

**p53 ve p73 EKSPRESYON DÜZEYİ KOLOREKTAL KANSER İÇİN
TANISAL BİR BELİRTEÇ MİDİR?
Are p53 and p73 Expression Levels a Diagnostic Marker in Colorectal Cancer?**

Mustafa Ertan AY¹, Orhan TERZİOĞLU², Cem TERZİ³, Özlem İZCİ AY¹

Özet : Kanser gelişiminde rolü olduğu gösterilen bazı moleküllerdeki genetik değişimler hastalık tanı, tedavi ve seyirinin takibinde belirleyici olarak kullanılabilir. Kolorektal kanserlerde ise, tümör supressör genlerde meydana gelen birçok genetik değişim tam açıklanmamış olup araştırılması devam etmektedir. Bu nedenle sunulan bu çalışmada; kolorektal kanserli hastaların, normal ve tümör dokuları arasındaki p53 ve p73 geni ekspresyon düzeyi değişimlerinin belirlenmesi ve bu değişimlerin, hastalara ait klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisinin saptanması amaçlandı.

Çalışmaya, 19 kolorektal kanser hastasından alınan, 19'u normal ve 19'u tümör dokusu olmak üzere, toplam 38 kolorektal doku örneği dahil edildi. p53 ve p73 ekspresyon düzeyi analizleri, RT-PCR ve yarı ölçümsel dansimetrik analizler kullanılarak gerçekleştirildi.

Normal ve tümör dokuları arasında p53 ve p73 ekspresyon düzeyleri açısından fark bulunamadı. Yüksek p53 ekspresyonu saptanan hastaların ise ileri patolojik evrelerde oldukları ancak bu hastalara ait tümörlerin metastatik olmadıkları gösterildi.

Sonuç olarak, elde ettiğimiz veriler doğrultusunda, p53 ve p73 ekspresyon düzeyi değişimlerinin saptanmasının, kolorektal kanser tümör biyolojisinin anlaşılmasına katkıda bulunacağı ve hasta prognozlarının belirlenmesinde birer prediktif marker olarak kullanılabilineceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Kolorektal kanser, p53, p73, ekspresyon düzeyi, RT-PCR

Summary : The genetic changes in some molecules that underlie malignant transformation of cells can be used as markers to diagnose, monitor or characterize various forms of cancer. Though in colorectal cancer, many of the genetic changes have continued to be studied in tumor suppressor genes, this study aims to clarify the expression pattern of p53, and p73 genes between normal and tumor colorectal tissues and correlate with clinicopathological features.

A total of 38 tissue samples (19 normal and 19 tumor tissue) from 19 patients with colorectal cancer were included in this study. The expression of p53 and p73 have been investigated by using the RT-PCR and semi-quantitative densitometric approaches.

Between the normal and tumor tissues was found no difference of p53 and p73 expression levels. In patients with high levels expression levels of p53, pathological stage was found significantly more advanced than that of the cases expressing low levels of p53, and these tumors were not metastatic.

Our study suggests that the detection of expressional changes of p53, and p73 might contribute to further understanding of the tumor biology of colorectal cancer and could serve as predictive markers for patient prognosis.

Key words: Colorectal cancer, p53, p73, expression level, RT-PCR

¹ Dr.Dokuz Eylül Ün.Tıp Fak.Tıb.Biy.ve Genetik AD, İzmir

² Prof.Dr.Dokuz Eylül Ün.Tıp Fak.Tıb.Biy.Genetik AD, İzmir

³ Doç.Dr.Dokuz Eylül Ün.Tıp Fak.Genel Cerrahi AD, İzmir

* Bu çalışma kısmen Dokuz Eylül Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından desteklenmiştir.

