

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KOLOREKTAL KANSERLİ HASTALARDA İNTERLÖKİN-6,
İNTERLÖKİN-18 GEN POLİMORFİZMLERİNİN VE PLAZMA
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Arş. Gör. İrem BEKALP

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nurcan ARAS

MERSİN – 2013

**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KOLOREKTAL KANSERLİ HASTALARDA İNTERLÖKİN-6,
İNTERLÖKİN-18 GEN POLİMORFİZMLERİNİN VE PLAZMA
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Arş. Gör. İrem BEKALP

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nurcan ARAS

Bu tez Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP-SBE
TTB (İB) 2011 7YL kodlu proje olarak desteklenmiştir

Tez No: 241

MERSİN – 2013

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi Programı çerçevesinde yürütülmüş olan "Kolorektal Kanserli Hastalarda *Interlökin-6*, *Interlökin-18* Gen Polimorfizmlerinin ve Plazma Düzeylerinin Araştırılması" adlı çalışma, jürimiz tarafından yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.



Tez Savunma Tarihi: 15 /05/2013

Prof. Dr. Nurcan ARAS

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Jüri Başkanı



Prof. Dr. Etem AKBAŞ

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi



Prof. Dr. Serap YALIN

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

Jüri Üyesi

Yukarıdaki tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 12/06/2013 tarih ve 2013/112 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü
Doç. Dr. Sakir Necati YILMAZ



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, her konuda bana yardımcı olan ve her zaman bana destek olan danışman hocam Prof. Dr. Nurcan Aras'a teşekkür ederim.

Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. M. Emin ERDAL' a; hasta ve kontrol gruplarını temin etmemdeki rolleri, destekleri ve çalışmaları için Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı hocalarından Sayın Prof. Dr. Tahsin Çolak'a biyokimyasal parametrelerin ölçülmesinde yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı hocalarından sayın Prof. Dr. Lülüfer Tamer'e ayrıca akademik eğitimime katkılarını esirgemeyen Anabilim Dalımızın değerli hocalarına, deney sonuçlarımın istatistiksel olarak değerlendirilmesi ve yorumlanmasında bilgi ve katkılarını sunan Biyoistatistik Anabilim Dalı Arş.Gör. Didem Derici'ye ayrıca yardımlarını eksik etmeyen çalışma arkadaşlarım Arş.Gör. Kenan ÇEVİK, Arş.Gör. Ümit KARAKAŞ, Arş.Gör. Badel ARSLAN MAMUR'a ve birbirinden değerli tüm ekip arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Eğitimim ve geleceğim için gece gündüz çalışan babama ve anneme, maddi manevi desteklerini benden esirgemeyen kardeşlerim Gizem ve Bermal'e her şey için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Kalın Barsak Hakkında Genel Bilgi.....	4
2.1.1 Çekum.....	5
2.1.2 Çıkan Kolon.....	5
2.1.3 Transvers Kolon	5
2.1.4 İnen Kolon	5
2.1.5 Sigmoid Kolon.....	6
2.1.6 Rektum	6
2.2 Kolorektal Kanserler	6
2.3 Kolorektal Kanserde Etiyolojik Faktörler	7
2.4 Genetik Faktörler	8
2.4.1 Familial adenomatöz polipozis (FAP):.....	8
2.4.2 Herediter Nonpolipozis Kolon Kanseri (HNPCC):	10
2.5 Hamartamatöz Polipozis Sendromları.....	11
2.6 Çevresel Faktörler	11
2.6.1 Diyet:	11
2.6.2 Postmenaposal Hormon Kullanımı ve Nonsteroidal Anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAID)	12

2.6.3 Alkol Tüketimi, Sigara Kullanımı ve Fiziksel Aktivite	12
2.7 Prekanseroz Hastalıklar.....	13
2.7.1 Kolorektal Polipler ve Polipozis Sendromları	13
2.7.2 İltihabi Barsak Hastalıkları (İBH)	14
2.7.3 Yüksek Risk Grupları	14
2.7.4 Kolorektal kanserlerin histolojik tipleri.....	14
2.8 Kolorektal Kanserlerde Evrelendirme	14
2.9 Kolorektal Kanserlerde Prognuzu Etkileyen Faktörler	17
2.10 Sitokinler	19
2.10.1 Sitokin Reseptörlerinin Sinyal Yolakları.....	21
2.10.2 İnterlökin-6	22
2.10.3 İnterlökin 18	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM	28
3.1 Kullanılan Araç ve Gereçler.....	28
3.1.1 Kullanılan Cihazlar.....	28
3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	29
3.1.3 DNA İzolasyonu	30
3.2 Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması	31
3.3 İnterlökin-6 Geninde Promotör Bölgesindeki (-174 G/C) Gen Polimorfizmi İle İnterlökin-18 Geninde Promotör Bölgesindeki (-607 C/A) Gen Polimorfizminin Belirlenmesi	31
3.3.1 İnterlökin-6 geninin promotör (-174) bölgesi İle İnterlökin-18 geninin promotör (-607) bölgesinin özgül primerlerle amplifikasyonu	31
3.3.2 SNP Özellikleri.....	32
3.3.2.1 Real Time-PCR reaksiyon ortamının hazırlanması	33
3.4 Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü	34
3.4.1 İnterlökin-6'nın Ölçümü.....	34
3.4.2 İnterlökin-18'in Ölçümü.....	35
3.5 İstatistiksel Analiz.....	36
4. BULGULAR.....	37
4.1 KRK Görülme Oranlarının Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı	37

4.2 <i>IL-6</i> (rs1800795) Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Oranlarının Kontrol Grubu ile Hastalar Arasındaki Dağılımı ve KKK ile İlişkisi	37
4.3 <i>IL-18</i> (C/A) Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Oranlarının Kontrol Grubu ile Hastalar Arasındaki Dağılımı ve KKK İle İlişkisi	40
4.4 KKK'li Hastalarda <i>IL-6</i> ve <i>IL-18</i> 'in Biyokimyasal Analizi	42
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	53
ÖZGEÇMİŞ	69

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 Kalın Barsağın Başlıca Bölümleri.....	5
Şekil 2.2 Kolon Kanseriinde Çok Adımlı Kanser Gelişim Modeli (48).....	16
Şekil 2.3 <i>IL-6</i> Geninin Kromozomal Lokalizasyonu (63).....	23
Şekil 2.4 <i>IL-18</i> Geninin Kromozomal Lokalizasyonu (63).....	26
Şekil 3.1 <i>IL-6</i> genine ait rs1800795.....	32
Şekil 3.2 <i>IL-18</i> genine ait rs1946518.....	32
Şekil 4.1 <i>IL-6</i> G>C (<i>rs1800795</i>) Polimorfizmine Ait Genotip Oranlarının Kontrol Grubu İle KRK Hasta Grubu Arasındaki Dağılımı	39
Şekil 4.2 <i>IL-6</i> G>C (<i>rs1800795</i>) Polimorfizmine Ait Allel Oranlarının Kontrol Grubu İle KRK Hasta Grubu Arasındaki Dağılımı.....	39
Şekil 4.3 <i>IL-18</i> A/C (<i>rs1946518</i>) polimorfizmine ait genotip oranlarının kontrol grubu ile KRK hasta grubu arasındaki dağılım.....	41
Şekil 4.4 <i>IL-18</i> A/C (<i>rs1946518</i>) Polimorfizmine Ait Allel Oranlarının Kontrol Grubu İle KRK Hasta Grubu Arasındaki Dağılım.....	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

