

Proteomiks ve Gastroenteroloji

Senem Ceren ÖZEN KARATAYLI¹, A. Mithat BOZDAYI²

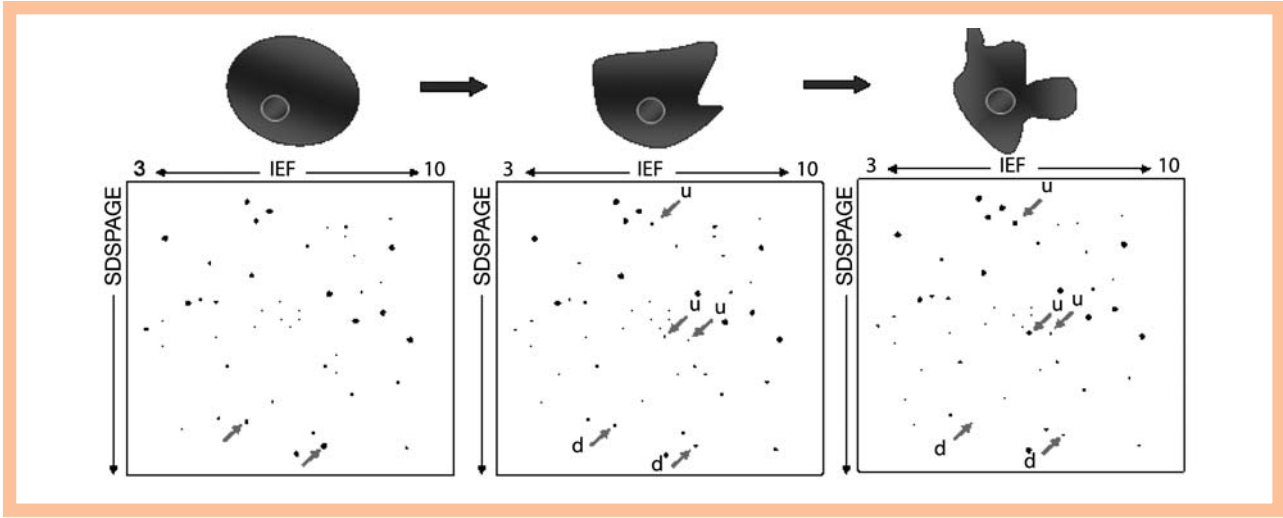
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı¹, Hepatoloji Enstitüsü², Ankara

Bilimin en önemli dönüm noktalarından biri olan İnsan Genom Projesinin (“Human Genome Project”) 2003 yılında tamamlanması yaşamın moleküler temelini anlaşılmaya için yürütülen araştırmaların sayısını artırmıştır. Genom projesi ile elde edilen bilgilerin klinik çalışmalara uygulanması ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi ihtiyacı ile proteomiks kavramı hızla gelişmeye başlamıştır. Proteomiks, özellikle postgenomik dönemde protein sentezinin ve gen ekspresyonunun araştırılmasında bir anahtar teknoloji olarak karşımıza çıkmaktadır.

“Proteom” kelimesi İlk olarak 1994’te Avustralyalı araştırmacı Marc.R. Wilkins tarafından, bir organizmanın genomu tarafından eksprese edilen proteinlerin tümü olarak tanımlanmıştır. Proteom, bir organizma, doku veya hücrede herhangi bir anda bulunan proteinlerin tümünü ifade eder. Proteomun analiz edilmesi olarak da kısaca tanımlanabilen “proteomiks” ifadesi ise pratikte, geniş çaplı protein ayırma ve tanımlama tekniklerinin kullanılması ile yapılan proteom çalışması olarak tanımlanmaktadır. Proteomiks, biyoloji, biyoinformatik ve protein biyokimyasını içeren disiplinler arası bir bilim dalıdır. Hastalıkların tanımlanması ve tedavi geliştirmede yaygın olarak kullanılan genetik tekniklere ek olarak gelişen proteomik teknikler araştırmacılar için büyük bir umut ışığı olmuştur. Proteomiks çalışmalarının gen çalışmalarına ek olarak sunduğu avantajlardan en önemlileri vücut sıvılarında, hücrelerde ve doku biyopsilerinde diyagnostik ve prognostik hastalık belirteçlerinin tanımlanmasına ve yeni tedavi stratejilerinin belirlenmesine olanak sağlamasıdır. Ayrıca genetik yatkınlık gösteren hastalıkların tanımlanması doğru bir genetik teste