Dünya genelinde, her yıl yaklaşık olarak 6.5 milyon yeni kanser olgusu görülmektedir. Bu olguların yaklaşık 2.4 milyonda (%37) ise p53 mutasyonlarının varlığından söz edilmektedir. İnsan kanserlerinde saptanan yüksek p53 geni mutasyon görülme sıklığı, p53'ün tümör gelişimindeki önemli ve kritik olaylar dizgesinde işlevlere sahip olduğunun göstergesidir (1). p53 bu işlevlerini gen transkripsiyon kontrolü, DNA tamiri, hücre döngüsü kontrolü, genomik stabilite, kromozom segregasyonu, senesens, anjiyogenez, apoptoz ve tümör baskılanması gibi hücrenel süreçlerde direkt ya da sahip olduğu moleküler etkileşimler yolu ile yerine getirmektedir (2). Tüm bu işlevleri ve özellikle tümör gelişimini baskılayıcı rolleri ile **“genomun koruyucusu”** olarak tanımlanan p53 proteini DNA hasarı, hipoksi, nükleotid havuz depleasyonu, viral enfeksiyonlar ve onkogen aktivasyonu gibi çeşitli genomik stres durumlarında aktive olmaktadır. Ancak normal p53 (wild-type p53) işlevinin bozulması, kanser gelişimini baskılayan hücre içi yolların işlevlerinin bozulmasına neden olmakta ve bu durum hücrenin kanserleşme sürecine katkıda bulunmaktadır (1).

Son yirmibeş yıl boyunca, moleküler biyolojide üzerinde en çok çalışılan protein olma özelliğini koruyan p53'ün, “genomun yalnız koruyucusu” olmadığı, 1997'de Kaghad ve arkadaşları (3) tarafından p53 ile yüksek oranda homoloji gösteren p73 proteinini izole etmeleri ile anlaşıldı. p73 ilk olarak nöroblastom ve diğer birçok insan tümörlerinde somatik ya da konstitüsyonel delesyonların saptandığı 1p36.3 kromozom bölgesinde yerleşik bir tümör supressör gen olarak tanımlanmıştır (2-4). p73 gen yapısındaki iki ayrı promotör bölgeden (P1 ve P2), TAp73 ve DNp73 (DTAp73) izoformları ve C-karboksi uç alternatif kırılmaları

(splicing) ile de 6 farklı TAp73 ve DNp73 izoformu (a, b, g, d, e, x) transle edilmektedir (5). p73 izoformları, farklı biyolojik işlevler ortaya koyabilmektedirler. İnsan hücrelerinde, ekspresyon düzeyi artmış TAp73, p53 hedef genlerdeki özgül DNA dizilerine bağlanabilmekte ve bu genlerin transkripsiyonlarını aktive edebilmektedir. Bu yolla TAp73, hücre döngüsü baskılanmasını, diferansiyasyonu ve apoptozu uyarabilmektedir. DNp73'ü ise vertebralı organizmalarda gelişim süreci içerisinde çok temel sinyal ileti yollarında gelişimin öncü molekülü olarak işlev görmektedir (4, 6). p53 ile benzer hücre içi işlevlere sahip olmasına karşın, p73, p53 geninin aksine, insan kanserlerinde mutasyona uğramamaktadır. Bu durum ise p73'ün ekspresyon düzeyindeki değişimlerin kanser gelişim sürecine olası etkilerinin aydınlatılması gereğini doğurmaktadır (2, 7, 8).

Günümüzde p53 ve p73 tümör supressör genlerinin farklı kanser tiplerindeki ekspresyon düzeyinde karsinogenez sürecine olası etkileri araştırılmaya devam etmektedir. Kolorektal kanserli hastalarda ise çoğunlukla immunohistokimyasal yöntemlerin kullanıldığı araştırma sonuçlarına bakıldığında, birbirleriyle çelişen sonuçlara rastlanılmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, 9'u (%47.3) rektum kanserli ve 10'u (%52.7) kolon kanserli olmak üzere toplam 19 hastaya ait toplam 38 normal ve kolorektal tümör doku örneği dahil edildi. Hastalara ait klinik ve patolojik özelliklerin genel dağılımları Tablo I'de verilmektedir. Plasenta, SW480 hücre hattı ve K562 hücre hattından elde edilen hücreler ise p53 ve p73 primerleriyle gerçekleştirilen RT-PCR çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanıldı.