1	Sayfa
Çizelge 2.1 Sitokin Reseptörlerinin Sinyal İleti Mekanizmaları.....	22
Çizelge 3.1 <i>IL-6</i> , <i>IL-18</i> genlerine ait primerler	32
Çizelge 3.2 Real Time PCR şartları ve Gerekli Malzemeler.....	33
Çizelge 4.1 KRK Hastaları ve Kontrol Grubunun Cinsiyet ve Yaş Ortalamalarına Göre Dağılımı (n:birey sayısı)	37
Çizelge 4.2 <i>IL-6</i> (1800795) Polimorfizmi Allel Ve Genotip Oranlarının, Kontrol Ve Hasta Grubu Arasındaki Dağılımı (n: allel ve genotip sayısı).....	38
Çizelge 4.3 <i>IL-18</i> Polimorfizmi Allel Ve Genotip Oranlarının Kontrol Ve Hasta Grubu Arasındaki Dağılımı (n: allel ve genotip sayısı)	41
Çizelge 4.4 Biyokimyasal Parametrelerin Gösterimi	42
Çizelge 4.5 <i>IL-6</i> Plazma Seviyeleri ve Genotip Dağılımları.....	43
Çizelge 4.6 <i>IL-18</i> Plazma Seviyeleri ve Genotip Dağılımları.....	43

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Adenin bazı
AAPC	: Ailesel Adenomatöz Polipozis Koli
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
APC	: Adenomatöz Polipozis Koli
APC-Axin-GSK	: Glikojen sentaz kinaz
C	: Sitozin Bazı
CRP	: C Reaktif Protein
DCC geni	: Kolorektal Kanserde Delesyon Geni
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
ELİSA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FAM	: 6-carboxyflurescein
FAP	: Ailesel Polipozis Koli
G	: Guanozin Bazı
GTP	: Guanozin Trifosfat
HNPCC	: Herediter Nonpolipozis Kolon Kanseri

HRP	: Horse Radish Peroksidaz
HPCC	: Herediter Polipöz Kolorektal Kanser
IL6	: İnterlökin-6
IL18	: İnterlökin-18
IFN-gama	: İnterferon Gama
IgE	: İmmunoglobülin E
IgG	: İmmunoglobülin G
İBH	: İltihabi Barsak Hastalıkları
gr	: gram
JAK	: Janus Kinaz
KRK	: Kolorektal Kanserler
NFkB	: Nükleer Faktör-KappaB
M	: Molarite
ml	: Mililitre
N	: Birey sayısı
NaCl	: Sodyum Klorür
Na₂EDTA	: Sodyum Etilendiamintetraasetik Asit
Ng	: Nanogram
OR	: Odds Ratio
Real Time PCR	: Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu

rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
SS	: Standart Sapma
Taq	: Thermus Aquaticus
TGF-α	: Transforming Büyüme Faktörü- α
TGF-β	: Transforming Büyüme Faktörü- β
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör- α
μl	: Mikrolitre

ÖZET

Kolorektal Kanserli Hastalarda *İnterlökin-6*, *İnterlökin-18* Gen Polimorfizmlerinin ve Plazma Düzeylerinin Araştırılması

Dünyada görülme sıklığı giderek artan kolorektal kanser (KRK), özellikle gelişmiş toplumlarda görülen ikinci kanser türüdür. Kansere bağlı ölüm sıralamasında erkeklerde akciğer ve prostat kanserinden, kadınlarda akciğer ve meme kanserinden sonra üçüncü sırada yer almaktadır. KRK karsinogenezinin anlaşılması için tümör gelişimi sırasında oluşan moleküler değişikliklerin araştırılması gerekmektedir. Kolon kanserlerinin bazı alt tiplerinde bağışıklık sisteminin başlatıcı etkisi olduğu düşünülmektedir. Bu bilgilerden hareketle Türk populasyonu için Mersin örnekleminde *interlökin-6* ve *interlökin-18* gen polimorfizmlerinin KRK'ye yakalanma riskine olası etkisinin belirlenmesi ve kanda ki düzeylerinin hastalıkla ilişkisi temel hipotezimizi oluşturmuştur. Çalışmamız Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde KRK tanısı konmuş yaş ortalaması 56,96 olan 96 kolorektal kanserli birey ve yaş ortalaması 52,56 olan 96 sağlıklı birey (kontrol grubu) olmak üzere toplam 192 kişiden oluşturulmuştur. Kontrol ve hasta grubundaki bireylerden alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılmış ve genotipler Real-Time PCR yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve plazma düzeyleri ELİSA kit yöntemiyle saptanmıştır. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda: IL-6 G>C polimorfizmine ait G ve C allelleri ve GG, GC ve CC genotip oranları ile kolon kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde IL-18 C>A polimorfizmine ait C ve A allelleri ve CC, CA ve AA genotip oranları ile kolon kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Yapılan plazma ölçümlerinde ise IL-6 değerleri bakımından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. ($p<0,001$) Hasta bireylerde IL-6 değerleri anlamlı şekilde yüksektir. IL-18 değerleri bakımından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p=0,966$).

Anahtar Kelimeler: *İnterlökin-6*, *İnterlökin-18*, Plazma Düzeyi, Polimorfizm, Kolorektal Kanser.

ABSTRACT

The Investigation of *Interleukin-6*, *Interleukin 18* Gene Polymorphisms and Their Plasma Levels in Patients with Colorectal Cancer

The prevalence of colorectal cancer is increasing in the world. Especially in the development countries, the colorectal cancer which is the second most common type of cancer in the world, in the death cases due to cancer it is the third common type of cancer after prostate and lung cancers in men and lung and breast cancers in women. To find out Colorectal cancer carcinogenesis it is necessary to study molecular changes in tumor development. In some subtypes of colon cancers it is thought that immun system has a initiator effect. For this reason, in this study, the association between *Interleukin-6* and *Interleukin 18* gene polymorphism and their levels in blood and colorectal cancer were aimed in Mersin in Turkish population. Our study's sample volume is including the average age 56,96 of 96 individuals have taken colorectal cancer diagnosis as patient group and 96 healthy individuals with the average age is 52,56 for a total of about 192 people at Mersin University Medical Faculty. The molecular analysis of the blood samples which have taken from both experimental and healthy group, was performed by using Real-Time PCR method and plasma levels were analysis by using ELISA kits. As a result from statistical findings; there was an association with IL-6 G>C gene polymorphism, G and C alleles and GG, GC, CC genotypes and colon cancer. Similarly, there was an association with IL-18 C>A gene polymorphism and colon cancer. In plasma measurement, for IL-6 levels there was a meaningful difference between patient and healthy group ($p < 0,001$). In experimental group, IL-6 levels was higher. For IL-18, there was not a meaningful difference between patient and healthy group ($p = 0,966$)

Key words: *Interleukin-6*, *Interleukin-18*, Plasma levels, Polymorphism, Colorectal cancer.

1. GİRİŞ

Kolorektal kanserler (KRK) dünya çapında en sık görülen üçüncü kanser türü olup, batı ülkelerinde kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır ve sıklığı giderek artmaktadır. KRK'lerin nedeni bilinmesine rağmen başta diyet olmak üzere yaşam tarzı ve fiziksel aktivitenin % 30-50 oranında KRK insidansını arttırdığı düşünülmektedir (1). KRK'ler ABD' de kanserden ölüm oranında ikinci sırada yer alır. 2009 yılında 147,000 yeni tanı konmuş ve hastalıkla ilişkili 50,000 ölüm olduğu rapor edilmiştir (2). Tüm gastrointestinal kanser ölümlerinin yarısından fazlasını temsil eder. Kanserinin cerrahi tedavisindeki gelişmelere rağmen KRK ölümcül bir hastalık olmaya devam etmektedir (3). Tüm kanserler içerisinde KRK görülme oranı erkeklerde % 4, kadınlarda ise % 3,7 olarak belirlenmiştir (4). Aile öyküsü, olumsuz sosyo-ekonomik koşullar, sigara-alkol tüketimi, obezite, fiziksel hareketsizlik, pişirme teknikleri KRK ile ilişkili bulunmuştur (5).

