştırılmıştır. Martinez ve arkadaşları, plazma folat ve homosistein ile kolorektal adenomun yeniden nüks etme ilişkisini iki farklı çalışmada ayrı ayrı değerlendirmişlerdir. Bu çalışmaların birincisinde, folik asit içeren buğday kepeği lifli (WBF) tahıl takviyesini içermekte iken ikincisi, ursodeoksikolik asidin (UDCA) besin kaynağına sonradan eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir. UDCA'nın, deoksikoloik asit (DCA) gibi ikincil safra asitlerinin tümör destekleyici etkilerine karşı koymak suretiyle kolonik neoplastik dönüşümü önleyebileceğini dikkate almak gerekir. UDCA'nın sitoprotektif etki gösterdiği ve dönüştürülmüş kolonositlerin DCA-kaynaklı hücre ölümünü antagonize ettiği gösterilmiştir (Martinez vd., 2006). Bu denemelerde, WBF denemesinden elde edilen veriler ışığında, multivitamin olmayan kullanıcılar arasında, homosisteinin en yüksek ve en düşük çeyrek dilimindeki bireylerin hem WBF (OR = 2.25) hem de UDCA (OR = 1.93) popülasyonlarında adenom nüks etme ihtimalinin daha yüksek olduğu belirlendi (Serfaty vd., 2010). Martinez ve arkadaşları, plazma homosisteinin en yüksek çeyrek dilimindeki deneklere göre, en düşük çeyrekte olanların, karışıklığa neden olan faktör düzeltilmesinden sonra adenom nüks etmesinin 0,69 OR değerine (trend analizi, P değeri = 0.02) sahip olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, bu araştırmacılar, plazma homosistein ve adenom nüks etme ihtimali arasında önemli bir doz etkisi olduğunu bildirdiler (Martinez, 2006). Araştırmaciler, Amerika Birleşik Devletleri'nde, Polyp Prevention Trial'in kontrol alt biriminden alınan 627 katılımcı üzerinde, 4 yıl süreli, çok merkezli randomize çalışmada elde edilen verileri kullanarak, yüksek homosistein konsantrasyonlarının, iki kat daha fazla ve birden fazla adenom nüksü olasılığı ile pozitif ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, hiperhomosisteinemi ile

yüksek riskli adenom nüksü arasında önemli pozitif bir ilişki olduğunu da belirlemişlerdir (Bobe vd., 2010). Kolorektal adenomların önlenmesinde, folat ve/veya aspirinin etkisi üzerine randomize klinik deney katılılımcilerını dahil eden bir vaka analizi çalışmasında, ne plasebo ne de folik asit takviye gruplarında, başlangıçtaki plazma total homosistein ve adenom nüks riski arasında bir ilişki bulunmamıştır (Levine vd., 2010).

Genel olarak, hiperhomosisteinemi ile kolorektal kanser riski arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar, homosistein düzeyinin yükselmesinin kolorektal kanser riskinin yükselme eğiliminin arttırdığını göstermiştir. Her ne kadar çalışmaların çoğunda, hiperhomosisteineminin karsinojenez üzerindeki etkisinin, hiperhomosisteinemiye neden olan metabolik mekanizmalara bağlı olarak, düşük folat seviyeleri ve B vitamini eksiklikleri ile ilişkili olduğunu göstermiş olsa da, hiperhomosisteineminin bağımsız etkilerini de gösteren iyi tasarlanmış çalışmalarda vardır (Ammar vd., 2015).

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Yüksek total homosistein (tHcy), karsinojenezin ve yeniden nüks etmesini erken teşhisi için duyarlı bir belirteç olabilir. Wu LL ve arkadaşları yayınladıkları çalışmasında, tümör hücresinin büyümesi sırasında hem tHcy hem de tümör markör konsantrasyonlarının arttığını, ancak tümör hücresi ölümüne tepki olarak sadece Hcy konsantrasyonunun azaldığını saptamıştır. Aynı zamanda, bu çalışmada, hiperhomomisteinemiyle ilişkilendirilen homosistein üretimi, yüksek homosisteinin karsinojeneze yol açma nedenini de açıklamalarının yanısıra, tHcy'nin, tedavi sırasında kanser hastalarını izlemek için daha etkili bir tümör göstergesi olarak kullanilebileceği de kanıtlanmıştır (Wu vd., 2002).

Başka bir çalışmada, hiperhomosisteinemi ve farklı kanser türlerinin riskleri arasındaki ilişki gösterilmiştir (Eleftheriadou vd., 2006; Nacci vd., 2008). Ammar H. ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, hiperhomosisteinemi ile kolorektal kanser riskinin artması arasındaki ilişki araştırılmıştır. Ammar H. Ve arkadaşları, yüksek homosistein düzeyleri ile paralel olarak kolorektal kanser riski artış eğilimi gösterdiğini belirlemişlerdir (Ammar vd., 2015). Çok sayıda çalışmada, hiperhomosisteineminin karsinojenez üzerindeki etkisinin, hiperhomosisteinemiye neden olan metabolik mekanizmalara bağlı olarak, düşük folat konsantrastonu ve B vitamini eksiklikleri ile ilişkili olduğunu göstermesine rağmen (Wu ve Wu, 2002), hiperhomosisteineminin kolorektal kanser gelişimi üzerindeki bağımsız etkilerini gösteren iyi tasarlanmış bazı çalışmalardan ortaya konulan kanıtlar da vardır. IBD hastalarındaki hiperhomosisteineminin, temel olarak düşük folat düzeyi, B12 vitamini (Kallel vd., 2011; Mahmood vd., 2005) ve B6 vitamini seviyeleriyle (Saibeni vd., 2003) ilişkili olduğunu ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır.

Homosistein konsantrasyonu ve kolorektal kanser arasındaki ilişki klinik çalışmalarda da araştırılmıştır. Martinez ve arkadaşları, iki farklı çalışmada plazma folat ve homosistein ve kolorektal adenomanın yeniden nüks etme ilişkisini değerlendirmişlerdir.Bu çalışmalardan birincisinde, folik asit ihtiva eden bir tahıl besini (buğday kepeği lifi (WBF)) takviyesini içermekte iken ikincisi,

ursodeoksikolik asidin (UDCA)besin kaynağına sonradan takviye edilmesinin etkileri araştırılmıştır. UDCA'nın, deoksikolik asit (DCA) gibi sekonder safra asitlerinin tümör artırıcı etkilerine karşı koyarak kolonik neoplastik dönüşümü önleyebileceğini dikkate almak gerekir. UDCA'nın sitoprotektif etki gösterdiği ve dönüştürülmüş kolonositlerin DCA-nedenli hücre ölümünü antagonize ettiği gösterilmiştir. Martinez ve arkadaşları, plazma homosistein en düşük çeyrek diliminde bulunanların, en yüksek çeyrek dilimindeki deneklere göre, adenomun yeniden nüksetme riskine (OR değeri 0.69, karıştırıcı faktörlerin düzeltilmesinden sonra) sahip olduğunu bulmuşlardır (trend analizi: P değeri = 0.02). Bu çalışmada, plazma homosistein ve adenom yeniden ortaya çıkması arasında önemli bir doz tepkisi olduğu bildirilmiştir (Martinez, 2006).

Hiperhomosisteinemi konsantrasyonunun kanser için bir risk faktörü olarak kabul edilmiş ve tHcy seviyesi yeni bir tümör belirteci olarak önerilmiştir. Çünkü bunlar sadece tümör hücrelerinin üreme oranlarını doğru olarak yansıtmamakla kalmaz aynı zamanda tümör hücresi ölümüne de neden olur (Wu vd., 2002). Meme veya kolorektal kanserli hastalarda tHcy düzeyleri, MTHFR polimorfizmleri, folat değerleri ve enflamatuar belirteçler arasındaki olası ilişkileri analiz etmeyi amacıyla Ferroni P. ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 47 kanser hastası üzerinde, metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) polimorfizmleri, folat ve enflamatuar belirteçlerle, Hcy düzeyleri arasındaki analiz edilmiştir. MTHFR C677T ve A1298C genoTip dağılımlarının Hardy-Weinberg dağılımına göre öngörülenden farklı olmadığını saptanmıştır. Aksine, Hcy düzeylerinin, düşük dereceli enflamasyonla karakterize olan kanser hastalarında daha yüksek olduğu görülmüştür ($p = 0.04$). Hcy düzeylerinin, hastaların interlökin-6 (IL-6) ($p = 0.001$), tümör nekrozis faktör-α (TNF-α) ($p = 0.042$) ve folat ($p < 0.0001$) seviyeleri ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur. Çok değişkenli analiz sonuçları, TNF-α ($p = 0.014$) ve folatın ($p = 0.019$), kanser hastalarında, yüksek Hcy düzeylerinin bağımsız belirleyicileri olduğunu göstermiştir (Ferroni vd., 2009).

Kato I. Ve arkadaşlarının, New York Üniversitesi Kadın Sağlığı Çalışma Grubu katkilerıyla, 105 hasta ve 523 kontrol grubu üzerinde kohort analizi kullanilerak gerçekleştirilen ve "serum folat ve homosistein düzeylerinin, kolorektal kanser

riskine olan etkisini" araştıran çalışmasına göre, folat alımıyla, serum folat seviyesinin ilişkisinin ters yönde olduğu ortaya konulmuştur. Yukarıdaki çalışmanın sonuçlarına paralel olarak, ülseratif kolitli hastalarda, kırmızı hücreli folat düzeyinin kolonik displazi veya kanser gelişme riski ile ters orantılı olduğu bulunmuştur (Lashner, 1993). Bir diğer çalışmada ise, folat metabolizmasında kritik önemi olan 5,10-metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) geninde, homozigot mutasyona maruz kaldığı belirlenmiştir (Ma vd., 1997). Daha eski bazı çalışmalarda, yüksek alkol veya düşük protein/metiyonin alımının folatın etkisini değiştirebileceği ve kontrollere göre daha yüksek serum homosistein seviyelerine sahip oldu gösterilmiştir (Giovannucci vd., 1995; Glynn vd., 1996). Bu farkın, folatta ($P < 0.001$) homosisteine ($P = 0.04$) göre daha yüksek önem derecesine sahip olduğu görülmüştür. Potansiyel karıştırıcı değişkenlerin düzeltilmesinden sonra, en yüksek çeyrek dilimdeki serum folatı olan kişilerde kolorektal kanser riski, en düşük çeyrekte olanların yarısına karşılık gelmiştir (olasılık oranı OR = 0.52, % 95 güven aralığı, CI = 0.27-0.97, trend analizi için P= 0.04). Homosistein değeri en yüksek çeyrek dilimin en düşük çeyrek dilime göre, OR değeri 1.72 olarak bulunmuştur (% 95 güven aralığı CI = 0.83–3.65, trend analizi P değeri = 0.09). Ayrıca, kolorektal kanser riskinin, ortalama serum folatı ve ortalama üstü alkol tüketimi olan hastalarla, ortalama serum folatı ve ortalamanın altında alkol tüketimi olan hastaların karşileştırmasında iki kat daha yüksek olduğu görülmüştür (OR = 1.99,% 95 güven aralığı, CI= 0.92-4.29) (Kato vd., 2006).