Tablo I. Hastalara ait özelliklerin genel dağılımı

		Hasta Sayısı	Oran (%)
Yaş Grubu (46-85)	40-65	7/19	6.8
	66-85	12/19	63.2
Cinsiyet	Kadın	4/19	21.1
	Erkek	15/19	78.9
<u>Rektum (9/19, %47.3)</u>			
Tümör Yerleşimi	Alt/orta Rektum	1/9	11.1
	Üst Rektum	8/9	88.9
<u>Kolon (10/19, %52.7)</u>			
	Sağ Kolon	3/10	30.0
	Sol Kolon	7/10	70.0
Diferansiyasyon	İyi	3/19	15.7
	Orta	15/19	78.9
	Az	0/19	0
	Değerlendirilemeyen	1/19	5.4
Klinik Evreler	Evre 2	9/19	47.4
	Evre 3	5/19	26.3
	Evre 4	5/19	26.3
Patolojik Evreler	Evre 1	2/19	10.5
	Evre 2	3/19	15.7
	Evre 3	10/19	52.6
	Evre 4	4/19	21.2
Histolojik Tip	Müs. Adenokarsinom	5/19	26.3
	Adenokarsinom	14/19	73.7
İnvazyon	Lenfatik İnvazyon	8/19	42.1
	Venöz İnvazyon	1/19	5.2
	Perinöral İnvazyon	6/19	31.5
	İnvazyon Yok	4/19	21.2

RNA eldesinde NucleoSpin[®] RNA II (Macherey-Nagel-740.955.250) kullanıldı(9). Elde edilen RNA'lerden cDNA sentezinde, kalıp olarak kullanılacak RNA miktarları, her bir örnek için, toplam 20ml'lik cDNA reaksiyon volümü içinde 3 mg/ml olacak şekilde hesaplandı ve reaksiyon karışımına eklendi. Bu yolla, bütün örnekler için eşit miktarlarda RNA'ların kalıp olarak kullanılması ile cDNA sentezlenmesi sağlandı. cDNA sentezinde, Random Hekzamer primerleri ile Revert Aid[™] First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas-K1622) kullanıldı (9).

Sentezlenen cDNA'ların, p53, ve p73 reverse transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonları (RT-PCR) öncesinde kontrolü, iyi korunmuş genler olan b-aktin (**b-aktin F:** 5'-ATC ATG TTT GAA ACC TTC AA-3', **b-aktin R:** 5'-CAT CTC CTG CTC GAA AGT CCA-3') veya Gliser Aldehidifosfat Dehidrogenaz (GAPDH) (**GAPDH F:** 5'-ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC-3', **GAPDH R:** 5'-TCC ACC CTG TTG CTG TA-3') geni primerleri kullanılarak gerçekleştirildi (9). Toplam reaksiyon hacmi 25ml olup, 2.5ml 10XPCR tampunu (Fermentas), 2.5mM MgCl₂ (Fermentas), 10mM dNTP karışımı (Fermentas), 25pmol primer (MWG) ve 1 U Taq DNA polimeraz(Fermentas) kullanıldı. Elde edilen RT-PCR ürün büyüklükleri sırasıyla, 320 ve 451 bp'dir.

Elde edilen cDNA örnekleri kalıp olarak kullanılarak, p53 ve p73 geni primerleri (MWG) ile RT-PCR yapıldı. Kullanılan primer dizileri sırasıyla; **p53-P1:** 5'- TGA GGT TGG CTC TGA CTG TAC CAC CAT CC-3', **p53-P2:** 5'-CTC ATT CAG CTC TCG GAA CAT CTC GAA GCG-3' ve **p73-P1:** 5'-ACT TCA ACG AAG GAC AGT CTG CT-3', **p73-P2:** 5'-AAT TCC GTC CCC ACC TGT G-3' dir (10). Uygulanan RT-PCR karışımı toplam reaksiyon hacmi olan 25 ml içinde, 2.5ml 10XPCR tampunu (Fermentas), 2.5mM MgCl₂(Fermentas), 0.4mM dNTP karışımı (Fermentas), 25pmol primer (MWG) ve 1 U Taq DNA polimeraz (Fermentas) dir. PCR sonrası elde edilen sırasıyla; 373 ve 142 bp'lik p53 ve p73 geni ürünleri %2'lik Agaroz jelde (AplliChem) yürütülerek, EagleSight Software (Stratagene) kullanılarak görüntülendi. Moleküler ağırlık markırı olarak 1 ml, FX174 DNA/BsuRI (*HaeIII*) Marker,9 (Fermentas-SM0251) kullanıldı.