Gelişmiş tarama yöntemleri erken tanıya katkı sağlamakla beraber etkili tedavi yöntemlerinin uygulanması hayatta kalmada açısından önem taşımaktadır. Tümörün barsakta görülme zamanı erken teşhiste oldukça önemlidir erken teşhis edilen tümörler genellikle tedavi edilebilir ve cerrahi müdahale en iyi tedavi yöntemi olarak bilinir (6). KRK kanserler tedavi edilebilir olmalarına rağmen hastaların yaklaşık % 50' si metastaz nedeniyle ölmektedir (6).

Sporadik kolorektal kanser riski ile spesifik gen polimorfizmleri arasındaki ilişki ülkemizde birçok araştırmanın konusu olmuş, moleküler risk faktörleri belirlenmeye çalışılmıştır (7). Bu çalışmalarla prognozun ilerlemesinin altında yatan moleküler mekanizmalar anlaşılmaya başlamıştır. Türkiye'deki sporadik kolorektal kanser riski ile ilişkili genetik polimorfizmlerin belirlenmesi için daha büyük çalışma gruplarını içeren çok merkezli araştırmalara ihtiyaç vardır (7).

Kolon kanserlerinin bazı alt tiplerinde bağışıklık sisteminin başlatıcı etkisi olduğu düşünülmektedir. Daha önemli bir yaklaşım ise kolon kanseri biyolojisinin değerlendirilmesinde dolaşımdaki sitokin ve sitokin reseptörlerinin düzeyi kanser hastalarında tanı ve prognostik amaçla biomarker olarak kullanılabileceğidir (10).

Kolon kanserlerinde, önemli bir sitokin interlökin-6 (IL-6) ve pleotropik özellikleridir. IL-6 aktive olmuş tümör hücreleri, makrofaj ve monositler salgılandıktan sonra hedef hücrelere hareket edebilmektedir. IL-6, ilk olarak membrana bağlı IL-6 reseptörüne bağlanır. Bu reseptör; hepatositlerde, nötrofillerde, monosit, makrofajlarda ve bazı lenfositlerde ekspresyon olur. Interlökin-6, kolon kanseri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. IL-6'nın *in vitro* doz-bağımlı bir yöntemle; insan kolon karsinomu hücrelerinde koloni oluşumunu arttırdığı görüldüğünden kanser büyümesini başlattığı saptanmıştır (10). Esas olarak vasküler endotel hücreler, mononükleer fagositler, fibroblastlar, aktive T lenfositler ile mesane ve serviks tümörlerinden salınır. Etkisini özellikle B lenfositler ve hepatositler üzerinde gösterir. B lenfositlerin antikörper üreten hücrelere farklılaşmasını sağlarken; hepatositlerden C-reaktif protein (CRP), mannoz bağlayan lektin (MBL) ve kompleman komponentleri gibi akut faz reaktanlarının salınımına neden olur. Böylece inflamatuvar cevabın ortaya çıkmasını ve gelişmesini sağlar. T lenfosit ve timositler üzerine etkilidir. Diğer sitokinlerle beraber kemik iliğindeki hematopoietik kök hücrelerin gelişimini uyarır. IL-1 ile beraber T-helper hücreleri aktive eder (11). Ayrıca kendi anjiyogenik potansiyelinden dolayı, sekonder tümör oluşumunu başlatmaktadır (10).

İnterlökin-6 geni, 7. kromozomun kısa kolunda, 7p14-7p21 arasında lokalize olmuştur (12). Olgun IL-6 molekülü 26 kDa ağırlığında bir proteindir (11). *IL-6*'nın rs1800795 polimorfizmi en çok çalışılan polimorfizmlerden biridir. Bu polimorfizmin GG genotipini taşıyanlarda *IL-6*'nın transkripsiyon düzeyi artar, CC fenotipini taşıyanlarda ise kolorektal kanser riskini arttırdığı düşünülmektedir (13).

İnterlökin-18; inflamasyon, anjiyenez ve kanserle ilişkili faktörlerden biridir. İnterferon-A indükleyici faktör olarak bilinen IL-18, proinflamatuvar sitokinlerin IL-1 süperaillesinin bir üyesidir. Özofagal, gastrik, ovaryum, kolon, deri, hepatoselüler ve miyeloid lösemi hücrelerinde, baş ve boyun kanserlerinde; IL-18 seviyesinin arttığı

rapor edilmiştir (10). Yapısal olarak IL-1 ile homolog bir sitokindir. Öncelikle 24 kDa'luk bir prekürsör şeklinde salgılanır. Enzimatik bir reaksiyonla (IL-1 β dönüştürücü enzim veya kaspaz-1) aktif formu olan 18 kDa'luk olgun forma dönüşür. IL-1 ile benzer Toll benzeri reseptörleri (Toll like receptör) olmasına rağmen, IL-1'den oldukça farklı fonksiyonları vardır. IL-18 Kupffer hücreleri ve aktive makrofajlardan, lipopolisakkarit ve diğer mikrobiyal ürünlere yanıt olarak sentezlenir. NK (naturel killer) ve T hücrelerinden IFN-gama (interferon gama) üretimini stimule eder ve IL-12 ile bu nedenle sinerjistik etki gösterir. Anti CD40 ve IL-4 ile uyarılmış B hücrelerinden IFN-gama üretimini stimule eder ve otokrin bir şekilde IgE yapımını inhibe eder. NK ve T hücrelerinin maturasyonunu, sitokin üretimini ve sitotoksitesini artırır (14). *IL-18* 'in promotör bölgesinde bulunan rs1946518 polimorfizmi kanser ve ilerlemiş hastalıklarda marker olarak kullanılan önemli polimorfizmlerden biridir (15). Promotör bölgedeki bu polimorfizmin, promotörün çalışmasını değiştirdiği ve transkripsiyonu arttırdığı belirlenmiştir (16).

Bu çalışmanın amacı kolorektal kanserli hastalarda, *interlökin-6* geninin promotör bölgesindeki - 174 pozisyonundaki (G>C) polimorfizmi ile *interlökin-18* geninin promotör bölgesindeki -607 pozisyonundaki (C>A) gen polimorfizminin ve plazma düzeylerinin kolorektal kanserle ilişkili olup olmadığının araştırılmasıdır. Kolorektal kanser hastalarına, erken tanı konulduğunda ve etkili cerrahi tedavi uygulandığında hastalık ortadan kaldırılmakta, tanı konulmasının geciktiği durumlarda tedavi şansı bulunmamaktadır. Kolon kanserinde daha etkili koruma yöntemlerinin geliştirilmesi, erken tespit edilmesi ve tedavisi için, çevresel ve endojen faktörlerin daha iyi anlaşılması gerekmektedir.