gereksinim duyduğu kadar fenotipin de doğru saptanmasını gerektirir. Çünkü bir organizmadaki proteom genomdan farklı olarak daha dinamiktir ve organizmanın bulunduğu koşula (örneğin patolojik durum) ve zamana bağlı olarak değişebilir. Genetik kod, hangi proteinin ne zaman ve hangi miktarda eksprese olacağı konusunda bilgi sağlamaz. mRNA düzeyleri, kodlanmış proteinin aktivitesi ile ilişkilendirilemez ve kodlanmış proteinin aktivitesini yansıtmaz. Genler alternatif “splicing” mekanizmaları ile çok sayıda farklı fonksiyona sahip protein oluşturabilmektedir. Hücrede gerçekleşen post-translasyonel modifikasyonlar normal ve patolojik dokulardaki farklılıkları belirler ve proteinde görülen post-modifikasyonların tümünün bilgisini protein kodlayan bölgelerdeki genomik bilgi tek başına veremez. Bu nedenlerle, genomik çalışmalar her zaman nihai protein ekspresyonu hakkında doğru bilgiler sağlayamaz iken yapılan proteom çalışmaları, genomik analizlerle belirlenemeyecek şekilde pek çok farklı yoldan gerçekleşen hastalık patolojisini ve fenotipini ortaya koyabilmektedir.

Henüz başlangıç döneminde olmasına rağmen proteomiks çalışmaları klinik çalışmalarla oldukça ilişkilidir. Klinik proteomiksin temel amaçları erken teşhis için biyolojik belirteçler (biyomarker) bulmak ve tedaviye müdahale edebilmek için potansiyel hedefler belirlemektir. Biyolojik belirteç iki ya da birden fazla biyolojik bir durum için (örneğin; hastalık durumuna karşı sağlıklı durum) miktara bağlı olarak değişebilen madde veya molekül (örneğin; peptid veya protein) olarak tanımlanabilir (Şekil 1). Bir biyolojik belirteç fizyolojik veya patolojik bir durumu gösteren biyolojik bir parametredir. Bi-



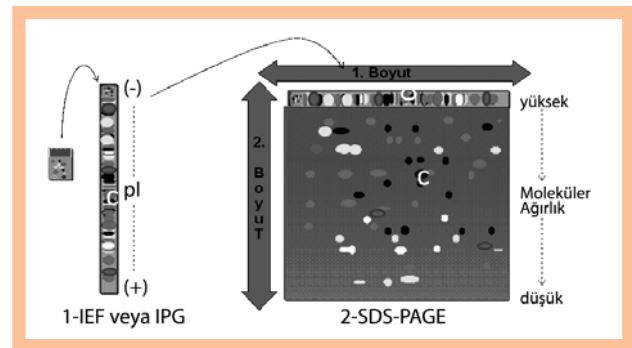
Şekil 1. İki boyutlu jel elektroforezi ile artan ve azalan proteinlere (biyolojik belirteç) örnek gösterilmiştir. "u" ile gösterilen noktalarda ekspresyon artışı (upregulation) ve "d" ile gösterilen noktalarda ekspresyon azalışı (downregulation) gösterilmektedir.

yolojik belirteç araştırma çalışmalarında izlenen basamaklar beş aşamada özetlenebilir; klinik soruyu tanımlama ve kontrol - hasta gruplarının seçimi olmak üzere araştırmanın tasarlanması aşaması, hasta ve kontrol gruplarında farklı eksprese olan proteinleri ve moleküler ağırlıklarını doğru saptama aşaması olan buluş aşaması (aday belirteç/lerin belirlenmesi), daha geniş sayıda hasta ve kontrol grupları kullanarak prediktif değeri en iyi biyolojik belirteç/leri bulma aşaması olan validasyon aşaması, biyolojik belirteç proteinin eldesi ve purifikasyonu aşamalarını içeren tanımlama aşaması ve validasyonu yapılmış biyolojik belirteç/ler ile kantitatif testlerin geliştirilmesi aşamaları ile test geliştirme aşamasıdır.