RT-PCR ürünlerinin dansitometrik analiz ile ekspresyon düzeylerinin saptanması ise Bio-Rad GS-700 Imaging Dansitometer (170-761) ve *Molecular Analyst* paket programı kullanılarak yapıldı.

Saptanan normal ve tümör dokularına ait p53 ve p73 ekspresyon düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel analizi için "Wilcoxon'un İşaretli Sıralar Testi" kullanıldı. Tümör dokularında saptanan p53 ve p73 ekspresyon düzeyleri arasındaki korelasyonun ve saptanan ekspresyon düzeyleri ile klinik ve patolojik özellikler arasındaki korelasyonun belirlenmesinde ise "Spearman Sıra Korelasyonu Analizi" kullanıldı. Tüm istatistiksel analizler SPSS 11.0 (*Satistical Package for Social Sciences*) paket programı kullanılarak gerçekleştirildi.

BULGULAR

Tüm hasta örneklerinde ve K562, SW480 ve placent hücrelerinde b-aktin ve/veya GAPDH genlerine özgül primerler ile gerçekleştirilen kontrol amplifikasyonlarında, özgül PCR ürünleri elde edildi (veriler gösterilmemiştir).

p53 primerlerinin kullanıldığı RT-PCR sonuçlarına göre, 1(%5.2) normal dokuda ve 4(%2.1) tümör dokusunda p53 amplifikasyon ürünü (373 bp) saptandı (Şekil 1). p73 primerleri ile gerçekleştirilen RT-PCR'larda, 1(%5,2) normal doku örneğinde ve 3(%15.7) tümör dokusu örneğinde özgül amplifikasyon ürünü (142 bp) saptandı (Şekil 2). K562, SW480 ve plasenta hücrelerinde de, K562'de p53 hariç (p53 bu hücre hattında ekspresy edilmemektedir) özgül p53 ve p73 RT-PCR ürünleri elde edildi (Şekil 1 ve 2).

Çalışmaya dahil edilen kolorektal kanserli hastalara ait normal ve tümör dokularında saptanan p53 ve p73 ekspresyon düzeylerinin dansitometrik ölçüm değerleri Tablo II'de gösterilmektedir.

Normal dokularda saptanan p53 ve p73 ekspresyon düzeyleri, tümör dokularında saptanan p53 ve p73 ekspresyon düzeyleri ile karşılaştırıldığında, ekspresyon değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (sırasıyla iki yönlü p değerleri=0,068 ve 0.144 dür).

Şekil 1. Kolorektal Kanserli Hastalara Ait p53 RT-PCR Sonuçları

Normal (A) ve tümör (B) dokularından elde edilen RNA örneklerinden p53 genine özgül primerler kullanılarak gerçekleştirilen RT-PCR ürünlerinin(373 bp), %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. p53 ekspresyonu saptanan örnekler A-15, B-2, B-3, B- 9, B-15, SW480 ve plasentadır. (1,2,3...: Hasta No, K562, SW480 ve Plasenta: Pozitif Kontroller. Markır: ΦX174 DNA/BsuRI(HaeIII).

Şekil 2. Kolorektal Kanserli Hastalara Ait p73 RT-PCR Sonuçları

Normal (A) ve tümörlü (B) dokulardan elde edilen RNA örneklerinden p73 genine özgül primerler kullanılarak gerçekleştirilen RT-PCR ürünlerinin(142 bp), %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. p73 ekspresyonu saptanan örnekler **A-6, B-1, B-4, B-14, K562, SW480 ve plasentadır.** (1,2,3...: Hasta No K562, SW480 ve Plasenta: Pozitif Kontroller. Markır: FX174 DNA/BsuRI (HaeIII).