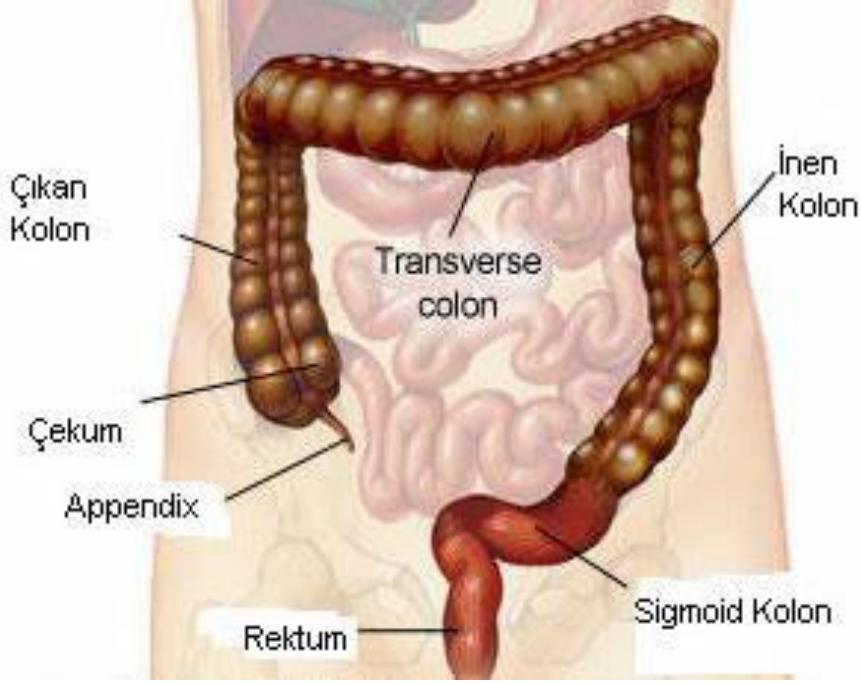
Yapılan literatür taramasında Türk toplumunda kolorektal kanserli hastalarda, *interlökin-6* ve *interlökin-18* gen polimorfizimleri ve plazma düzeyleri arasında ilişki olup olmadığı ile ilgili çalışmalara henüz rastlanmamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kalın Barsak Hakkında Genel Bilgi

Kalın barsak ileumun son kısmından anüse kadar uzanır ve ortalama 1.5 m uzunluğundadır (17). Bu uzunluk gastrointestinal sistem uzunluğunun yaklaşık olarak beşte birini teşkil eder. Terminal ileum ileoçekal valvde posteromedial sınırdaki çekuma eklenir. Çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumdan oluşmaktadır (18). Rektum proksimal ve distal sınırları tartışılabilir olmakla beraber 12–15 cm uzunluğa sahip olarak kabul edilir. Gastrointestinal sistemin son parçası olan rektum anüsle son bulur. Kolon ve rektum birbirlerine çok yakın olmalarından dolayı iki organın kanserleri kolorektal kanser terimi altında birlikte tartışılır (19).

Kalın barsağın fizyolojik görevleri; mikroflora metabolizması ile alınan gıdaların yıkılması, su ve elektrolitlerin emilmesi, semisolid maddelerin depolanması, mikrofloral metabolizma ile alınan materyallerin yıkılması ve feçesin rektum ve anüse doğru ilerletilmesi olarak bilinir (20).



Şekil 2.1 Kalın Barsağın Başlıca Bölümleri

2.1.1 Çekum

Uzunluğu 4-8 cm, çapı yaklaşık 7-8 cm olmakla birlikte, kolonun en geniş kısmını oluşturmaktadır. Kolonun çapı sigmoid kolona doğru giderek küçülür. Çekum tümörleri belirti vermeden büyük boyutlara ulaşır, sigmoid tümörler daha küçük boyutlarda belirti verir.

2.1.2 Çıkan Kolon

Çekumdan başlar, karaciğerin alt yüzünde hepatik fleksurayı yapar. Uzunluğu 15-20 cm olan bu bölüm retroperitoneal yerleşimlidir.

2.1.3 Transvers Kolon

Ortalama 30-60 cm uzunluğunda olmakla birlikte hepatik fleksura ile splenik fleksura arasında uzanır. Transvers kolon peritonize olup uzun bir mezoya sahiptir.

2.1.4 İnen Kolon

Splenik fleksuradan sigmoid kolona kadar uzanır. Uzunluğu 25- 30 cm olup retroperitoneal yerleşimlidir.

2.1.5 Sigmoid Kolon

İnen kolonun bitim yeri olan krsta iliaka hizasında başlar, rektumla sonlanır. Kolon çapının en dar yeri olup yaklaşık uzunluğu 40 cm kadardır. Alt ve üst kenarları sabit orta kısmı hareketlidir ve sigmoid kolon volvulusun en sık görüldüğü yerdir.

2.1.6 Rektum

Yaklaşık uzunluğu 12-15 cm olan rektum, sigmoid kolon ile başlar anal kanal ile sonlanır. Rektumun üst üçte birlik bölümü, ön ve yan yüzeyleri peritonla örtülüdür. Orta üçte birlik bölümünün sadece ön yüzü periton tarafından çevrilir ve alt üçte birlik bölümü peritoneal izdüşümün altındadır (18).

2.2 Kolorektal Kanserler

Kolorektal kanserler (KRK) dünya çapında en sık görülen üçüncü kanser türü olup, batı ülkelerinde kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır ve sıklığı giderek artmaktadır. KRK'lerin nedeni bilinmesine rağmen başta diyet olmak üzere yaşam tarzı ve fiziksel aktivitenin % 30-50 oranında KRK insidansını arttırdığı düşünülmektedir (1). KRK'ler ABD' de kanserden ölüm oranında ikinci sırada yer alır. 2009 yılında 147,000 yeni tanı konmuş ve hastalıkla ilişkili 50,000 ölüm olduğu rapor edilmiştir (2). Tüm gastrointestinal kanser ölümlerinin yarısından fazlasını temsil eder. Kanserin cerrahi tedavisindeki gelişmelere rağmen KRK ölümcül bir hastalık olmaya devam etmektedir (3). Tüm kanserler içerisinde KRK görülme oranı erkeklerde % 4, kadınlarda ise % 3,7 olarak belirlenmiştir (4). Aile öyküsü, olumsuz sosyo-ekonomik koşullar, sigara-alkol tüketimi, obezite, fiziksel hareketsizlik, pişirme teknikleri KRK ile ilişkili bulunmuştur (5).

Gelişmiş tarama yöntemleri erken tanıya katkı sağlamakla beraber etkili tedavi yöntemlerinin uygulanması hayatta kalmada açısından önem taşımaktadır. Tümörün barsakta görülme zamanı erken teşhiste oldukça önemlidir erken teşhis edilen tümörler genellikle tedavi edilebilir ve cerrahi müdahale en iyi tedavi yöntemi olarak bilinir (6). KRK kanserler cerrahi müdahale ve diğer tedavi yöntemleriyle tedavi edilebilmelerine rağmen hastaların yaklaşık % 50' si uzak metastaz nedeniyle ölmektedir (21).

Sporadik kolorektal kanser riski ile spesifik gen polimorfizmleri arasındaki ilişki ülkemizde birçok araştırmanın konusu olmuş, moleküler risk faktörleri belirlenmeye çalışılmıştır (7). Bu çalışmalarla prognozun ilerlemesinin altında yatan moleküler mekanizmalar anlaşılmaya başlamıştır. Türkiye'deki sporadik kolorektal kanser riski ile ilişkili genetik polimorfizmlerin belirlenmesi için daha büyük çalışma gruplarını içeren çok merkezli araştırmalara ihtiyaç vardır (7).