Klinik proteomiksin diğer hedefleri arasında hastalık yinelenmesinin erken dönemde saptanmasını sağlayacak biyolojik belirteçlerin belirlenmesi ve bunların diagnostik görüntüleme ile nasıl birlikte kullanılacağına anlaşılması sayılabilir. Bunlara ek olarak klinik proteomiksin hastanın tedaviye beklenen yanıtı açısından bireysel tedavi yöntemlerinin uyarlanmasına yardımcı olabilir. Yüksek verimli ve otomatize proteomik teknolojilerinin gelişmesi, proteomiksin standart klinik uygulamalarda gerçekleştirilmesi zorunlu olan çok sayıda klinik örneğin eş zamanlı olarak çalışılmasına da imkân vermektedir. Klinik proteomiksin pratikte kullanımı günümüzde geçerli olan çok sayıda onaylanmış FDA (Food and Drug Administration) protein belirteçleri ve tedavi edici hedeflerin varlığı ile önemini vurgulamaktadır (1). AGA (American Gastroenterological Association) tarafından yayımlanan Gelecek Yönelimler Kurul Raporu (Future Trends Committee Report)

şu anki genomik temelli yaklaşımların ilerleyişinde ve hastalık patogenezinin anlaşılmasında esas adım olarak proteomik teknolojilerinin ortaya çıkışını vurgulamıştır (2).

Proteomiks, iki boyutlu (2D) jel elektroforezi, görüntüleme analizi, kütle spektrometresi, amino asit dizi analizi ve biyoinformatik gibi gelişmiş tekniklerin birleşimini kullanmaktadır. Proteomiks alanındaki gelişmeler iki boyutlu jel elektroforezinin 1975 yılında kullanımıyla başlamıştır (3). Kompleks protein ve karışımlarının ayrılması ve karakterizasyonunda kullanılan bu yöntem ile proteinler birinci boyutta yüklerine göre ayrılırken ikinci boyutta moleküler kütlelerine (Dalton, Da) göre ayrılmaktadır (Şekil 2). 2D jel elektroforezi yöntemi kullanılarak displazik kolorektal poliplerinin kolorektal kansere malignant dönüşümüne katılan mekanizmalar (4) ve sitozolik reseptör NOD2'nin inflamatuvar barsak hastalığı (İBH) patogenezindeki etkisi aydınlatılmıştır (5).



Şekil 2. İki boyutlu (2D) jel elektroforezi; IEF: Isoelectric focusing, IPG: Immobilized pH gradient.

Proteomiks çalışmalarındaki anahtar gelişme ile bir elektrik veya manyetik alanda yüklenmiş parçacıkların hareketi temeline dayanarak moleküllerin moleküler ağırlıklarını analize imkan sağlayan kütle spektrometresi (MS) tekniği geliştirilmiştir. İyon kaynağı, kütle analizör ve detektör olmak üzere üç bileşenden oluşan kütle spektrometresi analiz edilecek maddelerin kütle/yük (mass to charge [m/z]) oranlarını kantite etmek için kullanılır. Bu kantitasyondan kütle belirlenir ve bu kütleyle sahip protein tanımlanır. Yüksek duyarlılıktaki kütle spektrometresi tekniği ile ayrıştırılmış proteinlerin tanımlanması yapılabildiği gibi direkt kompleks biyolojik örnekler kullanılarak da proteinler tanımlanabilmektedir. Protein gibi büyük biyomolekülleri oldukça duyarlı biçimde kolayca iyonize edebilen ve kütle spektrometresinde iyon kaynağı olarak kullanılan iki temel yöntemden biri MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation) 1988 yılında Karas ve Hillenkamp tarafından sunuldu (6). MALDI, ışığı absorbe eden bir matris varlığında analizi yapılan molekülün yüzeyden kopma ve iyonizasyonu için gerekli enerjisi lazerden kullanan bir çarpma iyonizasyon tekniğidir. Bu iyonizasyon tekniğinde her bir lazer atışında oluşan iyonların ayrılması ve çözülmesi için bir atış analizörüne ihtiyaç vardır. Bu nedenle MALDI ile rutin olarak kullanılan iyon ayırıcı kütle analizörü, iyonların ağırlıklarıyla doğru orantıda bir süre içerisinde detektöre ulaşmasını sağlayan "time of flight" (TOF) analizördür. MALDI-TOF tekniği günümüzde çok sayıda protein araştırmasına imkân vermektedir. Kütle spektrometresinde kullanılan ve MALDI'den daha kompleks bir yöntem olan ikinci temel iyon kaynağı Elektrosprey iyonizasyon (ESI) tekniğidir. ESI tekniği analit ve çözücü molekülleri içeren akışkanın ince kapillerde yüksek voltaj ve atmosferik basınçta dağılması temeline dayanmaktadır. Bu sistemde yüklü peptidler, vakum koşulu altında geçer ve kütle/yük oranlarına göre elektrik alanda ayrışırlar.