Tablo II. Kolorektal kanserli hastalara ait normal ve tümör dokularında saptanan p53 ve p73 ekspresyon düzeylerinin dansitometrik ölçüm değerleri

NO	p53		p73	
	Normal	Tümör	Normal	Tümör
1	-	-	-	7.02
2	-	1.23	-	-
3	-	6.19	-	-
4	-	-	-	21.04
5	-	-	-	-
6	-	-	1.85	-
7	-	-	-	-
8	-	-	-	-
9	-	1.25	-	-
10	-	-	-	-
11	-	-	-	-
12	-	-	-	-
13	-	-	-	-
14	-	-	-	2.44
15	2.90	78.66	-	-
16	-	-	-	-
17	-	-	-	-
18	-	-	-	-
19	-	-	-	-

Tümörlü dokularda saptanan p53 ekspresyon düzeyleri ile hastalara ait klinik ve patolojik özellikler arasındaki ilişkinin istatistiksel analizi sonucunda ise tümör dokularında saptanan p53 ekspresyon düzeyleri ile patolojik evreler arasında istatistiksel olarak olumlu, güçlü ve anlamlı bir korelasyon (Spearman $r:0.557$, $p=0.013$) ve metastaz varlığı ile de istatistiksel olarak, olumsuz(ters yönlü), güçlü ve anlamlı bir korelasyon saptandı (Spearman $r:-0.628$, $p=0.004$). p53 ekspresyon düzeyleri ile hastalara ait diğer klinik ve patolojik özellikler olan

yaş, cinsiyet, klinik evre, tümör yerleşim bölgeleri, histolojik tip, diferansiyasyon, lenfatik, venöz ve perinöral invazyon ve lenf düğümü tutulumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon görülmedi.

Tümörlü dokularda saptanan p73 ekspresyon düzeyi artışı ile hastalara ait klinik ve patolojik özellikler arasındaki ilişkinin istatistiksel analizi sonucunda, istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunamadı.

TARTIŞMA

Hücre döngüsü veya hücre döngüsü kontrolünde meydana gelen abnormalitelerinin neden olduğu kontrolü bozulmuş hücre büyümesi ve bölünmesinin tümör gelişim sürecindeki etkileri bilinmektedir. Ancak, farklı kanser tipleri için bu etkilerin hangi moleküllerin işlevlerindeki bozulmalarla meydana geldiği ve o kanser tipinin neoplastik gelişim sürecine ne düzeyde yansıdığı halen pek çok araştırmaya konu olmaktadır. Özellikle, hücre büyümesi ve bölünmesinin kısıtlanmasından ve/veya durdurulmasından sorumlu moleküllerin, neoplastik süreçteki etkileri araştırılmaya devam etmektedir. Bu moleküller arasında p53 ve p73 tümör supressör proteinleri de bulunmaktadır.

p53 geninin allelik heterozigosite kaybına (LOH) yol açan mutasyonlara insan kanserlerinin yaklaşık olarak %50'sinde rastlanılmaktadır (1). p53 geninde saptanan bu mutasyonlar, genin tümör baskılayıcı işlevini ortadan kaldırmaktadır. Ancak p53 mutasyonları ile histolojik tümör evreleri arasında anlamlı istatistiksel ilişki kurulamamakta ve bu konuda yapılan araştırma sonuçları birbirleriyle çelişmektedir (11). Literatürde, kolorektal kanserlerdeki p53 ekspresyon düzeylerinin araştırıldığı çalışmalardan elde edilen sonuçlar da, mutasyon analizi sonuçları gibi birbirleriyle uyumsuzluk göstermektedir. İmmünohistokimyasal yöntemlerin kullanıldığı bu çalışma sonuçlarına göre, p53 ekspresyon düzeyi ile klinik ve patolojik özellikler arasında anlamlı istatistiksel ilişki kurulamamaktadır (12).

p73 geni ekspresyon düzeyleri ile kanser gelişimi arasındaki ilişkilerin belirlenmesine yönelik çalışmalar ise son yıllarda büyük bir hızla devam etmekle birlikte, bu çalışmalardan elde edilen veriler arasında da çelişkiler bulunmaktadır.

Bu çalışmada, kolorektal kanserli hastalara ait normal ve tümör dokularındaki, p53 ve p73 genlerinin ekspresyon düzeyleri, immünohistokimyasal yöntemlere göre daha özgül ve duyarlı yöntemler olan RT-PCR ve dansitometrik analiz yöntemleri ile belirlendi.