Kolorektal kanser ve yüksek homosistein konsantrasyonuyla ilgili risk faktörleri, (Ulvik vd., 2004), kolorektal kanser hastalarında, daha yüksek oksidatif stresin seviyeleri ve yüksek ya da düşük antioksidan enzim aktiviteleri, sağlıklı kontrol grubu bireylerinin karşılık gelen değerleriyle karşileştırılmıştır (Maffei F, vd., 2011). Feng L. ve arkadaşları, homosistieinin siteine transsülfürleme mekanizmasında koenzim olarak görev alan homosistein, sistein ve piridoksal 5'-fosfatın (PLP) ilişkilerini belirlemeyi ve ayrıca, oksidatif stres göstergeleri ve antioksidan kapasiteleri ile folat ve kolorektal kanser riski ile ilgili ilişkilerini daha fazla analiz etmeyi hedeflemişlerdir (Komatsu vd., 2002). Bu çalışmada 68 kolorektal kanserli hasta ve 188 sağlıklı gönüllü yer almıştır. İncelenen vakalarda, homosistein, sistein ve folat ile oksidatif stres göstergeleri ve antioksidan konsantrasyonları arasında

anlamlı ilişki bulunamadı. Benzer şekilde, potansiyel karıştırıcı değişkenler ayarlandığında, sistein, PLP ve folatın kolorektal kanser riski ile ilişkisi de gözlenmemiştir. Homosistein oksidasyonun neden olduğu daha yüksek homosistein konsantrasyonuna bağlı daha yüksek oksidatif stres gözlenmiştir (Wu vd., 2002). Bununla birlikte, sistein, PLP ve folatın, oksidatif stres, antioksidan derişimler ve kolorektal kanser riski ile ilişkili olmadığı bulunmuştur (Feng vd., 2013).

Hiperhomosisteinemi, enflamasyonla ve KRK risk göstergesi ile ilişkilidir. Sistein ise, homosisteinin metabolik bir ürünü ve antioksidan glutatyonun bir öncüsü olarak düşünülmesine rağmen KRK ile ilişkili olup olmadığı bilinmemektedir. Sisteinin KRK riski ile ilişkili olup olmadığı az sayıda çalışma ile araştırmıştır. Daha yüksek sistein konsantrasyonları ile KRK riskinin azalma eğilim gözlenmesine rağmen yeterli önemli farka ulaşılmamıştır (Lee vd., 2009). Miller ve arkadaşları, menopoz sonrası kadınlarda homosistein ve sistein ile KRK meydana gelme sıklığı arasındaki ilişkileri değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Homosistein, hastalarda, kontrol grubundakilere göre daha yüksek bulunmuştur (geometrik ortalama 6 SD: 9.42 6 1.31 ile kıyaslandığında 9.12 6 1.28 μmol/L, P = 0.04) ve hasta grubunda olanların, homosistein değerlerinin en yüksek çeyreği içinde daha yüksek oranda olduğu görülmüştür. Gruplar arasında, sistein konsantrasyonlarının geometrik ortalamaları (283,9 6 1,1 karşileştırıldığında ile 284,0 6 1,1 μmol/L) veya çeyrek dilimler arasında sistein dağılım yüzdesinde, gruplar arasında bir fark gözlenmedi. Yaş aralığına göre değerlendirildiğinde, KRK için OR değerinin yükselme eğilimi, (P-trend = 0.006) (tüm tümörler kombine edilmiştir), homosistein değeri bakımından en yüksek çeyrek diliminde, en düşük olduğu gözlenmiştir (OR, en düşük çeyrek dilimle karşileştırıldığında en yüksek değerdedir: 1.45; 95% CI: 1.09, 1.92). Bu anlamlı eğilim sadece tüm tümörler için değil, aynı zamanda proksimal (1.57; 1.09, 2.26; Trend analizinde P= 0.005) ve lokal/bölgesel tümörler (1.46; 1.08, 1.98; Trend analizinde P= 0.008) için de gözlenmiştir (Miller vd., 2016).

Homosistein metabolizmasının düzenlenmesi karmaşıktır ve folat ve B12 vitamini dâhil olmak üzere çoklu vitamin kofaktörlerine bağlı olduğu, folat eksikliği, hiperhomosisteineminin önde gelen nedenidir ancak MTHFR mutasyonları da folat metabolizmasını etkileyerek homosistein artışına neden olduğu belirtilmiştir (Isotalo

vd., 2000: Kumar vd., 2005). Sunil C. M. Ve arkadaşları, bir vaka-kontrol çalışmasında, kolorektal kanserli hastalarda, folik asit, vitamin B12 ve homosistein düzeylerini karşileştırmışlardır. Benzer sosyo-ekonomik sınıfta yer alan hasta ve sağlıklı kontrol grubunun seçildiği bu çalışmada, folat alımı ile kolorektal kanser riski arasında, folat alımının en düşük olduğu durumda en yüksek değerde (yaklaşık %30'luk bir azalma ile) ters bir oran olduğu belirlenmiştir (Powers vd., 2005). Van ve arkadaşları düşük folatlı vakalarda kolorektal kanser riskinin azaldığı sonucuna varmışlardır (Van vd., 2006).

Sonuç olarak, mevcut vaka-kontrol çalışmalarında, vakalar ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir folik asit seviyesi gözlemlenmemiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da, plazma toplam homosistein düzeyleri ve kolorektal kanser riskinin artması lehinde bir eğilim gözlenmiştir. B12 vitamini değerleri ise hasta bireylerde anlamlı olarak daha yüksek olarak belirlenmiştir (P= 0.14). (Sunil C.M. vd., 2008).

Homosistein sağlık ve hastalık durumunda önemli bir aminoasittir. Kanser hastalıkları için bir risk faktörü oluşturmaktadır. Bu nedenle çalışma ve araştırma yapılması gerekmektedir.

Bu çalışmada, bir Türk populasyonunda kolorektal kanser hastalarındaki homosistein varyasyonlarını değerlendirmeyi ve bunları sağlıklı bireylerle karşılaştırmayı ve ayrıca homosistein düzeyleri ve hastaların klinik patolojik parametreleri arasındaki ilişkileri araştırmayı amaçladık.

Türk popülasyonunda kolorektal kanserdeki homosistein varyasyonları hakkında yeni veriler eklemeyi hedefliyoruz.

3. YÖNTEM

Plazma tHcy için referans aralıkları laboratuarlar arasında geniş çapta değişmektedir. Bu farklılıklar temel olarak kan örneklerinin kullanımında, işlenmesinde ve kullanilen laboratuar yöntemindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Seshadri vd., 2001). HHcy'ye artan ilgi, tHcy'nin ölçümü için birkaç farklı yöntemin geliştirilmesine yol açmıştır (Selhub vd., 1992). Homosisteinin analizindeki temel problem onun kararsızlığından kaynaklanmaktadır. En yaygın olarak kullanilen yöntemler şu şekilde sıralanabilir: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS), Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), elektrokimyasal tayin, aminoasit tayini ve Floresans Polarizasyon İmmün analiz (FPIA), Enzime bağlı immun analiz (ELISA).

Hiperlipidemik ve ikterik numuneler, plazma Hcy testinde, plazma veya serumda güvenle kullanilebilir ancak hemoliz numuneleri, FPIA teknikleri ile ölçüldüğü için plazma tHcy konsantrasyonu üzerinde önemli bir etki oluşturur ve hata olarak yüksek sonuçlar verir (Marangon vd., 1999).

3.1 Çalışma Konuları

Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalaması sırasıyla (63,32 ± 2,10 yıl) ve (56,2 ± 3,07 yıl) olarak seçildi. Hasta grubunun teşhis ve kanser durumu, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden alınan standart anket, patolojik kayıtlar ve tıbbi kayıtlarla doğrulandı. Kontrol grubu ise, düzenli bir şekilde ileç almamış sağlıklı gönüllüler arasından rastgele seçildi.

Kolorektal kanser fazı, Amerikan Ortak Kanser Komitesi'nin (AJCC) TNM sınıflandırmasına göre tanımlandı. Tümörler, tümörün lokalizasyonuna göre T1, T2, T3 ve T4 alt sınıflarında kategorize edildi. Çalışmanın onayı 23.06.2017 tarihli 1015 karar nolu İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu tarafından yapıldı. İzlenen protokol, Helsinki Dünya Sağlık Derneği Bildirgesi (İnsan Konuları İçeren Tıbbi Araştırmalar Etik İlkeleri) ile tutarlıydı.

Plazma Hcy seviyelerinin analizi, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, moleküler Tip bölümü laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

Plazma Hcy seviyeleri, SHANGHAI YEHUA Biological Technology Co., Ltd.'den satın alınan Enzyme-Linked immunoassay (ELISA) metodu, Human Homocysteine (Hcy) ELISA Kiti (Cat.No : YHB1572Hu) kullanilerak belirlendi. Bu kit, İnsan serumu, kan plazması ve diğer ilgili biyolojik sıvı numunelerinin Homosistein (Hcy) değerlerini analiz etmek için kullanıldı.

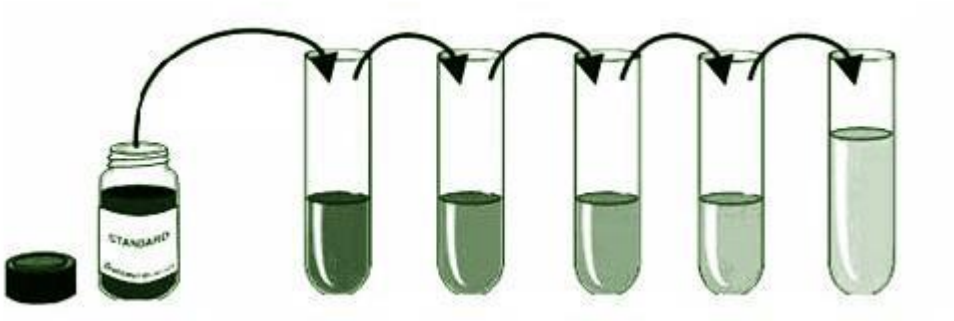
Analiz aralığı: 0.2 nmol/ml → 60 nmol/ml.

Duyarlılık: 0.09 nmol/ml.

İnsan Homosisteini (Hcy) analizi için "biotin double antibody sandwich technology" baz alarak Enzyme-Linked Immune Sorbent Assay (ELISA) kiti kullanılmıştır.