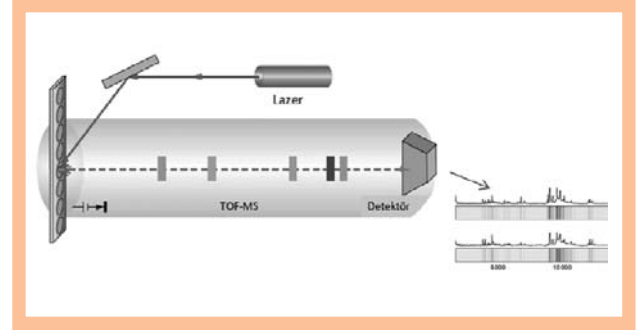
Protein analizinde ekonomik olarak en etkin ve kolay yol iki boyutlu jel elektroforezinin kütle spektrometresi temelli sekanslama metodu (2D-MS) ile kullanılmasıdır. 2D-MS tekniği ile gastroenteroloji alanında yapılan çok sayıda çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmalar klinik gastroenterolojideki gelişmelere ışık tutmaktadır. Hu ve arkadaşları pankreatik adenokarsinomlu (PAC) 12 hastadan aldıkları doku örneklerinde nonneoplastik pankreas proteomunu incelemişlerdir. Bu çalışmada örnekler 2D ile analiz edilmiş ve MALDI-TOF MS sistemi ile protein örnekleri tanımlanmıştır (7). Bu çalışma so-

nucunda bireysel örneklerde protein paternlerinin benzerliğini göstermişlerdir. Pankreas kanseri olan hastalarda pankreatik sıvı proteomunun incelendiği araştırmalardan biri de Gronborg ve arkadaşları tarafından yapılmış ve bu çalışmada tek yönlü jel elektroforezi ve sıvı kromatografisi - çift kütle spektrometresi (LC-MS/MS) yöntemi kullanılarak her bir hastadaki proteinler tanımlanmıştır (8). Bu çalışma sonucunda PAP-2 olarak adlandırılan yeni bir protein bulunmuştur. Barcelo-Batllori ve arkadaşları MALDI tabanlı kütle spektrometresi ile İBH hastaları ve İBH olmayan sağlıklı kontrollerde intestinal epitelyum hücrelerinde sitokin etkisi ile protein ekspresyon düzeylerini karşılaştırmış ve İBH'lı hastalarda sitokinlerin triptofan metabolizmasına katılan indoleamin 2,3-deoksijenaz enzimi etkisini artırdığını gözlemişlerdir (9). Hepatoselüler kanserli hastalar ve sağlıklı kontrol grubu serum proteomunun 2D-MS tekniği ile incelendiği bir çalışmada komplement C3 fragmenti ve apolipoprotein A1'in belirli izoformunun hasta grubunda sağlıklı gruba oranla azaldığı bulunmuştur (10).