Yapılan çalışmalar çeşitli coğrafik bölgelerde farklı beş yıllık sağkalım oranlarını bildirmektedir. ABD' de % 61, Avrupa'da % 41, Hindistan'da % 42, Çin'de % 32–38 ve en düşük oranlar % 30 ile Doğu Avrupa ülkelerinden bildirilmektedir (22). KRK insidansı, gelişmiş ülkelerde gelişmekte olan ülkelere oranla daha yüksek bulunmuştur. Kolorektal kanser vakalarının üçte birinden azı gelişmekte olan ülkelere ortaya çıkmaktadır. İnsidanslardaki keskin artış Doğu Avrupa ve Japonya'da görülmektedir. Ülkeler arasındaki bu coğrafik farklılıklar temel olarak genetik yatkınlık başta olmak üzere diyet ve çevresel faktörlere bağlanmaktadır (23). Hastalığın etiyolojisi hakkındaki bilgiler son 30 yıl içerisinde öğrenilmiştir (24). Ülkemizde sağlıklı istatistikler bulunmamakla birlikte Sağlık Bakanlığı verilerine göre tüm kolorektal kanserler 4. sırada yer almaktadır (25).

2.3 Kolorektal Kanserde Etiyolojik Faktörler

Kalın barsakta, karsinomlar genel olarak displazik adenomatöz poliplerden gelişmekte olup, sağ kolon yerleşimli olanlar, sol kolon yerleşimli olanlara oranla daha fazla görülmektedir (26). KRK'ların meydana gelmesinde genetik faktörler başta olmak üzere; çevresel faktörlerinde etkili olduğu bilinmektedir. Sporadik olarak gelişen kolorektal kanser sendromları genetik faktörlerin KRK gelişiminde önemli rol oynadığını göstermiştir (27).

Kolorektal kanser etyolojisinde çok sayıda faktörün rol oynayabileceği düşünülmekle beraber kesin neden bilinmemektedir; genetik, deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar hastalığın genetik ve çevresel faktörlerin biraraya gelmesi sonucu ortaya çıktığını göstermektedir (28,29).

2.4 Genetik Faktörler

Kolorektal kanserlerin yaklaşık olarak % 25'i, birinci derece akrabalarında kolorektal kanser öyküsü olan kişilerde görülmektedir. Spesifik olarak kalıtılan (APC geni) ve sonradan oluşan genetik anormallikler (ras geni nokta mutasyonu, c-myc gen amplifikasyonu, 5,8,17 ve 18. kromozomların spesifik bölgelerinde allel delesyonu) kolonik mukozanın normalden maligniteye ilerlemesinde sorumlu ara basamaklar olarak görülmektedirler (30,31). Kalıtsal olmayan sporadik gelişen kolorektal kanser vakalarında adenomatöz poliplerin ortaya çıkıp tümör dokusunun gelişmesinde, iki vuruş modeli (two-hit hipotezi) söz konusudur. Adenomlarda APC (adenomatöz polipozis koli) geninin her iki kopyasında delesyona uğraması hücre siklusunu kontrolden çıkarır. Adenomların % 80'inde APC gen mutasyonu tesbit edilmiştir. Bunu takiben ortaya çıkan başka mutasyonlar tümör oluşum aşamalarının gerçekleşmesine yol açarlar. Çevresel faktörler kolorektal kanserlerin ortaya çıkışını hızlandırabilir. Bu kanserlerde kalıtım şekli mendeliyan değildir (32). Kolorektal kansere predispozisyon yaratan kalıtsal iki sendrom bilinmektedir:

2.4.1 Familial adenomatöz polipozis (FAP):

Otozomal dominant kalıtılan ve kolonda çok sayıda poliple karakterize bir hastalıktır. Gardner Sendromu, Turcot Sendromu, Oldfield Sendromu ve Peutz Jeghers Sendromu FAP'in varyantı olan, kolonda çok sayıda polip varlığı ile seyreden diğer hastalıklardır. Bu sendromlardan gelişen kanserler, sporadik vakalara göre daha genç yaşta ortaya çıkmaktadır (31).

FAP ile birlikte izlenen kolorektal kanserlerdeki mekanizma şu şekilde gerçekleşir; APC genine ait mutant bir allel etkilenmiş bir ebeveynden aktarılır. Diğer allelde ortaya çıkan kazanılmış bir somatik mutasyon kanser gelişimine yol açar. Vakaların 1/3'ünde ise yeni ortaya çıkan bir germline mutasyon söz konusudur. APC geni 5 numaralı kromozomun uzun kolunda (5q21) haritalanmış bir tümör baskılayıcı gendir. Bu mutasyon kolondaki normal epitelyal hücrelerde ortaya çıkar. Mutasyonların büyük çoğunluğu nonsense veya frameshift mutasyonlardır. Vakaların yaklaşık %80-90'ında APC gen mutasyonu tanımlanmıştır. APC geni Wnt arayolunu kontrol eden gendir. Wnt arayolu uyarıldığı zaman hücre proliferasyonu artar. Wnt proteinleri hücre yüzeyindeki Wnt reseptörlerine bağlanırlar. APC-Axin-GSK (glikojen sentaz kinaz-3) kompleksini

inaktive edecek proteinleri indükleyerek devreye sokarlar. Bu kompleks β -katenin proteinini fosforilleyerek ubiquinizasyonla proteozomlarda yıkılmasına yol açmaktadır. Dolayısıyla hücrede β -katenin miktarının azalması ile Wnt arayolu inaktif, artmasıyla aktif hal almaktadır. β -katenin nükleusa girerek transkripsiyon faktörleri ile etkileşir. Aralarında c-Myc geninin de yer aldığı çeşitli genlerin aşırı ekspresyonuna yol açarak hücre bölünmesini indükler. APC mutasyonları sonucunda her iki allel de kayba uğrayınca Wnt arayolu üzerindeki kontrol kalkar. Bu yol sürekli açık kalır. Hücre bölünmesi kontrolsüz kalır. Hiperaktif β -katenin oluşumuna yol açan mutasyonlar da bu tabloya yol açabilir. Erken adenom evresine geçilmiş olur. Bunu takip eden RAS onkogen mutasyonları tabloyu bir ileri aşamaya taşır. Yaklaşık 1 cm civarındaki adenomların % 10'unda, 1 cm'in üstündeki adenomların % 50'sinde K-ras veya N-ras mutasyonlarından biri izlenir. K-ras mutasyonları sıklıkla bulunurken, H-ras mutasyonları nadirdir. Onkogenlerin bir allelinde ortaya çıkan bir mutasyon onkogenik progresyon için yeterlidir. 12p üzerinde yer alan ras onkogenindeki mutasyonlar APC genindeki mutasyonla üstüste binince polip giderek büyür ve parmaklı uzantılara sahip bir hal alır. Bu aşama intermediate (ara) adenom aşamasıdır. Bunu takiben 18. kromozomun uzun kolunda kayıplar izlenir. Erken ve intermediate adenomların %10'unda 18q'da kayıp vardır. Geç dönem adenomlar ve adenokarsinomlarda bu kromozoma ait kayıp oranı % 50'lere yükselir. 18q21'de yerleşim gösteren DCC (deleted in colon cancer) ve SMAD4 ve SMAD2 genleri kayba uğramış olur. DCC bir yüzey proteinini kodlar. Bu protein hücre adezyon proteinleri ve yüzey glikoprotein molekülleri ile oldukça homoloji gösterir. DCC'nin bir tümör baskılayıcı gen olduğu düşünülmektedir. SMAD4 ve SMAD2 TGF- β arayolunda etkindir. TGF- β arayolu normal hücre büyümesini baskılayarak kontrol altında tutar. TGF- β arayolunun devreden çıkması ile gelişim hızlanır. Geç dönem adenomlar gelişir. Daha sonra p53 geninde ortaya çıkan kayıplar tabloyu hızlandırır. Gen 17p13 bölgesinde yer almaktadır. Erken ve intermediate aşamasında p53 kaybı % 20 civarındayken, geç dönem adenomlarda bu oran % 30 olarak izlenmekte ve kanserlerde % 75'e çıkmaktadır. p53 geni bir tümör baskılayıcı genidir ve her iki allelin birden etkilenmesi şarttır. Hücre bölünmesinin baskılanması, stres ve hasara cevaben hücrede apoptozis gelişimi p53 geninin kontrolü altındadır. Bunu diğer genlerde ortaya çıkan değişiklikler takip eder ve

tablo giderek ağırlaşır. Kolon kanserlerinde APC, RAS, SMAD ve p53 mutasyonları mutlak olarak izlenmektedir (32).