3.2 ELISA Analiz metodu

- Reaktifler, numuneler ve standartlar hazırlanır.
- Kullanilecak olan kit, 2-8^{o}C aralığındaki saklanma ortamından çıkarıldıktan sonra en az 30 dakika oda sıcaklığında bekletilir. Kaplanmış ELISA plakaları, açıldıktan sonra kullanılmadığı takdirde, kapalı torbalarda saklanır.
- Enjektör kullanılırak numuneler eklenir ve bireysel hataları önlemek için sık sık hassasiyet kontrolü yapılır.
- Uygulama talimatları takip edildi ve deney sonucunun belirlenmesi için ELISA okuyucunun okunması standardlara göre yapıldı.
- Kullanilen kitlerin standart konsantrasyonunu sağlamak için küçük deney tüplerinde standart çözeltiler seyreltildi (Şekil 7).



Şekil 8. Numunelerin seyreltilmesi

- Hazırlanmış numuneler ve standartlar, Biyotin ve ELISA çözeltileri ile etiketlenmiş ikinci antikor birlikte eklendi. Ardından, reaksiyon 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
- Gereken şerit sayısı, standartlara uygun test edilen numunelere göre belirlenir. Her standart ve her bir kör çözeltinin mümkün olduğunca çok sayıda kuyucuk ile düzenlenmesi tavsiye edilir.
- Numune enjeksiyonu:

Kör kuyucuğu; Numune, biyotin ve streptavidin-HRP ile etiketlenmiş Hcy antikoru eklenmedi; kromojen reaktif A & B ve stok çözeltisi eklenir, bu işlem her adımda aynıdır.

Standart çözelti kuyucuğu; kuyucuklara, 50 µL standart ve 50 µL streptomisin-HRP eklenir (biyotin antikorları önceden standart olarak birleştirilmiştir, bu nedenle biyotin antikorları eklenmez).

Numune kuyucuğu: Aşağıdaki aşamalarda hazırlanır.

- ✓ 40 µL numune daha sonra 10 µL Hcy antikoru ve 50 µL streptavidin-HRP eklenir.
- ✓ Daha sonra plaka membranı ile hava almayacak şekilde kaplanır.
- ✓ Karıştırma amacıyla çok yavaşca çalkalanır ve 37 ^{o}C'de 60 dakika inkube edilir.
- ✓ Distile su ile 30 kat seyreltilmiş yıkama çözeltisi hazırlanır.
- ✓ Yıkama: kaplanmış plaka membranı dikkatlice çıkarılır, sıvı boşaltılır ve çalkalanır. Her bir kuyucuk yıkama çözeltisi ile doldurulur, 30 saniye boyunca durulandıktan sonra boşaltılır. Bu işlem beş kez tekrarlandıktan sonra plaka kurutma kâğıdı ile kurulanır.

- ✓ Renk gelişimi: öncelikle her bir kuyucuğa 50 µL kromojen-A reaktifi, ardından da 50 µL kromojen-B reaktifi eklenir. Nazikçe çalkalanan karışım, renk gelişimi için karanlık ortamda 37 ^{o}C'de 10 dakika inkube edilir.
- ✓ Stop: Reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa 50 µl stop çözeltisi eklenir (o anda renk maviden sarıya değişir).
- ✓ Analiz: Kör kuyucuk sıfır olarak kabul edilir. Her bir kuyucuğa stop çözeltisi eklendikten 10 dakika sonra, 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri (OD) ölçülür.
- ✓ Standart konsantrasyonlar ve karşılık gelen OD değerlerine göre, doğrusal regresyon, standart eğri denkleminden hesaplanır. Daha sonra numunelerin OD değerine göre, karşılık gelen numunenin konsantrasyonunu hesaplanır. İstatistiksel yazılım kullanılır.

- Reaktifler, Kör (B), Numuneler (S) ve Standartlar (St), biyotin ve ELISA çözeltileri ile etiketlenmiş ikinci antikor ile birlikte aşağıdaki protokole göre eklenir:

Tablo 4'te, ELISA protokolüne göre test edilen ve eklenen numunelerin (S) ve Kontrollerin (C) tespit edildiği numunelerin, standartların, Boşlukların, Kontrollerin dağılımını göstermektedir. Her standart çözeltinin ve her bir boş kuyucuğun mümkün olduğunca çok sayıda kuyucuk ile düzenlenmesi önerilir.

Tablo 4. *ELISA'da örnekleme protokolü*

/	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	B1	B2	St 1	St 1	St 2	St 2	St 3	St 3	St 4	St 4	St 5	St 5
B	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
C	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
D	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F	S	S	S	S	S	S	S	S	S	C	C	C
G	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
H	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C

3.3 Veriler ve İstatistik Analiz

Hastanın tüm bilgileri (yaş, KINsiyet, kanser tipi, ilaçlar, herhangi bir tedavi alıp almadığı, Kanun (Act)) alınacak ve analiz edilecektir.İstatistiksel analiz SPSS

yazılım paketi (revizyon 21.0; SPSS Inc., Armonk, NY, ABD) kullanılarak yapıldı. Betimleyici istatistikler, ortalama, standart sapma ve yüzdeleri içerir. Hastalar ve kontroller arasındaki klinik parametrelerdeki farklılıkların ortalama değerleri, eşleştirilmemiş Student t-testi ile karşileştırılır ve ortalama ± SD olarak ifade edilir. Hasta ve kontroller arasındaki kategorik aleller ve genotiplerin dağılımlarındaki farklar ve kategorize edilmiş dağılımları karşileştırmak için Ki-kare testi kullanıldı. 0.05'ten küçük P değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Kolorektal Kanser Hastaları ve Kontrollerin Özellikleri

Bu çalışmada, kolorektal kanserli hastalardan alınan örnekler ELISA ile test edilmiştir. Elde edilen konsantrasyonlar Tablo 5 ve Şekil 8'de gösterildiği gibi olmuştur.

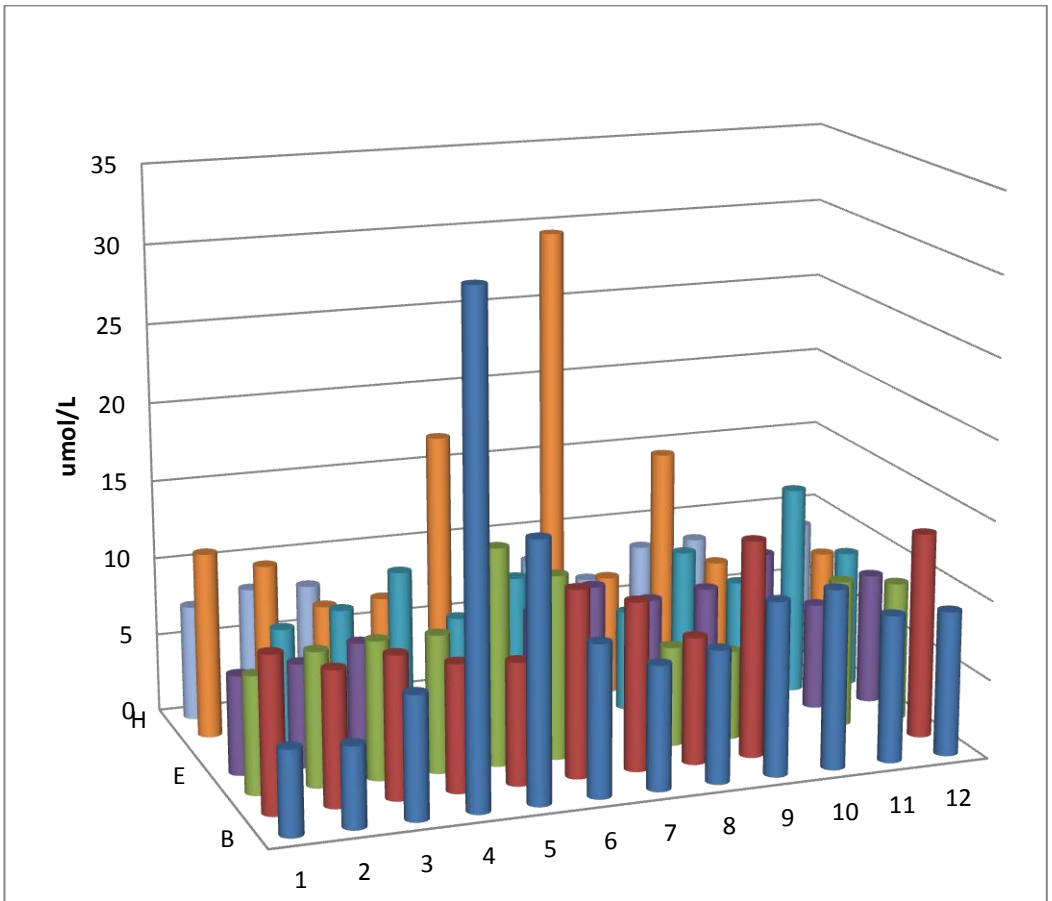
Tablo 5'te, B1'den F9'a dağıtılan hastaların numuneleri (5.34 - 31.4 nmol / L) arasında değişen Homosistein konsantrasyonlarının yanı sıra kontrol numunelerinin de Homosistein konsantrasyonlarının (6.47 - 17.8 nmol / L) F10'dan H12'ye dağıldığını gösterir. Ayrıca >Max, absorpsiyonun çok yüksek olduğunu göstermektedir.

Tablo 5. *Kolorektal kanserli hastalarda homosistein konsantrasyonları*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	5.347	5.102	7.764	31.41	16.29	9.591	7.847	8.381	10.98	11.33	9.309	9.16
C	9.873	8.517	8.997	8.062	7.744	11.82	10.66	8.026	13.69	> Max	> Max	13.04
D	7.423	8.490	8.745	8.696	13.72	11.63	> Max	6.305	5.639	> Max	9.335	8.832
E	6.262	6.587	7.486	> Max	9.909	8.238	9.495	8.245	8.573	10.45	6.76	8.318
F	> Max	7.655	8.474	10.5	7.171	9.379	8.009	6.368	9.909	7.559	13.31	8.765
G	11.76	10.62	7.645	7.777	17.8	9.19	30.2	7.618	15.4	7.864	> Max	7.721
H	7.323	8.076	7.91	> Max	> Max	> Max	8.086	6.471	8.275	8.427	> Max	8.682

KRK'li 31 hasta ve 22 sağlıklı kontrol grubu üzerinde homosistein düzeyi belirlendi. Tüm çalışma grupları (hastalar ve kontroller) yaş ve KINsiyet bakımından benzer dağılımlarda olmasına özen gösterilerek seçildi. Hastalar (63,32 ± 2,10 yıl) ve kontroller (56,2 ± 3,07 yıl) arasında anlamlı bir fark belirlenemedi (p = 0.053). KRK'li hastalar ve kontrol grubunun yaş, KINsiyet ve klinikopatolojik parametrelere (tümör yeri, tümör evresi, lenf nodu metastazı, uzak metastaz, perinöral invazyon, müsinöz bileşen varlığı) ilişkin özellikleri Tablo 6'da gösterilmiştir. Tablo 5, KRK'li hastalarda (n = 31) ve kontrol grubunda (n = 22) klinikopatolojik parametreleri

karşılaştırarak homosistein seviyelerini göstermektedir. KRK'li hastalarda homosistein seviyelerinin (12.51 ± 2.02) kontrol grubunda (8.02 ± 0.18) olanlara göre daha yüksek olduğu bulundu (p = 0.042). Üzerinde çalışılan hastaların elde edilen patolojik parametreleri bakımından homosistein seviyeleri arasında anlamlı fark belirlenemedi (p> 0.05). Bununla birlikte, müsinöz bileşeni olan hastalarda homosistein seviyeleri biraz daha yüksek bulundu ancak bu sonuçlar istatistiksel açıdan anlamlı değildir (p> 0.05).