Proteomiks alanında son teknolojinin gelişmesini sağlayan ve protein çip biyolojik belirteç sisteminin temelini oluşturan "surface-enhanced laser desorption/ionization" (SELDI) kavramı 1993'de Hutchens ve Yip tarafından sunulmuştur (11). SELDI-TOF MS "ProteinChip" teknolojisi, binlerce farklı protein içeren serum/plazma, doku homojenizatları ve hücre lizatları gibi kompleks protein kompozisyonlarını ayrıntılı şekilde belirleyebilmekte ve az miktarda bulunan proteinleri de ayrıştırarak saptayabilmektedir. Protein çip teknolojisinde uygulanan fraksiyonlama tekniği 2D jel elektroforezi teknolojisinde uygulanan birinci boyut ayırma olarak bilinen izoelektrik fokuslamadır. Bu aşamada analiz edilecek örnek (serum, plazma, hücre lizatları, vücut sıvıları) iyon değişim (ion exchange) fraksiyonlamaya tabii tutularak farklı pH'larda elde edilir. Farklı pH'larda elde edilen proteinlerin değişik kimyasal yüzeye sahip proteinçip "array"lere bağlanma eğilimi proteinlerin izoelektrik noktalarına bağlı olarak değişecektir. Protein çip teknolojisinde uygulanan bu fraksiyonlama tekniği 2D jel elektroforezi teknolojisinde uygulanan birinci boyut ayırma olarak bilinen izoelektrik fokuslamadır. Farklı pH'lara ayrılan örnekler daha sonra ikinci boyut analizlemeye tabii tutularak hidrofobik (H50), anyonik (CM10), katyonik (Q10) ve metal (bakır, çinko) (IMAC30) kaplanmış farklı kromatografik özelliklere (kimyasal yüzey) sahip çiplere uygulanır. SELDI-TOF MS sistemi de MALDI-TOF MS teknolojisi gibi "ti-

me of flight” (TOF) tekniği ile peptit ve proteinlerin kütle/yük oranlarının kesin ölçümüne dayanan bir tekniktir (Şekil 3). Son yıllarda birçok hastalık için özellikle biyolojik belirteç araştırma çalışmalarında kullanılan SELDI-TOF MS “ProteinChip” teknolojisi, izole edilmiş veya moleküler ağırlıklarıyla karakterize olarak piklerin kümelenmesi ile oluşmuş protein profillerinin yüksek çözünürlükte belirlenmesini sağlayarak, farklı patolojik durumların oldukça hassas ve anlamlı tekrar edilebilirlikte ayırımına olanak sağlamaktadır.

SELDI-TOF MS tekniği ile yapılan çok sayıda çalışma anlamlı klinik sonuçlar vermiştir. Gastroenteroloji alanında yapılan çalışmalarda pankreatik kanser (12-17), karaciğer sirozu (18, 20), hepatoselüler kanser (21-25), gastrik kanser (26-28) ve kolon (29-32) kanserlerinde biyolojik belirteçler (biyomarker) araştırılmış ve bu çalışmaların sonuçları klinik çalışmalara önemli katkıda bulunmuştur. Protein çip teknolojisini sağlayan SELDI-TOF MS yönteminin biyolojik belirteç araştırmalarında oldukça sık kullanılmasının nedeni yüksek verimlilikte hızlı bir teknik olmasıdır. Örneklerin pasif bir prob üzerinde sunulduğu MALDI’den en temel farkı SELDI’nin, kütle spektrometrisine örneklerin ekstraksiyonunda, sunumunda, amplifikasyonunda ve iyonizasyonunda aktif rol oynayan bir yüzeyde sunulmasıdır. SELDI teknolojisi ayrıca MALDI-TOF MS’den farklı olarak proteinlerin ayrıştırılması ve seçilmesi için 2D jel elektroforezi uygulamasını gerektirmeyen ve biyolojik belirteç bulma çalışmalarında küçük molekül ağırlığındaki proteinlerin ayırımında daha etkin kullanılan bir teknolojidir. İki boyutlu jel elektroforezi yaklaşımında, hidrofobik, güçlü asidik veya güçlü bazik proteinlerin ayrıştırılmasının zayıf olması ve düşük miktarlardaki proteinlerin kesin olarak görüntülenememesi gibi bazı sınırlamalar (33) ve jel tabanlı metotlardan direkt ve kesin kantitatif bilginin elde edilmesindeki zorluklar da SELDI-TOF MS tekniğini biyolojik belirteç



Şekil 3. SELDI işlemi: Protein çip ve “time of flight” (TOF) - kütle spektrometrisi (MS)

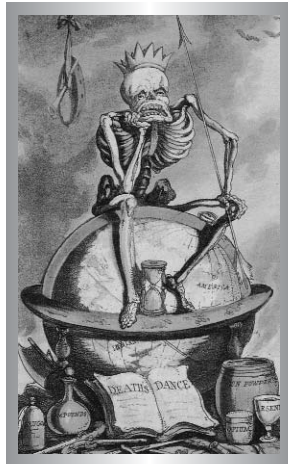
bulma çalışmalarında daha popüler olmasının nedenlerindedir.