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

ii) Turcot Sendromu: Kolon yerleşimli adenomatozis polipozise, nöroepitelyal santral sinir sistemi tümörleri (medullablastoma) eşlik etmektedir.

iii) Ailesel Adenomatöz Polipozis Koli (AAPC) : Oftalmolojik muayenede retinal pigment epitelinin, konjenital hipertrofisi tespit edildiğinde hastalığın varlığından bahsedilebilir. Tüm gastrointestinal sistemi tutabilen, daha çok kolon ve rektumda çok sayıda polipoid oluşumla karakterize ailevi bir hastalıktır. Bu adenomlar 10 yaş civarında görülür ve 30-40 yaşlarında adenokarsinom gelişme riski %80'dir (33).

2.4.2 Herediter Nonpolipozis Kolon Kanseri (HNPCC):

Otozomal dominant geçiş gösterirler ve Lynch sendromları olarakta adlandırılırlar. ABD' de kolorektal kanser vakalarının %2 ile %8'ini oluşturmaktadır (34,35). Bu sendromlar;

Lynch I: Kolon dışı tutulumun olmadığı bu grupta tümör, genellikle erken (ortalama 45) yaşlarda başlayıp %70 oranında proksimal kolonu tutar.

Lynch II: Başta endometrium, over, üreter/renal pelvis, mide, ince barsak, hepatobiliyer sistem olmak üzere kolon dışı tümörlerin eşlik ettiği gruptur (34).

HNPCC tanısı için 1990 yılında alınan ve "Amsterdam kriterleri" olarak geçen "International Collaborative Group on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Carcinoma" (ICG-HNPCC) kriterleri revize edilerek şu şekilde belirlenmiştir:

- a. Ailede, biri birinci derecede olmak üzere iki ya da üç bireyde histopatolojik olarak tanı almış kolorektal kanser bulunması,
- b. Kolorektal kanserin en az iki jenerasyonda ortaya çıkması,
- c. En az bir vakanın 50 yaş altında tanı alması,

d. Kolorektal kansere neden olabilecek Familial Adenomatöz Polipozis sendromlarının olmaması (34,35).

2.5 Hamartamatöz Polipozis Sendromları

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

ii) **Familiyal Juvenil Polipozis:** Polipler genellikle kolon ve rektumdadır, puberte sırasında kaybolabilir. Hastaların %70'inde soliter, geri kalanlarda 2-3 polip olabilir, nadiren sayı 10'dan fazla olduğunda hastalık juvenil polipozis olarak nitelendirilir. Kanser bakımından risk taşır (36).

2.6 Çevresel Faktörler

2.6.1 Diyet:

Kolorektal kanser gelişiminde yağ oranından zengin yüksek kalorili beslenmenin, ateşe maruz kalarak pişmiş kırmızı et tüketiminin, antioksidan, antimutajen etkisi olmayan, lifsel komponenti olmayan beslenme alışkanlığının, tümör oluşumunda önemli rolü vardır. Fakat diyet faktörlerinin riski ne kadar attırdığı ve kanser sürecine nasıl bir katkıda bulunduğu tam olarak bilinmemektedir (37).

Liften içeriği zengin diyetin kolorektal kanser gelişimini önlediği tezi düşük kolon kanseri hızlarını gözlemleyen Burkit tarafından ortaya atılmıştır. Diyetteki lif başlıca selüloz, hemiselüloz, pektin vb. nişasta dışındaki polisakkaridlerden oluşur.

Lifler kolon kanserindeki koruyucu etkilerini başlıca şu yollarla gösterirler.

1- İntestinal transit zamanını kısaltarak diyetteki karsinojenlerin epitele maruziyetini azaltır.

2-Diyetteki ve lümende oluşabilecek karsinojenleri adsorbe ederek epitel ile temasını önler.

3-Barsak mikroflorasını düzenleyerek safra tuzu ve karsinojenlerin metabolizmasını değiştirirler.

4-Lümendeki kısa zincirli yağ asitlerini arttırarak kolon pH sını düşürürler (38).

2.6.2 Postmenaposal Hormon Kullanımı ve Nonsteroidal Anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAID)

Pek çok epidemiyolojik çalışma postmenaposal hormon kullanan bayanlar arasında kolon kanser riskinin azaldığını ileri sürmüştür. Kolon kanseri ve hormonun kullanım süresi arasında tam ortaya konulmamış bir ilişki vardır, kimi çalışmalar hormon kullanıp bırakmış bayanlarda riski daha az bulurken, bir kısmı uzun zamandır (>5 yıl) kullanan bayanlarda riski düşürücü etkisini gözlemlemişlerdir. Österojenin ikincil safra asitleri üzerine olan etkisi kanser riskinin azalmasında üzerinde durulan etki mekanizmalarından biridir. Österojen kullanımı safranin içeriğini, kolesterol salınımını artırması bunun yanında safra asiti salınımını azaltması ile değiştirir.

COX-2'nin ekspresyonu ise stres durumlarında, inflamasyon ve iyileşen yaralarda indüklenir. İlginç olarak COX-2 enzimi kolorektal adenomaların % 45-50'sinde ve karsinomaların % 80-85'inde aşırı olarak eksprese olur. Epidemiyolojik çalışmalar, aspirin veya NSAID'lerin kullanımının kolorektal kanser riskini % 50'ye varan oranda düşürdüğünü ortaya koymuşlardır. FAP'lı hastalarda yapılan bir çalışmada selektif olmayan NSAID sulindan'la tedavi olan hastalarda poliplerin gerilediği ortaya konmuştur (39). Ayrıca NSAID'lerin kemirgenlerde kimyasal olarak indüklenmiş intestinal kanserleri inhibe ettiği gösterilmiştir (40).

2.6.3 Alkol Tüketimi, Sigara Kullanımı ve Fiziksel Aktivite

Alkolün kolorektal kanser riski üzerine olan etkisine yönelik pek çok mekanizma ileri sürülmektedir. Alkolün oksidasyon ürünü olan asetaldehitin kolorektal karsinogenezisten sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Yapılan son çalışmalarda asetaldehitin kolon kanseri riskini azaltan folatı, degrade ettiği ortaya konulmuştur. Ayrıca alkol metil grubu metabolizmasının antogonistidir, böylelikle kolonik karsinogenezisin ilk basamağı olan anormal DNA metilasyonunu indükleyebilir. Son olarak yüksek seviyede alkol tüketimi indirekt olarak immün supresyon, DNA tamirinde gecikme, sitokrom P-450 enziminin indüksiyonu ile karaciğer prokarsinojenlerinin aktivasyonu ve safra asitlerinin bileşimini değiştirerek kanser gelişiminde rol oynayabilir (41).