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	5,347	5,102	7,764	31,41	16,29	9,591	7,847	8,381	10,98	11,33	9,309	9,16
C	9,873	8,517	8,997	8,062	7,744	11,82	10,66	8,026	13,69			13,04
D	7,423	8,49	8,745	8,696	13,72	11,63		6,305	5,629		9,335	8,832
E	6,262	6,587	7,486		9,909	8,228	9,495	8,245	8,573	10,45	6,76	8,318
F		7,655	8,474	10,5	7,171	9,379	8,009	6,368	9,909	7,559	13,31	8,765
G	11,76	10,62	7,645	7,777	17,79	9,19	30,2	7,618	15,39	7,864		7,721
H	7,323	8,076	7,91				8,086	6,471	8,275	8,427		8,682

Şekil 9. Kolorektal kanserli hastalarda homosistein konsantrasyonları

Tablo 6. *Kolorektal Kanser Hastaları ve Kontrollerin Özellikleri*

Bireylerin numarası		n(hastaların)	n(kontrollerin)
		31	22
Yaş (yıl) ortalama ± (SE)		63,32 ± 2,10	56,2 ±3,07
KINsiyet	Erkek	64,84±1,98	59,38±4,77
	Kadın	60,9±4,47	54,08±4,067
Tümör lokasyonu (%)			
Sol kolon		6,5	-
Sağ kolon		25,8	-
Rektosigmoit		3,2	-
Sigmoit		48,4	-
Çekum		3,2	-
Rektum		12,9	-
Tümör evresi (%)			
I		3,2	-
II		6,5	-
III		41,9	-
IV		48,4	-
Lenf Düğümü Sınıflaması (%)			
N0		35,5	-
N1		38,7	-
N2		25,8	-
Uzak Metastaz (%)			
Var		51,6	-
Yok		48,4	-
Perinöral Yayılım (%)			
Var		41,9	-
Yok		58,1	-
Farklılaşma (%)			
İyi Farklılaşmış		41,9	-
Orta Farklılaşmış		32,3	-
Kötü Farklılaşmış		25,8	-
Müsinöz Yapı (%)			
Pozitif		38,7	-
Negatif		61,3	-

n: birey sayısı, SE: Standart sapma

Tablo 7. *Klinikopatolojik parametrelerle karşileştırmalık homosistein seviyeleri*

	Homosistein seviyeleri (nmol/mL)
KINsiyet	
Kadın	13,12 ±3,9
Erkek	12,16 ±2,32
Tümör Evresi	
III/IV	11,79 ±2,01
I/II	22,58 ±11,92
Lenf Düğümü Sınıflaması	
N+	10,54 ±1,94
N-	15,91 ±4,33
Metastaz	
Var	12,25 ±4,10
Yok	19,65 ±6,43
Perinöral Yayılım	
Var	8,69 ±0,53
Yok	15,43 ±3,41
Farklılaşma	
İyi-orta Farklılaşmış	12,48 ±2,40
Kötü Farklılaşmış	12,62 ±3,87
Müsinöz Yapı	
Pozitif	14,82 ±4,55
Negatif	10,97 ±1,52

n: hasta numarası, Mann- Whitney U:gruplar arasında kullanilen test, inv:invazyon, veriler"ortalama ± (SE)" şeklinde verilmiştir.

4.2 İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analiz SPSS yazılım paketi (revizyon 21.0; SPSS Inc., Armonk, NY, ABD) kullanilerak yapıldı. Belirleyici istatistikler, ortalama, standart hata ve yüzdeleri içerir. Hastalar ve kontroller arasındaki klinik parametrelerdeki farklılıkların ortalama değerleri Mann-Whitney U testi ile karşileştırıldı. P'nin 0,05'ten küçük değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, Türkiye'de yaşayan kolorektal kanserli (KRK) hastalarını Hcy konsantrasyonunun farklı koşullar altında değerlendirilmesidir. Genel olarak, bu çalışmada elde edilen sonuçlar diğer çalışmalarda elde edilen verilere göre biraz daha yüksektir (kadınlarda 13,12 ± 3,9 nmol/L; erkeklerde 12,16 ± 2,32 nmol/L). Bu sonuçlar, normal Hcy seviyesi aralığının, Boushey ve arkadaşları tarafından (Boushey vd., 1995) üst sınırının 12 nmol/L'den daha az olması gerektiğini ve De Stefano ve arkadaşları tarafından ise 5-14.5 nmol/L aralığında olması gerektiğini bildiren çalışmalardan ayrı tutuldu.Birçok çalışma, referans değerlerinin belirli bireysel popülasyonla ilişkili olduğunu ve plazma toplam homosistein konsantrasyonunu belirleyen ve etkileyen faktörlerden biri olan KINsiyetin etkisini öne çıkarmaktadır. Bu çalışmada erkek ve kadın grupları arasında belirgin bir fark bulundu ve kadınlarda toplam Hcy konsantrasyonu daha yüksek olarak bulundu. Bu bulgular, 2001 yılında Estrada ve arkadaşları tarafından elde edilen sonuçlar ile benzer değerlerdi. Yaptıkları çalışmada yaş ve KINsiyete göre metiyonin yüklemeden önce ve sonra homosistein seviyelerini incelemişlerdir (Estrada vd., 2001).

Kolorektal kanser (KRK), Dünya genelinde hem erkek hem de kadınlarda en sık saptanan üçüncü kanser türü olup, akciğer ve meme kanserlerinden sonra, 2012'de yaklaşık 1,4 milyon yeni vaka saptanmıştır (Jorgensen vd., 2015). 22 erkekten birine ve 24 kadından birine KRK tanısı konulacağı ve 2017 yılında yaklaşık 27150 erkek ve 23110 kadının KRK'den öleceği öngörülmektedir (Yin vd., 2011). Hastaların sağ kalma oranı, teşhis anında tümörün hangi evrede olduğuna aşırı derecede bağlıdır. KRK vakalarının sadece %40'ında erken teşhis söz konusudur ve bu hastaların yaklaşık %50'si metastatik kansere dönüşür (Gonzalez-Pons ve Cruz-Correa, 2015). Metastatik KRK, hala kanserden dördüncü en yaygın ölüm nedeni olmaya devam etmektedir (Kato vd., 1999; Singh vd., 2015). Teşhis ve tedavideki son ilerlemelere rağmen, hedefe yönelik tedaviler de dahil olmak üzere, bu ileri KRK'nin öngörülme oranı yeterli değildir (Kocian vd., 2011). Moleküler biyolojideki ilerlemeler, kolorektal karsinogeneze yol açan bazı genetik mekanizmaların netleşmesine

yardımcı olmuştur (Gonzalez-Pons ve Cruz-Correa, 2015). Kolorektal kanserli hastalarda, sağlıklı kontrollerde bulunan değerlere karşılık gelen değerlerle karşılaştırıldığında (Maffei vd., 2011; Leufkens vd., 2012), kolorektal kansere bağlı risk faktörleri arasında homosistein konsantrasyonu artışı, daha yüksek seviyelerde de oksidatif stres ve yüksek/düşük antioksidan enzim aktiviteleri gözlenmiştir (Chiang, FF vd., 2014; Ulvik, A., vd., 2004). Kolorektal kanserli hastalarda homosistein ve oksidatif stres durumunun veya antioksidan kapasitelerin rol oynadığı düşünülmektedir. Daha yüksek homosistein konsantrasyonu, reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimini indükleyen homosistein oksidasyonu mekanizması üzerinden yüksek oksidatif strese neden olabilir (Signorello vd., 2007; Wu ve Wu, 2002) ve bunun sonucu olarak daha büyük oksidatif strese yol açar (Nishio vd., 1997; Huang vd., 2001). Hiperhomosisteineminin (plazma homosistein ≥ 14 mmol/L), kolorektal kanser gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Kato vd., 1999; Kaji vd., 2011). Homosistein ile kolorektal kanser gelişimi arasındaki ilişki incelenmiş olmasına rağmen, sonuçlar tutarlı bulunmamıştır. Diğer bazı çalışmalarda bir ilişki bulunmamışken (Le Marchand vd., 2009; Weinstein vd., 2008), bazı çalışmalarda ise anlamlı bir pozitif ilişki gözlemlenmiştir (Kaji vd., 2011; Miller vd., 2013).

Chiang ve arkadaşları yüksek homosistein konsantrasyonunun, antioksidan kapasitelerinden ve oksidatif stres göstergelerinden bağımsız olarak kolorektal kanser riski ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (Chiang vd., 2014). Benzer şekilde; Miller ve arkadaşları KRK vakaları için, yüksek homosistein ve düşük sisteinin risk faktörleri olduğunu göstermişlerdir. B vitamini takviyesi gibi katkilerla homosistein miktarını azaltmayı ve sistein miktarını artırmayı hedeflemeye yönelik müdahalelerin KRK riskini azaltacağı belirlenmiştir (Miller vd., 2013).

Van ve arkadaşları 226 kolorektal kanser vakasında ortalama plazma homosistein düzeyinin ve nüfusa bağlı Kuzey İsveç Sağlık ve Hastalık Çalışmasından 437 eşdeğer referansın anlamlı bir farklılık göstermediğini ve plazma homosistein konsantrasyonlarının kolorektal kanser riski ile anlamlı bir şekilde ilişkili olmadığını göstermişlerdir (Van Guelpen vd., 2006). Kaji ve arkadaşları tarafından son evre böbrek hastalığı olan hastalarda yüksek homosistein konsantrasyonunun kolorektal tümör oluşumu ile ters orantılı olduğu bildirilmesine rağmen (Kaji vd., 2011), yüksek

plazma total homosistein düzeyleri ve kolorektal kanser arasındaki ilişki diğer üç vaka kontrol çalışmasında bildirilmiştir (Al-Ghnaniem, 2007; Chandy vd., 2008).

Genel olarak, hiperhomosisteinemi ile kolorektal kanser riski arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda, yüksek homosistein düzeyleri ile ilişkili olarak kolorektal kanser riskinin bir artma eğilimi gösterdiği rapor edilmiştir. Her ne kadar çalışmaların çoğu, hiperhomosisteineminin karsinojenez üzerindeki etkisinin, hiperhomosisteinemiye neden olan metabolik mekanizmalara bağlı olarak, düşük folat ve B vitamini eksiklikleri ile ilişkili olduğunu göstermiş olsa da, hiperhomosisteineminin bağımsız etkilerini gösteren iyi tasarlanmış çalışmalarda kolorektal kanser gelişimiyle ilgili bazı bulgular da vardır (Keshteli, AH, VE Baracos ve KL Madsen, 2015).

Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının aynı sosyo-ekonomik düzeyde olduğu bu tez çalışmasında, kolorektal kanserli hastaların homosistein düzeylerini değerlendirdik. Hasta ve kontrol grubu üyeleri arasında önemli bir yaş farkı olmamasına dikkat edildi. KRK hastalarında homosistein düzeylerinin kontrol grubu üyelerine göre daha yüksek olduğu bulundu. Bu sonuçlara dayanarak, yüksek homosistein düzeyi ile kolorektal kanser riskinin artışı arasında pozitif ilişki olduğu düşünülmektedir.

Hastaların tüm patolojik parametreleri açısından homosistein düzeyleri arasında anlamlı fark belirlenemedi. Bununla birlikte, müsinöz bileşeni olan hastalarda biraz daha yüksek homosistein düzeyleri bulundu ancak istatistiksel olarak önemlibir fark belirlenemedi. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, belirlenen ön bulgulara ek olarak daha büyük bir örnek büyüklüğü ile teyit edilmelidir. Kolorektal kanserde plazma Hcy düzeylerinin değerini bir belirteç olarak değerlendirmek için daha fazla sayıda hasta ile yapilen daha fazla çalışma gereklidir.

6. ÖNERİLER

Kolorektal Kanserli (KRK) olan hastaların homosistein düzeyi, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Moleküler Tip Anabilim Dalı, Deneysel Tip Enstitüsü'nde belirlenmiştir. Elde edilen verilerde, sonuçların diğer çalışmalara göre biraz daha yüksek olduğunu, erkeklerle (12,16 ± 2,32) ile karşılaştırıldığında, kadınlarda (13,12 ± 3,9) Hcy konsantrasyonunda önemli bir artış olduğunu gözlenmiştir.

Ayrıca, hastaların ve sağlıklı kontrollerin aynı sosyo-ekonomik düzeyde seçildiği bu çalışmada, kolorektal kanserli hastaların homosistein düzeyleri de değerlendirildi. Hasta ve kontrol üyelerinin yaş aralıklarında seçildiği bu çalışmada, KRK hastalarının homosistein düzeylerinin kontrol grubunda olanlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç yüksek homosistein düzeyinin kolorektal kanser riski artışı ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Hastaların tüm patolojik parametreleri için homosistein düzeyleri arasında anlamlı fark belirlenmedi. Bununla birlikte, müsinöz bileşeni olan hastalarda biraz daha yüksek homosistein düzeyleri bulundu, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Son olarak, daha fazla sayıda Türk hastadan oluşan kolorektal kanserli hasta üzerinde daha fazla sayıda araştırma yapilerak bu çalışmada elde edilen bulgular desteklenmelidir

KAYNAKLAR

Abu-lebdh H.S., Barazoni R., Meek S.E., Bigelow M.L., Persson X.T. and Nair K.S.Effects of insulin deprivation and treatment on homocysteine metabolism in people with type 1 diabetes. J. Endcrin. & metabolism, 91: 3344-3348,(2006)

Akoglu B, Milovic V, Caspary WF, Faust D. Hyperproliferation of homocysteine-treated colon cancer cells is reversed by folate and 5-methyltetrahydrofolate. Eur J Nutr 2004.

Alberg Al et al. The risk of cervical cancer in relation to serum concentrations of folate, vitamin B", and homocysteine.Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention, 2ooo; 9:761-764.

Ammar Hassanzadeh Keshteli, Vickie E Baracos, Karen L Madsen. Hyperhomocysteinemia as a potential contributor of colorectal cancer development in inflammatory bowel diseases,World J Gastroenterol, 28; 21(4): 2015.

Anello G., et al. Homocysteine plasma rates and severity of mental retardation in Down syndrome. Homocysteine Metabolism, 3'd International Conference 1-5 July 2001. Abstract 195.

Baron JA et al. Folate intake, alcohol consumption, cigarette smoking, and risk of colorectal adenomas. Natl Cancer Inst, 1998; 90:57-62., 2004; 62:773-779.

Berger SL, Kouzarides T, Shiekhattar R, Shiletifard A. An operational definition of epigenetics. Genes Dev. 2009; 23: 781-783. 16.Rodenhiser D, Mann M. Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications. CMAJ. 2006; 174: 341-348.

Bergman S et al. Konzentration von Vitamin B" and Folsäure bei Raucherinnen mittleren Alters. AtemwegsLungenkr, 1997; 23.

Bhattacharjee N, Borah A. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction are the underlying events of dopaminergic neurodegeneration in homocysteine rat model of Parkinson's disease. Neurochem Int. 2016; 101:48–55.

Bingham SA: Epidemiology and mechanisms relating to risk of colorectal cancer. Nutr Res Rev 9, 197–239, 1996.

Blom, H. & Smulders, Y. Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. USA: Journal of Inherited Metabolic Disorders. February 2011; Vol. 34, No. 1. pp. 75-81.

Blount, B.C., Ames, B.N., 1995. DNA damage in folate deficiency. Baillieres Clin

Bobe G, Murphy G, Rogers CJ, Hance KW, Albert PS, Laiyemo AO, Sansbury LB, Lanza E, Schatzkin A, Cross AJ. Serum adiponectin, leptin, C-peptide, homocysteine, and colorectal adenoma recurrence in the Polyp Prevention Trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2010.

Boldyrev A.A., Bryushkova E., Mashkina A., Vladychenskaya E. Why is homocysteine toxic for the nervous and immune systems Curr. Aging Sci. 2013. 6:29–36.

Bostom A., Brosnan J. T., Hall B., Nadeau M.R. and Selhub J. Net uptake of the plasma homocysteine by the rat kidney in vivo. Atheroscl. 116: 59-62. (1995).

Broxmeyer L. Heart disease: the greatest 'risk' factor of them all. *Med Hypotheses*. Haematol. 8, 461–478.

Cafolla A Et al. Folate status in Italian blood donors: relation to gender and smoking.

Carlsen SM, Jacobsen G, et al. In pregnant women who smoke, caffeine consumption is associated with an increased level of homocysteine. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2005; 84:1049-1054.

Cattaneo M., Vecchi M., Zighetti M. L., Saibeni S., Martinelli I., Omodei P., Mannucci P.M. and De Franchis R. High prevalence of hyperhomocysteinemia in patients with inflammatory bowel disease: a pathogenic link with thromboembolic complications Thromb. Haemost. 80:542-545, (1998).

Chambers JC et al. Improved vascular endothelial function afteroral B vitamins.

Chandy S , Sadananda Adiga MN, Ramaswamy G, Ramachandra C, Krishnamoorthy L. Effect of Vitamin B12 and Folate on Homocysteine levels in colorectal cancer. Indian J Clin Biochem 2008.

Chauveau P., Chadefaux B., Coudé M., Aupetit J., Hannedouche T., Kamoun P. and Jungers P. Hyperhomocysteinemia, a risk factor for atherosclerosis in chronic uremic patients. Kidney Int. 43, (suppl 41): S72-S77, (1993).

Chen J et al. A methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk of colorectal cancer. Cancer Res, 1996; 56: 4862-4

Chen, T. T. Milestone survival: a potential intermediate endpoint for immune checkpoint inhibitors. Journal of the National Cancer Institute, 107(9), pp 157, (2015).

Chiang FF, Wang HM, Lan YC, Yang MH, Huang SC, Huang YC. High homocysteine is associated with increased risk of colorectal cancer independently of oxidative stress and antioxidant capacities. Clin Nutr 2014.

Chowers Y, Sela BA, Holland R, Fidder H, Simoni FB, Bar-Meir S. Increased levels of homocysteine in patients with Crohn's disease are related to folate levels. Am J Gastroenterol. 2000; 95:3498–502. Circulation, 2ooob; 102:2479-83.

Clarke R., Smith A. D., Jobst K. A., Refsum H., Sutton L. and Ueland P. M. Folate, vitaminB12 and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. Arch. Neur. 55: 1449-1455, (1998).

COMA Working Group on Diet and Cancer. Nutritional aspects of the development of cancer: UK Department of Health Report on Health and Social Subjects (No. 48). Norwich: HMSO, 1998.

Curran J. S., Baress L. A., Berhmn R. E., Kligman R. M. and Jenson H. B, (eds). Nelson textbook of pediatrics. 16th ed. W. B. Saunders Company,pp138-149. (2000).

Curro M, Gugliandolo A, Gangemi C, Risitano R, Ientile R, Caccamo D: Toxic effects of mildly elevated homocysteine concentrations in neuronal-like cells. Neurochem Res 2014. Haematologica, 2000; 85.

Danese S, Sgambato A, Papa A, Scaldaferri F, Pola R, Sans M, Lovecchio M, Gasbarrini G, Cittadini A, Gasbarrini A. Homocysteine triggers mucosal microvascular activation in inflammatory bowel disease. Am J Gastroenterol. 2005; 100:886–95.

Das PM, Singal R: DNA methylation and cancer. J Clin Oncol *22*:4632-4642, 2004.

Davis CD, Uthus EO. DNA methylation, cancer susceptibility, and nutrient interactions. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2004.

Dayal S, Lentz SR. Murine models of hyperhomocysteinemia and their vascular phenotypes. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2008; 28:1596– 605.

De Bree, A., Verschuren, W.M., Blom, H.J. and Kromhout, D. Lifestyle factors and plasma homocysteine concentrations in general population sample. A. J. of Epidemiology 154: 150-154, (2001).

De Schoolmeester, V., Baay, M., Specenier, P., Lardon, F., & Vermorken, J. A review of the most promising biomarkers in colorectal cancer: one step closer to targeted therapy. *Oncologist, 15*(7), 699-731. (2010).

De schoolmeester, V., Smits, E., Peeters, M., & Vermorken, J. B. Status of active specific immunotherapy for stage II, stage III, and resected stage IV colon cancer. Current Colorectal Cancer Reports, 9(4), 380-390, (2013).

De Stefano V., Finazzi G. and Mannucci P. M. Inherited thrombophilia pathogenesis, clinical syndromes, and management. Blood 87: 3531-3544. (1996).

Dekou V et al. Gene-environment and gene-gene interaction in the determination of plasma homocysteine Ievels in healthy middle-aged men. Thromb Haemost, 2001; 85.

Dietlein F1, Reinhardt HC1. Molecular pathways: exploiting tumor-specific molecular defects in DNA repair pathways for precision cancer therapy. Clin Cancer Res. 2014.

Dietlein F1, Thelen L2, Reinhardt HC3. Cancer-specific defects in DNA repair pathways as targets for personalized therapeutic approaches,2014.

Ducasse M, Brown MA. Epigenetic aberrations and cancer. Mol Cancer. 2006; 5: 60.

Duthie, S.J., Grant, G., Narayanan, S., 2000. Increased uracil misincorporation in lymphocytes from folate-deficient rats. Br. J. Cancer 83, 1532–1537.