Elde edilen verilere göre, kolorektal kanserli 19 hastaya ait 19 tümör dokusundan 4'ünde (%21.1) p53 ekspresyon düzeyinin normal dokulara göre arttığı gösterilmiş oldu. Ancak toplam 19 hastadan 15'inde p53 ekspresyonuna rastlanmaması, bu hastalarda p53'ün tümör baskılayıcı işlevinin ortadan kalktığını düşündürmektedir.

Saptanan p53 ekspresyon düzeyleri ile klinik ve patolojik özelliklerinin karşılaştırıldığı istatistiksel analiz sonuçlarına göre, p53 ekspresyon düzeyleri ile metastaz varlığı arasında istatistiksel korelasyon bulunması; p53 ekspresyon düzeyi artışının, hastaların ileri patolojik evrelere sahip olmaları ve tümörün metastatik potansiyelinin azaldığının göstergesi olması bakımından önem taşımaktadır ve p53'ün tümör baskılayıcı rolünü desteklemektedir. Tümör dokularında saptanan p53 ekspresyon düzeyi ile patolojik evreler arasında da istatistiksel korelasyon bulunması; p53 ekspresyon düzeyinin, kolorektal kanserli hastalara ait patolojik evrelerin belirlenmesinde kullanılabilineceği şeklinde yorumlanabilir. Bu bulgu, Xiangming ve arkadaşları (13), Liu ve arkadaşları (14) ve Okuyama ve arkadaşları (14) tarafından gastrik kanserli hastalarda yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler ile desteklenmekte, Noda ve arkadaşları (15) tarafından elde edilen veriler ile çelişmektedir.

p73 genine özgül primerler kullanılarak gerçekleştirilen RT-PCR çalışmalarından elde edilen verilere bakıldığında, 19 kolorektal kanser hastasına ait 19 tümör doku örneğinden 3'ünde (%15.7), p73 geni ekspresyonu gösterilmiş oldu. p73 ekspresyon düzeyi çalışmalarımızdan elde edilen bulgular, Kawano ve arkadaşları (16) tarafından lösemi ve lenfomalı hastalardan elde edilen bulgularla ve Chi ve arkadaşlarının (17) mesane kanserli hastalarda gerçekleştirdikleri araştırma sonuçlarını ile aynı yöndedir. Bununla birlikte bulgularımız, meme (18), akciğer (19), over (20) ve gastrik (21) kanserli olgularda yapılan çalışmalarda saptanan bulgularla çelişmektedir.