Özet olarak şunu söyleyebiliriz ki otomatize ve yüksek verimlilikteki proteomik teknolojilerinin gelişmesi bilimsel araştırmalara hız katmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu bulunan bazı biyolojik belirteçler klinik gastroenterolojiye katkıda bulunmaktadır. Ancak bu çalışma sonuçlarının tekrarlanabilirliği ve güvenilirliği gibi bazı sınırlamalar sonuçların klinikte uygulanmasını zorlaştırmaktadır. Bu sorunların ortadan kaldırılması için geniş çaplı proteomik araştırmalara hız verilmeli ve bulunan biyolojik belirteçlerin validasyonları sağlanmalıdır. Bunun gerçekleşmesinde en önemli rolü oynayan uluslararası İnsan Proteom Organizasyonu (Human Proteom Organisation-HUPO) hızla gelişen proteom teknolojilerini yönlendirecek ve çalışma sonuçlarının laboratuvarlardan kliniğe yansımaları sağlayacaktır. Ülkemizde son yıllarda proteomik alanında yapılan çalışma sayısı yeni teknolojilerin laboratuvarlara girmesiyle artış göstermiştir. Bu sayının daha da artması klinisyen ve proteomik konusunda uzman bilim insanının birlikte çalışması ve laboratuvarlar arası işbirliğinin artırılmasıyla mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR

1. National Institutes of Health and Food and Drug Administration Clinical Proteomics Program Databank. <http://home.ccr.cancer.gov/ncifdaproteomics/ppatterns.asp>.
2. Lazaridis KN, Juran BD. American Gastroenterological Association future trends committee report: the application of genomic and proteomic technologies to digestive disease diagnosis and treatment and their likely impact on gastroenterology clinical practice. *Gastroenterology* 2005; 129: 1720–52.
3. O’Farrell PH. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J Biol Chem* 1975; 250: 4007-21.
4. Jungblut PR et al. Proteomics in human disease: cancer, heart and infectious diseases. *Electrophoresis* 1999; 20: 2100–10.
5. Weichert D, Gobom J, Klopffleisch S, et al. Analysis of NOD2-mediated proteome response to muramyl dipeptide in HEK293 cells. *J Biol Chem* 2006; 281: 2380–9.
6. Karas M, Hillenkamp F. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. *Anal Chem* 1988; 15: 60: 2299-301.
7. Hu L, Evers S, Lu ZH, et al. Two-dimensional protein database of human pancreas. *Electrophoresis* 2004; 25: 512-8.