Eleftheriadou A, Chalastras T, Ferekidou E, Yiotakis I, Kyriou L, Tzagarakis M, Ferekidis E, Kandiloros D. Association between squamous cell carKINoma of the head and neck and serum folate and homocysteine. Anticancer Res 2006; 26: 2345-2348(1990). disease: *Swiss Med Wkly* 2006.

Elias MF, Sullivan LM, et al. Homocysteine and cognitive performance in the Framingham offspring study: age is important. *Am J Epidemiol*. 2005; 162:644-653.

Esteller M, Sparks A, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, et al.: Analysis of adenomatous polyposis coli promoter hypermethylation in human cancer. Cancer Res 60,4366–4371, 2000.

Estrada D. A. and Billett H. H. Racial variation in fasting and random homocysteine levels. Am. J. Hematol. 66: 252-256. (2001).

Faeh D, Chiolero A, Paccaud F: Homocysteine as a risk factor for cardiovascular

Faraci F.M., Lentz S.R. Hyperhomocysteinemia, oxidative stress, and cerebral vascular dysfunction. Stroke. 2004, 35:345–347.

Feinberg A and Vogelstein B: Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. Nature 301, 89-92, 1983.

Feinberg AP, Gehrke CW, Kuo KC, and Ehrlich M: Reduced genomic 5-methylsitozin content in human colonic neoplasia. Cancer Res 48, 1159-1161, 1988.

Ferroni P, Palmirotta R, Martini F, Riondino S, Savonarola A, Spile A, Ciatti F, Sini V, Mariotti S, Del Monte G, Roselli M, Guadagni F. Determinants of homocysteine levels in colorectal and breast cancer patients. Anticancer Res 2009.

Ferroni P, Riondino S, Vazzana N, Santoro N, Guadagni F, Davì G. Biomarkers of platelet activation in acute coronary syndromes. Thromb Haemost 2012.

Finkelstein J. D, Methionine metabolism in mammals. J. Nutr. Biochem. 1:228-238.

Finkelstein J.D, Pathways and regulation of homocysteine,2000.

Fiorina P. et al, Plasma homocysteine and folate are related to arterial blood pressure in type 2 diagetes mellitus. Am J Hypertens, 1998b; 11: 1100-7.

Freudenheim JL et al. Folate intake and carKINogenesis of the colon and rectum. Int l Epidemiology, 1991; 20: 368-74·

Frosst P., Blom H. J., Milos R., Goyette P., Sheppard C. A., Mathews R. G., Bores G. J., Den Haijer M., Kluijtmans L. A. and Van den Heuvell P. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in the methylentetrahydrofolate reductase. Nat. Genet. 10: 111-113,(1995).

Galon, J., Costes, A., Sanchez-Cabo, F., Kirilovsky, A., Mlecnik, B., Lagorce-Pagès, C., et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. Science, 313, pp 1960-1964, (2006).

Ganguly, P. & Alam, S.F. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. USA: Nutrition Journal. January 2015; Vol. 14, No. 6.

Gariballa, S. Testing homocysteine-induced neurotransmitter deficiency, and depression of mood hypothesis in clinical practice. Age Ageing 2011, 40, 702–705.

Giovannucci E, Rimm EB, Ascherio A, Stampfer MJ, Colditz GA and Willett WC (1995) Alcohol, low-methionine-low-folate diets, and risk of colon cancer in men. J Natl Cancer Inst 87: 265–273.

Givvimani S, Munjal C, Narayanan N, Aqil F, Tyagi G, Metreveli N, Tyagi SC. Hyperhomocysteinemia decreases intestinal motility leading to consTipation. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2012;303: G281–290.

Glynn, S.A., Albanes, D., Pietinen, P., Brown, C.C., Rautalahti, M., Tangrea, J.A., Gunter, E.W., Barrett, M.J., Virtamo, J., Taylor, P.R., 1996. Colorectal cancer and folate status: a nested case-control study among male smokers.Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 5, 487–494.

Godsland I. F., Rosankiewicz J. R., Proudler A. J. and Johnston D. G. Plasma total homocysteine concentrations are unrelated to insulin sensitivity and components of the metabolic syndrome in healthy men. J. Clin. Endocr. Metab. 86: 7. 719-723. (2001).

Goldstein NS. Serrated pathway and APC (conventional)-type colorectal polyps: molecular-morphologic correlations, genetic pathways, and implications for classification. Am J Clin Pathol 2006; 125:146–153.

Gonzalez-Pons, M., & Cruz-Correa M. Colorectal cancer biomarkers. *BioMed Research International*, Article ID149014, 14 pages. (2015).

Goyette P., Sumner J. S., Milos R., Duncan A. M., Rosenblatt D. S., Matthews R. G. and Rozen R. (1994). Human methylenetetrahydrofolate reductase isolation of cDNA mapping and mutation identification. Nat. Genet. 7: 551.

Green R., Chong Y. Y., Jacobsen D. W. et al. (1995). Serum homocysteine is high in hypothyroidism: a possible link with coronary artery disease. Irish J. Med. Sci. 61: 621-629.

Guba S. C., Fink L. M. and Fonseca V. Hyperhomocysteinemia: an emerging and important risk factor for thromboembolic and cardiovascular disease. Am J. Clin. Pathol 105: 709-722,(1996).

Guo H, Chi J, Xing Y, Wang P: Influence of folic acid on plasma homocysteine levels & arterial endothelial function in patients with unstable angina. Indian J Med Res 2009.

Guzelmeric K, Alkan N, et al. Chronic inflammation and elevated homocysteine levels are associated with increased body mass index in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 2007; 23:505-510.

Hamilton SR: The adenoma-adenomacarcinoma sequence in the large bowel: variation on a theme. J Cell Biochem 16G, 41-46, 1992.

Hiltunen MO, Koistinaho J, Alhonen L, Myohanen S, Marin S, et al.: Hypermethylation of the WT1 and calcitonen gene promoter regions at chromosome 11p in human colorectal cancer. Br J Cancer 76, 1124-1130,1997.

Hofmann MA et al. Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in IDDM. Diabetes Care, 1998; 21: 841-8

Hvas F., Juul S., Lauritzen L., Nexo E. and Ellegard, J., No effect of vitamin B12 treatment on cognitive on function and depression. J. Afect disorders 8(3):269-273, (2004).

Isotalo PA, Wells GA, Donnelly JG. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298 C mutations. Am J Human Genet 2000; 67:986-90.

Issa JP: Aging, DNA methylation and cancer. Crit Rev Oncol Hematol 32, 5438–5442, 1999.

Jacques PF et al. Serum total homocysteine concentrations in adolescent and adult Americans: results from the third National Health and Nutrition Survey. Am I Clin Nutr, 1999b; 69: 482-9.

Jakubowski H. Protein homocysteinylation: Possible mechanism underlying pathological consequences of elevated homocysteine levels. FASEB J. 1999; 13:2277–2283.

James SJ et al. Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductasegene may be matemal risk factors for Down· s syndrome. Am J Clin Nutr, 1999; 70: 4: 495-01.

Kaji E, Kato J, Saito S, Harada K, Kuwaki K, Tatsukawa M, Morikawa T, Hiraoka S, Matsushima H, Yamamoto K. Serum folate and homocysteine levels are associated with colon tumorigenesis in end-stage renal disease patients. Nutr Cancer 2011.

Kallel L, Feki M, Sekri W, Segheir L, Fekih M, Boubaker J, Kaabachi N, Fileli A. Prevalence and risk factors of hyperhomocysteinemia in Tunisian patients with Crohn's disease. J Crohns Colitis 2011; 5: 110-114.

Kamath AF, Chauhan AK, Kisucka J, Dole VS, Loscalzo J, Handy DE, Wagner DD. Elevated levels of homocysteine compromise blood-brain barrier integrity in mice. Blood. 2006:107:591–593.

Kang S-S, Wang P. W. K., Glickman P. B. et al. Protein-bound homocysteine in patients with rheumatoid arthritis undergoing D-penicillamine treatment. J. Clin. Pharmacol. 26: 712-715, (1986).

Kato, I., Dnistrian, A.M., Schwartz, M., Toniolo, P., Koenig, K., Shore, R.E., Akhmedkhanov, A., Zeleniuch-Jacquotte, A., Riboli, E., 1999. Serum folate, homocysteine and colorectal cancer risk in women: a nested case-control study. Br. J. Cancer 79, 1917–1922.

Keshteli A. H. , Baracos V. E, And K. L. Madsen. Hyperhomocysteinemia as a potential contributor of colorectal cancer development in inflammatory bowel diseases. World Journal of Gastroenterology 21(4):1081-1090 • January 2015.

Kim YI, Fawaz K, Knox T, Lee YM, Norton R, Arora S, Paiva L, Mason JB. Colonic mucosal concentrations of folate correlate well with blood measurements of folate status in persons with colorectal polyps. Am J Clin Nutr 1998.

Kim, Y.I., Shirwadkar, S., Choi, S.W., Puchyr, M., Wang, Y., Mason, J.B., 2000. Effects of dietary folate on DNA strand breaks within mutation-prone exons of the p53 gene in rat colon. Gastroenterology 119, 151–161.

Kocian, P., Sedivcová, M., Drgáč, J., Cerná, K., Hoch, J., Kodet, R., et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and dendritic cells in human colorectal cancer: their relationship to KRAS mutational status and disease recurrence. *Human Immunology*, *72*, (11), 1022-1028. (2011).

Komatsu S. I., H. Watanabe, T. Oka, H. Tsuge, and N. Kato, "Dietary vitamin B6 suppresses colon tumorigenesis, 8-hydroxyguanosine, 4-hydroxynonenal, and inducible nitric oxide synthase protein in azoxymethane-treated mice," Journal of Nutritional Science and Vitaminology, vol. 48, no. 1, pp. 65–68, 2002.

Kovalska M., Kovalska L., Tothova B., Mahmood S., Adamkov M., Lehotsky J. Combination of hyperhomocysteinemia and ischemic tolerance in experimental model of global ischemia in rats. J. Physiol. Pharmacol. 2015, 66:887–897.

Kraus J. D., Jones M., Fukuda S. et al. Cystationine β-synthase mutation in homocysteinuria. Hum. Mutat. 13: 362. (1999).

Kumar J, Das SK, Sharma P, Karthikeyan G, Ramakrishnan L, Sengupta S. Homocysteine levels are associated with MTHFR A1298C polymorphism in Indian population. J Hum Genet 2005; 50:655–63.

Laird PW: The power and the promise of DNA methylation markers. Nat Rev Cancer *3*: 253-266,2003. Chemica. Acta. 286: 63-80, (1999).

Langman L. J. and Cole D. E. C. Homocysteine: cholesterol of the 90s Clinica.

Lashner BA (1993) Red blood cell folate is associated with the development of dysplasia and cancer in ulcerative colitis. J Cancer Res Clin Oncol 119: 549– 554.

Lashner, B.A., Heidenreich, P.A., Su, G.L., Kane, S.V., Hanauer, S.B., 1989. Effect of folate supplementation on the incidence of dysplasia and cancer in chronic ulcerative colitis. A case-control study. Gastroenterology 97, 255– 259.