Sigara kullanımı; kolorektal karsinom riskini arttırdığı kadar, hiperplastik polip oluşumu ve kolon adenomaları içinde yüksek oranda risk faktörü olarak bulunmuştur. Geniş tabanlı klinik araştırmalar kolonadenoma ve kanser oluşumunun sigara içme dozuna bağlı olduğunu göstermiştir. 20 yıldan daha az sigara tüketenlerle kolonda küçük adenoma riski ilişkilendirilirken 20 yıldan fazla içenlerde ise büyük adenomalar oluşmaktadır. Fazla ve uzun süre sigara içenlerde (>35 yıl) kolon kanser riski yüksek bulunmuştur. Kolorektal kanserden ölüm oranları sigara kullananlarda veya uzun süre kullanıp bırakmışlarda hiç kullanmayanlara göre daha fazladır (42).

2.7 Prekanseroz Hastalıklar

- i. Kolorektal polipler
- ii. İltihabi (inflamatuvar) barsak hastalıkları
- iii. Yüksek risk grupları

2.7.1 Kolorektal Polipler ve Polipozis Sendromları

Polip terimi barsak lümenine oluşan herhangi bir epitelyal lezyona verilen addır. Polip klinik ve endoskopik bir terim olup, makroskopik tanımlar yapılır ancak, en önemli özelliği histolojik tipidir. Kolorektal polipler oluştuğu mukozaya bir uzantı ile bağlı olabilir (pediküllü, saplı polip) ya da geniş bir tabanı ile mukoza üzerine oturabilir (sesil, sapsız polip). Poliplerde büyüme ya da ülserasyon gözlemlendiğinde malignite yönünden değişim akla getirilmelidir. Çok sayıda ve yaygın olduğunda polipozis olarak isimlendirilir. Kesin tanı histopatolojik inceleme sonucu yapılır (33). Kolorektal kanserlerin % 33'ünün etyolojisinde polip oluşumu gözlenmiştir. En sık görülen polip tipi hiperplastik polipler olup kanserleşmezler. Adenomatöz polipler ise 2. sıklıkta görülen ve neoplastik tipte poliplerdir. Adenomatöz poliplerin % 1'inden azı maligndir; çapı 2 cm'den büyük, sapsız, villöz yapıda, multipl ve displazik özellik gösteren adenomatöz polipler, kolorektal kanser gelişimi açısından risk oluşturmaktadırlar. Adenomatöz poliplerin kolorektal kanser gelişiminde prekürsör olabileceği görüşü, ilk olarak 1970'li yıllarda ortaya atılmıştır. Orta yaş ve yaşlıların % 30'undan fazlasında adenomatöz polip bulunabilir ama bu poliplerin % 1'inden azı maligndir.

2.7.2 İltihabi Barsak Hastalıkları (İBH)

Kronik ülseratif kolit ve Crohn Hastalığı olanlarda kolorektal kanser riskinin hastalık süresi ile orantılı olarak arttığı bilinmektedir. Bu grupta ortalama % 3-8 olan kanserleşme oranı, hastalığın başlamasından 10 yıl sonra % 10'a, 25 yıl sonra % 30'lara kadar yükselmektedir. Crohn'lu hastalarda kolorektal kanserler genel toplumdan daha erken yaşta görülür ve çoğunluğu musinoz karsinomlar olup cerrahi by-pass yapılan segmentte daha sık görülür. İBH'da karsinomanın başlangıç lezyonu displazidir (43). Birçok çalışma hastalık başladıktan sonraki 8-10 yıldan itibaren yıllık kolonoskopilerle multibl biyopsiler yapılarak displazi saptandığında kolektomi gerektiğini vurgulamaktadır. Son yıllarda neoplastik gelişimin belirtisi olarak kromozomal değişikliklerin tespiti erken devrede yapılabilmektedir. Kromozom 18q da ki relatif kayıp neoplastik ilerleyişin en önemli göstergelerinden biridir (44). Ülseratif kolit ile primer sklerozan kolanjit birlikteliğinde kolon kanseri riskinin daha yüksek olduğunu işaret eden çalışmalar mevcuttur (45).

2.7.3 Yüksek Risk Grupları

Kolorektal kanser öyküsü olanlar (daha önce opere edilip takip edilenler). En az iki, birinci derece akrabasında kolorektal kanser öyküsü olanlar, kolonik adenomatöz polipleri olanlar, meme, over yada endometrium kanser öyküsü olanlar, radyoterapi hikayesi olanlar, inflamatuvar barsak hastalığı olanlar, familyal adenomatozis polipozisi olanlar, Lynch I-II sendromlu hastalardır (46).

2.7.4 Kolorektal kanserlerin histolojik tipleri

Adenokarsinom (iyi, orta, kötü diferansiye), Müsinöz adenokarsinom, Taşlı yüzük hücreli karsinom (Skiröz tip, lenfangiozis tip), Skuamöz diferansiasyon gösteren karsinom (Adenoskuamöz, saf skuamöz), saydam hücre komponentli karsinom, Bazaloid (Cloacogenic) karsinom, Koriokarsinomatöz diferansiasyon gösteren adenokarsinom, Nöroendokrin diferansiasyon gösteren adenokarsinom, Nöroendokrin tümörler (Karsinoid tümör, nöroendokrin, küçük hücreli karsinom). En fazla görülen kanser tipi adenokarsinom olup, tüm tümörlerin % 85 'ini oluşturur (32).

2.8 Kolorektal Kanserlerde Evrelendirme

Kolorektal kanserleri evrelemede üç farklı sistem kullanılır.

1. Dukes Sistemi
2. Astler-Coller Sistemi
3. TNM Sistemi

Kolorektal kanserlerde ilk kez patolojik evrelendirmeyi Cuthbert E. Dukes 1932 yılında yapmıştır. Sınıflandırma kanserin direkt yayılımı ve lenfatik tutulum üzerine dayanır (47). 1954 yılında Aster-Coller tarafından tümör derinliğinin önemine dayanarak Dukes klasifikasyonu modifiye edilmiştir. 1967 Yılında Turnbull, Dukes sistemine uzak metastazla ilgili olan stage D yi eklemiştir. Günümüzde American Joint Committee on Cancer (AJCC) ve Union Internationale Contre Le Cancer (UICC) tarafından yapılan TNM evrelemesi kullanılmaktadır.

To: Primer tümöre ait bulgu yok.

Tis: Sadece mukozada sınırlı. Karsinoma *in situ*.

T1: Tümör submukozaya ulaşmış.

T2: Tümör muskularis propriayı tutmuş.

T3: Tümör serozaya ulaşmış, perikolik yağ dokusu invazyonu mevcut.

T4: Tümör periton boşluğuna veya organlara yayılım yapmış.

Tx: Primer tümör değerlendirilemedi.

No: Lenf nodu tutulumu yok.

N1: Perikolik veya perirektal lenf nodlarından 1-3 adet metastaz.

N2: Perikolik veya perirektal lenf nodlarından en az 4 adet metastaz.

N3: Major arterler trasesinde pozitif lenf nodları.

Mo: Bilinen uzak metastaz yok.

M1: Uzak organ metastaz var.