8. Gronborg M, Bunkenborg J, Kristiansen TZ, et al. Comprehensive proteomic analysis of human pancreatic juice. *J Proteome Res* 2004; 3: 1042-55.
9. Barcelo-Batllori S, André M, Servis C, et al. Proteomic analysis of cytokine induced proteins in human intestinal epithelial cells: implications for inflammatory bowel diseases. *Proteomics* 2002; 2: 551-60.
10. Steel LF, Shumpert D, Trotter M, et al. A strategy for the comparative analysis of serum proteomes for the discovery of biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Proteomics* 2003; 3: 601-9.
11. Hutchens TW, Yip TT. New desorption strategies for the mass spectrometric analysis of macromolecules. *Rapid Commun Mass Spectrom* 1993; 7: 576-80.
12. Koopmann J, Zhang Z, White N, et al. Serum diagnosis of pancreatic adenocarcinoma using surface-enhanced laser desorption and ionization mass spectrometry. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 860-8.
13. Bhattacharyya S, Siegel ER, Petersen GM, et al. Diagnosis of pancreatic cancer using serum proteomic profiling. *Neoplasia*. 2004; 6: 674-86.
14. Scarlett CJ, Smith RC, Saxby A, et al. Proteomic classification of pancreatic adenocarcinoma tissue using protein chip technology. *Gastroenterology*. 2006; 130: 1670-8.
15. Honda K, Hayashida Y, Umaki T, et al. Possible detection of pancreatic cancer by plasma protein profiling. *Cancer Res*. 2005; 65: 10613-22.
16. Rosty C, Christa L, Kuzdzal S, et al. Identification of hepatocarcinoma-intestine-pancreas/pancreatitis-associated protein I as a biomarker for pancreatic ductal adenocarcinoma by protein biochip technology. *Cancer Res* 2002; 62: 1868-75.
17. Ehmann M, Felix K, Hartmann D, et al. Identification of potential markers for the detection of pancreatic cancer through comparative serum protein expression profiling. *Pancreas* 2007; 34: 205-14.
18. Xiao-Dong Zhu, Wei-Hua Zhang, Cheng-Lin Li et al. New serum biomarkers for detection of HBV-induced liver cirrhosis using SELDI protein chip technology. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2327-9.
19. Jiefeng Cui, Xiaonan Kang, Zhi Dai, et al. Prediction of chronic hepatitis B, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma by SELDI-based serum decision tree classification.. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007; 133: 825-34.
20. Poon TC, Hui AY, Chan HL, et al. Prediction of liver fibrosis and cirrhosis in chronic hepatitis B infection by serum proteomic fingerprinting: a pilot study. *Clin Chem* 2005; 51: 328-35.
21. Steel LF, Shumpert D, Trotter M et al. A strategy for the comparative analysis of serum proteomes for the discovery of biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Proteomics* 2003; 3: 601-9.
22. Poon TC, Yip TT, Chan AT, et al. Comprehensive proteomic profiling identifies serum proteomic signatures for detection of hepatocellular carcinoma and its subtypes. *Clin Chem* 2003; 49: 752-60.
23. Paradis V, Degos F, Dargere D, et al. Identification of a new marker of hepatocellular carcinoma by serum protein profiling of patients with chronic liver diseases. *Hepatology* 2004; 41: 40-7.
24. Ward DG, Cheng Y, N'Kontchou G, et al. Changes in the serum proteome associated with the development of hepatocellular carcinoma in hepatitis C-related cirrhosis. *Br J Cancer* 2006; 94: 287-92.
25. El-Aneed A and Banoub J. Proteomics in the diagnosis of hepatocellular carcinoma: focus on high risk hepatitis B and C patients. *Anticancer Res* 2006; 26: 3293-300.
26. Ebert M, Meuer J, Wiemer J, et al. Identification of patients with gastric cancer by serum protein profiling. *J Proteome Res* 2004; 4: 1261-6.
27. Poon TC, Sung JJ, Chow SM, et al. Diagnosis of gastric cancer by serum proteomic fingerprinting. *Gastroenterology* 2006; 130: 1858-64.
28. Su Y, Shen J, Qian H, et al. Diagnosis of gastric cancer using decision tree classification of mass spectral data. *Cancer Sci* 2006; 98: 37-43.
29. Melle C, Ernst G, Schimmel B, et al. Discovery and identification of alpha-defensins as low abundant, tumor-derived serum markers in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2005; 129: 66-73.
30. Albrethsen J, Bøgebo R, Gammeltoft S, et al. Upregulated expression of human neutrophil peptides 1, 2 and 3 (HNP 1-3) in colon cancer serum and tumours: a biomarker study. *BMC Cancer* 2005; 5: 8
31. Chen YD, Zheng S, Yu JK, et al. Artificial neural networks analysis of surface-enhanced laser desorption/ionization mass spectra of serum protein pattern distinguishes colorectal cancer from healthy population. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 8380-5.
32. Yu JK, Chen YD, Zheng S. An integrated approach to the detection of colorectal cancer utilizing proteomics and bioinformatics. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 3127-313.
33. Lee KH. Proteomics: a technology-driven and technology-limited discovery science. *Trends Biotechnol* 2001; 19: 217-22.



ONDOKUZUNCU YÜZYIL

Modern Tıbbın Başlangıcı

'Ölüm Dansı' (1835), adlı renkli oymada, sanatçı, doktorların reçete ettiği ilaçların öldürücü maddeler kategorisinde olduğunu öne sürüyor. Willim Helfand Koleksiyonu, New York