Leclerc, D. et al. Molecular Biology of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) and Overview of Mutations/Polymorphisms. Madame Curie Bioscience Database. 2013.

Lee JE, Li H, Giovannucci E, Lee IM, Selhub J, Stampfer M, Ma J. Prospective study of plasma vitamin B6 and risk of colorectal cancer in men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18:1197–1202.

Lehotsky J., Petras M., Kovalska M., Tothova B., Drgova A., Kaplan P. Mechanisms involved in the ischemic tolerance in brain: Effect of the homocysteine. Cell. Mol. Neurobiol. 2015. 35:7–15.

Levine AJ, Grau MV, Mott LA, Ueland PM, Baron JA. Baseline plasma total homocysteine and adenoma recurrence: results from a double blind randomized clinical trial of aspirin and folate supplementation. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2010.

Lewis SJ, Harbord RM, Harris R, Smith GD. Meta-analyses of observational and genetic association studies of folate intakes or levels and breast cancer risk. J Natl Cancer Inst. 2006; 98(22):1607–1622.

Li JG, Chu J, Barrero C, Merali S, Pratico D. Homocysteine exacerbates β- amyloid pathology, tau pathology, and cognitive deficit in a mouse model of Alzheimer disease with plaques and tangles. Ann Neurol. 2014; 75:851–63.

Lim YJ, Kim JH, Park SK, Son HJ, Kim JJ, Kim YH. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for colorectal adenoma in women. J Clin Biochem Nutr 2012.

Lissowska J, Gaudet MM, Brinton LA, Chanock SJ, Peplonska B, Welch R, et al. Genetic polymorphisms in the one-carbon metabolism pathway and breast cancer risk: a population-based case-control study and meta-analyses. Int J Cancer. 2007; 120(12):2696–2703.

Litwin M., Abuauba M., Wawer Z., Grenda R., Kuryt T. and Pietraszek E. Folate, vitamin B_{12} sulfur amino acid levels in patients with renal failure. Pediatr. Nephrol. 16: 127-132, (2001).

Long Y, Nie J. Homocysteine in renal injury. Kidney Diseases. 2016; 2:80–87.

Mahmood A, Needham J, Prosser J, Mainwaring J, Trebble T, Mahy G, Ramage J. Prevalence of hyperhomocysteinaemia, activated protein C resistance and prothrombin gene mutation in inflammatory bowel disease. Eur J Gastroenterol Hepatol 2005; 17: 739-744. 2008; 67:232-237.

Ma J., et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. Cancer Res, 1997; 57' 1098-102.

Makos M, Nelkin B, Lerman M, Latif F, Zbar B, et al.: Distinct hypermethylation patterns occur altered chromosome loci in human lung and colon cancer. Proc Natl Acad Sci USA. 89, 1929–1933, (1992).

Malinow B. J., Duell P. B. and Hess D. L. Reduction of plasma homocyst(e)ine levels by breakfast cerealfortified with folic acidin patients with coronary heart disease. N. Engl. J. Med. 338: 1009-1015, (1998).

Mann JF, Sheridan P, et al. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in people with chronic kidney disease—results of the renal Hope-2 study. *Nephrol Dial Transplant*. 2008; 23:645-653.

Markman, J. L., & Shiao, S. L. Impact of the immune system and immunotherapy in colorectal cancer. Journal of Gastrointestinal Oncology, 6(2), 208-223, (2015).

Martinez ME, Giovannucci E, Jiang R, Henning SM, Jacobs ET, Thompson P, Smith Warner SA, Alberts DS. Folate fortification, plasma folate, homocysteine and colorectal adenoma recurrence. Int J Cancer 2006.

Martinez ME, Henning SM, Alberts DS. Folate and colorectal neoplasia: relation between plasma and dietary markers of folate and adenoma recurrence. Am J Clin Nutr 2004.

Mattson M.P., Shea T.B. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. Trends Neurosci. 2003; 26:137–146.

McCarty MF. Increased homocystine associated with smoking, chronic inflammation, and aging may reflect acute-phase induction of phosphatase activity. Medical Hypothesis, 2ooob; 55: 289-93.

McCully, K.S. vascular pathology of homocysteinuria: implication for pathogenesis of arteriosclerosis. Am J of path. 56:111-128(1969).

McLean RR, Jacques PF, et al. Homocysteine as a predictive factor for hip fracture in older persons. *N Engl J Med*. 2004; 350:2042-2049.

McNulty H, Pentieva K, et al. Homocysteine, B-vitamins and CVD. *Proc Nutr Soc*.

Mezzano D., Pais E. O., Aranda E., Panes O., Downcy P., Ortiz M., Tagele R., Gonzalez F., Quiroga T., Caceres M. S., Leighton F. and Periera J. Inflammation, not hyperhomocysteinemia, is related to oxidative stress and haemostatic and endothelial dysfunction in uremia. Kidney Int. 60: 1844-1850, (2001).

Migliore L, Migheli F, Spisni R, Coppedè F. Genetics, cytogenetics, and epigenetics of colorectal cancer. J Biomed Biotechnol. 2011; 2011: 792-362.

Miller JW, Beresford SA, Neuhouser ML, Cheng TY, Song X, Brown EC, Zheng Y, Rodriguez B, Green R, Ulrich CM. Homocysteine, cysteine, and risk of incident colorectal cancer in the Women's Health Initiative observational cohort. Am J Clin Nutr.2013 Apr;97(4):827-34.

Mudd S. H., Havlik R., Levy H. L., McKusick V. A. and Feinleib M. A study of cardiovascular risk in heterozygotes for homocysteinuria. Am. J. Hum. Genet. 33: 883-893,(1981).

Muller F., Svardal A. M. and Aukrust P, (1996). Elevated plasma concentration of reduced homocysteine in patients with human immunodeficiency virus infection. Am. J. Clin. Nutr. 63: 242-248.

Munjal C, Givvimani S, Qipshidze N, Tyagi N, Falcone JC, Tyagi SC. Mesenteric vascular remodeling in hyperhomocysteinemia. Mol Cell Biochem. 2011; 348:99–108.

Nacci A, Dallan I, Bruschini L, Traino AC, Panicucci E, Bruschini P, ManKINi V, Rognini F, Fattori B. Plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 levels in patients with laryngeal cancer. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2008; 134: 1328-1333.

Nagata C, Shimizu H, Kametani M, Takeyama N, Ohnuma T, et al.: Diet and colorectal cancer in Japanese males and females. Dis Colon Rectum 44, 105–111, 2001.

Nair C. P., Viswanathan G. and Noronha J. Folate-mediated incorporation of ring 2-carbon of histidine into nucleic acids: influence of thyroid hormone. Metab. 43: 1575-1578, (1994).

Naisbitt DJ et al. Plasma cysteine deficiency and decreased reduction of nitrososulfamethoxzole with HIV infection. AIDS Res Hum Retroviruses, 2000; 16: 1929-8.

Nakagawa H, Nuovo GJ, Zervos EE, Martin EW, Salovaara R, et al.: Age-related hypermethylation of the 5' region of MLH1 in normal colonic mucosa is associated with microsatellite-unstable colorectal cancer development. Cancer Res 61, 6991–6995, (2001).

Nedrebo B. G., Ericsson U. B., Nygård O., Refsum H., Ueland P. M., Aakvaag A., Aanderud S. and Lien E. A. Plasma total homocystein levels in hyperthyroid and hypothyroid ptients. Metabol. 47: 89-93, (1998).

Negri E et al. Dietary folate consumption and breast cancer risk.I National Cancer Institute, 2000; 92:1270-1.

Norat T and Riboli E: Dairy products and colorectal cancer. A review of possible mechanisms and epidemiological evidence. Eur J Clin Nutr, 2003.

Nygard O., Vollset S. E. and Refsum H. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study. JAMA 274, 1526-1533, (1995).

Oberg, A., Samii, S., Stenling, R., &Lindmark, G. (2002). Different occurrence of CD8+, CD45R0+, and CD68+ immune cells in regional lymph node metastases from colorectal cancer as potential prognostic predictors. *International Journal of Colorectal Disease, 17*, 25-29.

O'Leary, F. & Samman, S. Vitamin B12 in Health and Disease. USA: Nutrients.

Pages, F., Kirilovsky, A., Mlecnik, B., Asslaber, M., Tosolini, M., Bindea, G., et al. In situ cytotoxic and memory T-cells predict outcome in patients with early-stage colorectal cancer. Journal of Clinical Oncology *27*, 5944-5951, (2009).

Passaro A et al. Factars influenKINg plasma homocysteine Ievels in type 2 diabetes. Diabetes Gare, 2000; 23: 420-1.

Perna AF, Sepe I, Lanza D, Pollastro RM, De Santo NG, Ingrosso D. Hyperhomocysteinemia in chronic renal failure: alternative therapeutic strategies. J Ren Nutr. 47: 247-253, 2012.

Perta-Kajan J., Twardowski T., Jakubowski H. Mechanisms of homocysteine toxicity in humans. Amino Acids. 2007; 32:561–572.

Perucho M. Microsatellite instability: the mutator that mutates the other mutator. Nat Med 1996; 2:630–631.

Petras M., Tatarkova Z., Kovalska M., Mokra D., Dobrota D., Lehotsky J., Drgova A. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for the neuronal system disorders. J. Physiol. Pharmacol. 2014. 65:15–23.

Pisa FE, Barbone F, Montella M, Talamini R, La Vecchia C, et al.: Migration, socio-economic status and the risk of colorectal cancer in Italy. Eur J Cancer Prev 9, 409–416, 2000.

Pogribna M. et al, Homocysteine metabolism in children with Down syndrome: in vitro modulation. Am] Human Genetics, 2001; 69: 88-95.

Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. J Clin Oncol 2005.

Postea O., Krotz F., Henger A., Keller C., Weiss N. Stereospecific and redox-sensitive increase in monocyte adhesion to endothelial cells by homocysteine. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 26:508–513, 2006.

Potter JD. Colorectal cancer: Molecules and populations. JNCI 91, 916–932, 1999.

Powers HJ. Interaction among folate, riboflavin, genotype and cancer with reference to colorectal and cervical cancer. J Nutr 2005; 135(Suppl):2960-66.

Pritchard CC, Grady WM. Colorectal cancer molecular biology moves into clinical practice. Gut 2011; 60:116–129.

Razin A and Riggs AD: DNA methylation and gene function. Science 210, 604–610, 1980.

Refsum H., Helland S. and Ueland P. M. (1985). Radioenzymic determination of homocysteine in plasma and urine. Clin. Chem. 31: 624-628.

Refsum H., Wesenburg F. and Ueland P. M. (1991). Plasma homocysteine in children with acute lymphoblastic leukemia: changing during a chemotherapeutic regimes including methotrexate. Cancer Res. 51: 828-835.

Regland B. et al, Vitamin B., in CSF; reduced CSF/serum B., ratio in demented men. Acta Neural Scand, 1992; 85: 276-81.

Riccardi C, Nicoletti I. "Analysis of apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry", 2006.