Kolorektal kanserli hastaların normal ve tümör dokularında saptadığımız p53 ve p73 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaması, bu genlere ait ekspresyon düzeyi analizlerinin tanısal bir belirteç olarak kullanılamayacağını göstermektedir. Ancak p53 ekspresyon düzeyleri ile metastaz arasındaki ters yönlü korelasyon, p53'ün tümör baskılayıcı rolünü desteklemekte ve hastalara ait tümörlerin metastatik potansiyellerinin belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılabilineceğini düşündürmektedir. Yine p53 ekspresyon düzeyleri ile hastalara ait patolojik evreler arasında saptadığımız istatistiksel korelasyon, bu gen ekspresyon düzeyinin hastaların patolojik evrelerinin belirlenmesinde de bir belirteç olarak kullanılabilineceğini düşündürmektedir. Diğer yandan p73 ekspresyon düzeyleri ile hastalara ait klinik ve patolojik özellikler arasında herhangi bir istatistiksel korelasyon saptanmaması, p73'ün kolorektal kanser tanı, takip ve değerlendirilmesinde bir biyolojik belirteç olarak kullanılamayacağını göstermektedir. Bu değerlendirmeler ışığında; kolorektal kanserlerde moleküler biyolojik yöntemler kullanılarak bu genlere ait ekspresyon düzeylerinin ve birbirleriyle olan etkileşimlerinin ne olduğu henüz tam olarak aydınlatılmadığından özellikle p53 ekspresyon düzeylerinin belirlenmesinin kolorektal kanser patogenezinin anlaşılmasında faydalı olacağı düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Chang F, Syrjänen S, Kurvinen K, et al. The p53 Tumor Suppressor Gene as a Common Cellular Target in Human Carcinogenesis. *Am J Gastroenterol* 1993, 88(2): 174-86.
2. Bénard J, Douch-Rasy S, Ahomadegbe JC. TP53 Family Members and Human Cancers. *Hum Mutat* 2003, 21: 182-91.
3. Kaghad M, Bonnet H, Yang A, et al. Monoallelically Expressed Gene Related to p53 at 1p36.3, a Region Frequently Deleted in Neuroblastoma and Other Human Cancers. *Cell* 1997; 90(4): 809-19.
4. Davis PK, Dowdy SF. Molecules in Focus p73. *Int J Biochem Cell Biol* 2001, 33: 935-9.
5. Ichimiya S, Nakagawara A, Sakuma Y, et al. p73: Structure and Function. *Pathol Int* 2000, 50: 589-93.
6. Marin MC, Kaelin WG Jr. p63 and p73: Old Members of a New Family. *Biochim Biophys Acta* 2000, 1470: M93-100.
7. Soengas MS, Lowe SW. p53 and p73: Seeing Double? *Nat Genet* 2000, 26: 391-2.
8. Chen CL, Ip SM, Cheng D, et al. p73 Gene Expression in Ovarian Cancer Tissues and Cell Lines. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3910-5.
9. Peters UR, Tschan MP, Kreuzer KA, et al. Distinct Expression Patterns of the p53-Homologue p73 in Malignant and Normal Hematopoiesis Assessed by a Novel Real-Time Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction Assay and Protein Analysis. *Cancer Res* 1999, 59: 4233-6
10. Galizia G, Ferraraccio F, Lieto E, et al. Prognostic Value of p27, p53, and Vascular Endothelial Growth Factor in Dukes A and B Colon Cancer Patients Undergoing Potentially Curative Surgery. *Dis Colon Rectum* 2004, 47:1904-14.
11. Iacopetta B. TP53 Mutation in Colorectal Cancer. *Hum Mutat* 2003, 21:271-6.
12. Xiangming C, Hokita S, Natsugoe S, et al. p21 Expression is a Prognostic Factor in Patients with p53-Negative Gastric Cancer. *Cancer Lett* 2000; 148: 181-8.
13. Liu XP, Kawauchi S, Oga A, et al. Combined Examination of p27^{Kip1}, p21^{Waf1/Cip1} and p53 Expression Allows Precise Estimation of Prognosis in Patients with Gastric Carcinoma. *Histopathol* 2001, 39: 603-10.
14. Okuyama T, Meahara Y, et al. Combined Evaluation of Expression of p53 and p21 Proteins as Prognostic Factors for Patients with Gastric Carcinoma. *Oncology* 2002, 63: 353-61.

15. Noda H, Maehara Y, Irie K, et al. Growth Pattern and Expression of Cell Cycle Regulator Proteins p53 and p21WAF1/Cip1 in Early Gastric Carcinoma. *Cancer* 2001, 92(7): 1828-35.
16. Kawano S, Miller CW, Gombart AF, et al. Loss of p73 Gene Expression in Leukemias/Lymphomas Due to Hypermethylation. *Blood* 1999, 94(3): 1113-20.
17. Chi SG, Chang SG, Lee SJ, et al. Elevated and Biallelic Expression of p73 is Associated with Progression of Human Bladder Cancer. *Cancer Res* 1999, 59: 2791-3.
18. Zaika AI, Kovalev S, Marchenko ND, et al. Overexpression of the Wild Type p73 Gene in Breast Cancer Tissues and Cell Lines. *Cancer Res* 1999, 59: 3257-63.
19. Tokuchi Y, Hashimoto T, Kobayashi Y, et al. The Expression of p73 is Increased in Lung Cancer, Independent of p53 Gene Alteration. *Br J Cancer* 1999, 80(10): 1623-9.
20. Zwahlen D, Tschan MP, Grob TJ, et al. Differential Expression of p73 Splice Variants and Protein in Benign and Malignant Ovarian Tumours. *Int J Cancer* 2000, 88: 66-70.
21. Kang MJ, Park BJ, Byun DS, et al. Loss of Imprinting and Elevated Expression of Wild-Type p73 in Human Gastric Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2000, 6: 1767-71.