Rodenhiser D, Mann M. Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications. CMAJ. 2006; 174: 341-348.

Roubenoff R. et al, Abnormal homocysteine metabolism in rheumatoid arthritis. Art Rheu, 1997; 40: 4:718- 22.

Sacco RL, Benjamin EJ, Broderick JP, Dyken M, Easton JD, Feinberg WM, Goldstein LB, Gorelick PB, Howard G, Kittner SJ, et al. Risk factors. Stroke. 1997; 28:1507–1517.

Saibeni S, Cattaneo M, Vecchi M, Zighetti ML, Lecchi A,Lombardi R, Meucci G,Spina L, de Franchis R. Low vitamin B(6)plasma levels, a risk factor for thrombosis, in inflammatory bowel disease: role of inflammation and correlation with acute phase reactants. Am J Gastroenterol 2003; 98: 112-117.

Sakuta H, Suzuki T. Alcohol consumption and plasma homocysteine. *Alcohol*. 2005; 372:73-77.

Santini V, Kantarjian HM, Issa JP. Changes in DNA methylation in neoplasia: pathophysiology and therapeutic implications. Ann Intern Med. 2001.

Schindler K. et al, High prevalence of hyperhomocysteinemia in critically ill patients. Crit Care, 2000; 28:991-5.

Segal S., Their S., O. Cystinuria. In Sciver C. R., Beaudet A. L., Sly W. S, et. al. (1995). The Metabolic &Molecular Bases of Inherited Disease. 7th ed. New York McGraw-Hill pp 3581-3602.

Selhub J., Jaques P. F., Rosenberg I. H. et al. Serum total homocysteine in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1991-1994): population reference ranges and contribution of vitamin status to high serum concentrations. Am. Intern. Med 131: 331-339, (1999).

Serfaty L, Bissonnette M, Poupon R. Ursodeoxycholic acid and chemoprevention of colorectal cancer. Gastroenterol Clin Biol 2010.

Sharma G.S., Kumar T., Dar T.A., Singh L.R. Protein *N*-homocysteinylation: From cellular toxicity to neurodegeneration. Biochim. Biophys. Acta. 2015, 1850:2239–2245.

Shen L, Toyota M, Kondo Y, et al. Integrated genetic and epigenetic analysis identifies three different subclasses of colon cancer. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104:18654–18659.

Shenov V, Mehendale V, Prabhu K, Shetty R, Rao P: Correlation of serum homocysteine levels with the severity of coronary artery disease.Ind J Clin Biochem 2014.

Sheu WH et al. Plasma homocysteine concentrations and insulin sensitivity in hypertensive subjects. Am, Hypertens, 2ooo; 13: 14-20.

Singh, P. P., Sharma, P. K., Krishnan, G., & Lockhart, A. C., Immune checkpoints and immunotherapy for colorectal cancer. *Gastroenterology Report, 3*(4), 289-97, (2015).

Skovierova H., Mahmood S., Blahovcová E., Hatok J., Lehotský J., Murín R. Effect of homocysteine on survival of human glial cells. Physiol. Res. 2015; 64:747–754.

Slattery ML et al. Methylenetetrahydrofolate reductase, diet, and risk of colon cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 1999; 8:513-8.

Smith G, Carey FA, Beattie J, et al. Mutations in APC, Kirsten-ras, and p53—alternative genetic pathways to colorectal cancer. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99:9433–9438.

Song, J., Sohn, K.J., Medline, A., Ash, C., Gallinger, S., Kim, Y.I., 2000. Chemopreventive effects of dietary folate on intestinal polyps in Apc+/− Msh2−/− mice. Cancer Res. 60, 3191–3199.

Stabler SP et al. Total homocysteine is associated with nephropathy in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Metabolism, 1999a; 48: 1096-101.

Sunil Chandy, M. N. Sadananda Adiga, Girija Ramaswamy, C. Ramachandra, and Lakshmi Krishnamoorthy. Effect of Vitamin B12 and Folate on Homocysteine levels in colorectal cancer. Indian Journal of Clinical Biochemistry (IJCB), 2008 Jul; 23(3): 258–261.

Suter CM, Norrie M,Ku SL, Cheong KF, Tomilson I, et al.: CpG island methylation is a common finding in colorectal cancer cell lines. Br J Cancer 88,413–419, 2003.

Thomson SW et al. Effect of total plasma homocysteine on cervical dysplasia risk. Nutrition and Cancer, 2oooa; 37: 128-33.

Targher G, Bertolini L, et al. Cigarette smoking and plasma total homocysteine levels in young adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2000; 23:524-528.

Timkova V., Tatarkova Z., Lehotsky J., Racay P., Dobrota D., Kaplan P. Effects of mild hyperhomocysteinemia on electron transport chain complexes, oxidative stress, and protein expression in rat cardiac mitochondria. Mol. Cell. Biochem. 2016, 411:261–270.

Tyrrell K.S., Bostem A., Selhub J. and Johnson C.Z., High homocysteine levels are independently related to isolated systolic hypertension in older adult's circulation 96: 1745-1749.1997.

Ulrich CM et al. Colorectal adenomas and the C677T MTHFR polymorphism: Evidence for gene-environment interaction Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention, 1999; 8: 659-68.

Ulvik A. et al, Smoking, folate and methylenetetrahydrofolate reductase status as interactive determinants of adenomatous and hyperplastic polyps of the colorectum. Am f Med Genet.2001; 101: 246-54.

Ulvik A, Vollset SE, Hansen S, Gislefoss R, Jellum E, Ueland PM. Colorectal cancerand the methylenetetrahydrofolate reductase 677C / T and methioninesynthase 2756A/G polymorphisms: a study of 2,168 case-control pairs fromthe JANUS cohort.*Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*2004;13:2175-80.

Van Der Berg M. and Bores G. H. J. (1996). Homocysteinuria: what about mild hyperhomocysteinemia Postgrad. Med. J. 72: 513-518.

Van Der Griend R., Haars F. J. L. M., Biesma D. H. et al. (1999). Combination of low-dose folic acid and pyridoxine for treatment of hyperhomocysteinemia in patients with premature arterial disease and their relatives. Atherosclerosis 143: 177-183.

Van Der Put N. M., Van Der Molen E. F. and Kluijtmans L. A. (1997). Sequence analysis of the region of human methionine synthase: relevance to hyperhomocysteinemia in neural-tube defects and vascular disease. Q. J. Med. 90: 511-517.

Van Guelpen B, Hultdin J, Johansson I, Hallmans G, Stenling R, Riboli E, Winkvist A, Palmqvist R. Low folate levels may protect against colorectal cancer. Gut 2006; 55:1461-66.

Ven katachalam KV. Novel cancer therapy: targeting methionine metabolism. *The FASEB Journal*. 2015.

Verkhratsky A., Toescu E.C. Neuronal-glial networks as substrate for CNS integration. J. Cell. Mol. Med. 2006; 10:826–836.

Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. N Engl J Med 1988; 319:525–532.

Voorrips LE et al. A prospective cohort study on antioxidant and folate intake and male lung cancer risk.Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention, 2000; 9: 357-65.

Wall R. T., Harlan J. M., Harker L. A. and Striker G.E. (1980). Homocysteine-induced endothelial injury in vivo: a model for the study of vascular injury. Thromb. Res. 18: 113-121.

Weisberg I. S., Jacques P. F., Selhub J. et al. (2001). The 1298A→C polymorphisme in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR); in vitro expression and association with homocysteine. Athero. 156: 409-415.

Willett WC: Diet and cancer. Oncologist 5, 393–404, 2000.

Willett WC: Diet, nutrition and avoidable cancer. Environ Health Perspect 103, 165–170, 1995.

World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: A Global Perspective. Washington, DC: WCRF/AICR, 1997.

Wouters M. G., Moorrees M. T., Van Der Mooren M. J., Blom H. J., Bores G. H., Schellekens L. A.,Thomas C. M. and Eskes T. K. (1995). Plasma homocysteine and menopausal status. Eur. J. Clin. Invest. 25: 801-805.

Wu LL, Wu JT. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for cancer and a new potential tumor marker. Clinica Chimica Acta, vol. 322, no. 1-2, pp. 21–28, 2002.

Wu, K., Helzlsouer, K.J., Comstock, G.W., Hoffman, S.C., Nadeau, M.R., Selhub, J., 1999. A prospective study on folate, B12, and pyridoxal 5-phosphate (B6) and breast cancer. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 8, 209–217.

Young, J. M., Jorgensen, M., & Solomon, M. (2015). Optimal delivery of colorectal cancer follow-up care: improving patient outcomes. *Patient Related Outcome Measures, 6*, 127-138.

Zeng X, Dai J, et al. Homocysteine mediated expression and secretion of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in human monocytes. *Circ Res*. 2003; 93:311-320.

Zhang SM et al. A prospective study of folate intake and the risk of breast cancer. JAMA, 1999; 281: 1632-37.

Zheng C-M, C-C W, Lin Y-F, Lo L, Liao M-T, K-C L. Role of homocysteine in end-stage renal disease. Clin Biochem. 2012.

Zhu BT: On the mechanism of homocysteine pathophysiology and pathogenesis: a unifying hypothesis. *17*: 1283-1291,2002.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Basem Mabruk M. RAJAB

Doğum Yeri ve Yılı : 05/05/1969

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : basem_rajab@yahoo.com



Eğitim Durumu

Lise : Ali Al - Necjar okulu / Libya.

Lisans : Mühendislik ve Teknoloji Fakültesi / Sebha Üniversitesi / Libya.

Yüksek Lisans : Yaşam Bilimleri Bölümü / Al-Bayt Üniversitesi / Ürdün.

Mesleki Deneyim

İş Yeri : Tip Teknolojisi Fakültesi / Trablus Üniversitesi / Libya.

İş Yeri : Hastane kazası Trablus / Libya.

Yayınları

Basem Rajab, Musbah Almabsuot, Bayram Kıran, "The Frequency of Intestinal Parasites among Patients in Zliten and Al-KhumsTraining Hospitals", International Journal of Science and Research (IJSR), Volume 8 Issue 1, January 2019, 716 – 719.

Basem Rajab, Ayad Abud, Bayram Kıran, "Investigation of the Correlation between Diabetes Mellitus and Blood Pressure in Tripoli Central Hospital", International Journal of Science and Research (IJSR), Volume 8 Issue 1, January 2019, 1247 – 1250.

Basem Rajab, Mahasneh I.A. Genetic analysis of the STRs haplotypes in the Arabian populations of Arabian penisula, Syria and Lebanon. Department of Biological Sciences, Al al-Bayt University Journal, Jordan. 2008.

Şeyda Ercan, Dilera Sönmez, Basem Rajab, Ayşe gül Verim, Mehmet Tolgahan Hakan, Bayram Kıran, İlhan Yaylım "A Possible Prognostic Significance of TIM1 Gene Variant in Laryngeal Cancer, 7th annual meeting of the Middle-Eastern Association for Cancer Research at the University of Gaziantep, 2017.