Kolorektal kanserlerde yapılan bu evreleme sistemlerine göre 5 yıllık yaşam oranları hesaplanabilmektedir, buna göre:

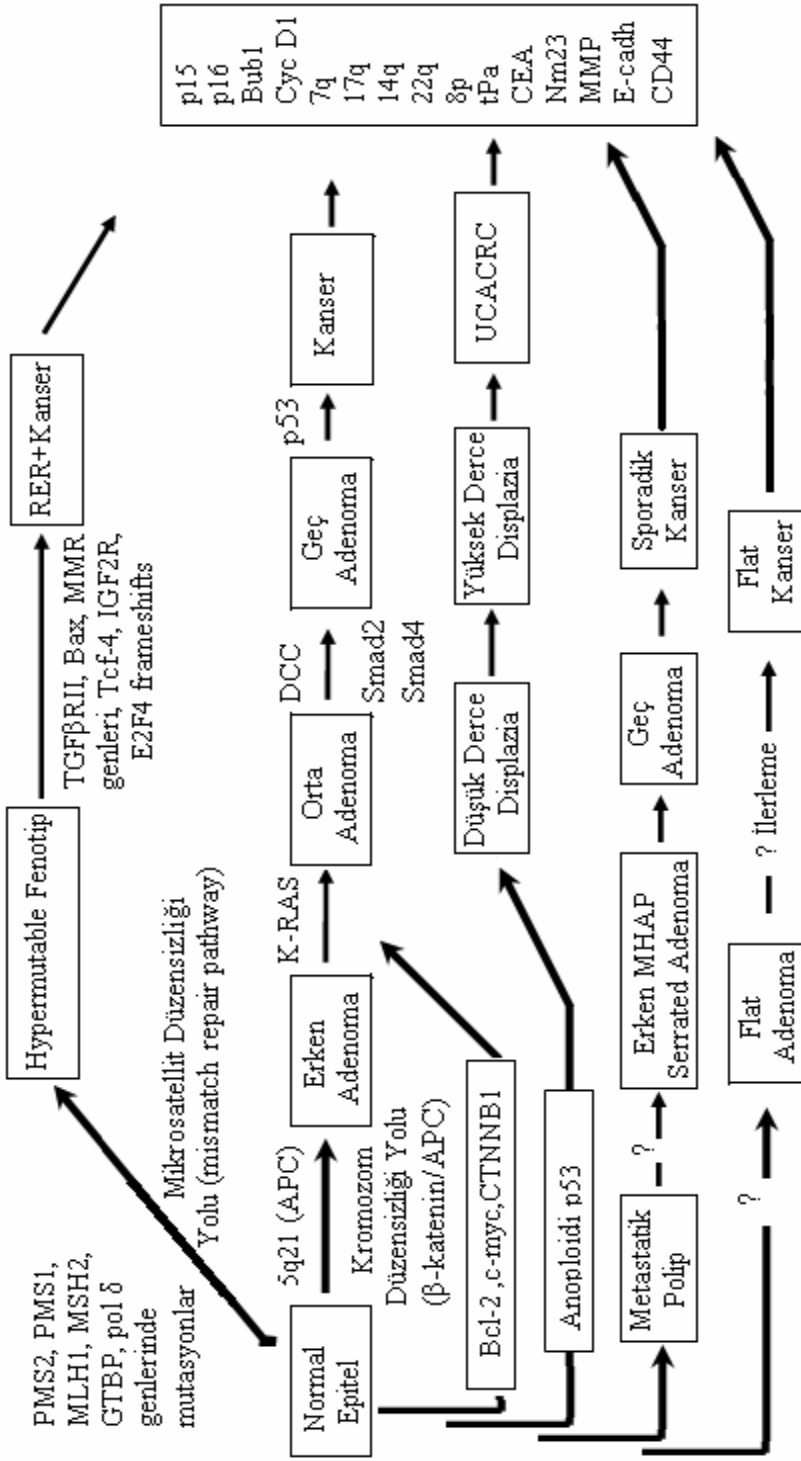
Evre 0 **Tis** No Mo ---- ----

Evre I **T1** No Mo **T2** No Mo A B1 % 85-95

Evre II **T3** No Mo **T4** No Mo B B2 % 60-80

Evre III **Tx** N1 Mo **Tx** N2-3 Mo C C1 - C2 % 30-50

Evre IV **Tx** Nx M1 D % 5-10 yaşam şansı bulunmaktadır (17).



Şekil 2.2 Kolon Kanseriinde Çok Adımlı Kanser Gelişim Modeli (48)

2.9 Kolorektal Kanselerde Prognozu Etkileyen Faktörler

Kolorektal kanserlerde tümör, muskularis propriayı tamamen kaplamamışsa 5 yıllık sağkalım % 95, tamamını kaplamışsa, fakat lenf nodu yayılımı yoksa 5 yıllık sağkalım % 80, nodal metastaz varsa 5 yıllık sağkalım % 20-40'dır. Kolorektal kanserlerin prognozu çok sayıda klinik ve patolojik parametrelerle ilişkilidir. Prognozu etkileyen faktörler aşağıda verilmiştir.

i. Yaş; Tümör çok genç ve yaşlılarda görüldüğünde prognoz kötüdür.

ii. Cinsiyet; Prognoz kadınlarda erkeklere göre daha iyidir.

iii. Lokal yayılım; Mukoza ve submukozada sınırlı olanlarda prognoz iyidir. Regional lenf nodlarına metastaz yapmış veya barsak duvarını aşmış invazyonu olan tümörlerde prognoz kötüdür.

iv. Perforasyon; Barsak duvarında aşırı tümör invazyonu sonucu oluşan perforasyon kötü prognozla ilişkili bulunmuştur.

v. Mikroskopik tip ve Grade; Mikroskopik grade ve prognoz arasında belirgin ilişki bulunmuştur. Mikroskopik subtiplerinden müsinöz karsinom, signet ring cell karsinom, küçük hücreli karsinom diğer olağan adenokarsinomlarından daha kötü prognozludur.

vi. Müsin ilişkili antijenler; Müsinle ilişkili sialasyl-Tn ve sialasyl Lewis antijeni eksprese eden kolorektal karsinomlar çok agresiv klinik seyir göstermiştir.

vii. İnflamatuar reaksiyon; Stromanın eozinofiller ve S100 protein pozitif dendritik hücrelerle infiltrasyonu, Crohn hastalığındakine benzer özellikteki peritümöral lenfositik infiltrasyon iyi prognozla ilişkilidir.

viii. Vasküler ve perinöral invazyon; Ven invazyonu olduğunda 5 yıllık sağkalım belirgin azalır. Perinöral invazyon ilerlemiş bir hastalığın işaretidir ve genellikle kötü bir patolojik bulgudur.

ix. Lenf nodu tutulumu; Tümör lenf nodlarına yayıldığında 5 yıllık yaşam oranı düşer. Lokalizasyon ve lenf nod tutulumunun yaygınlığı önemlidir. Tümörün hemen yanında tutulan nodlar dışında lenf nodu tutulumu varsa tedavi şansı çok azdır. Apikal nod tutulumu kötü prognozu gösterir. Lenf nodu tutulumu derecesi ve tümörün boyutları arasında ilişki bulunmuştur.

x. Kromozom 18q'nun allelik kaybı; Bu karyotipik değişiklik kolorektal karsinomun negatif prognostik işaretidir.

xi. Tümör belirleyiciler; Kolorektal karsinomlar için 6 değişik tümör belirleyicisinden bahsedilmektedir. Bunlar TPA (tissue polipeptit antijen), CEA, CA 19-9, CA 50, CA 242, ve TPS (tissue polipeptit spesifik antijen)'dir. En sık kullanılanları CEA, CA 19-9, ve TPA'dır. TPA ve TPS tümör DNA'sının S fazını dolayısıyla proliferasyon hızını gösterir. CEA, CA 19-9 ve TPA primer tümörün tanısı, nükslerin saptanması ve gerek cerrahi gerekse adjuvan tedaviye tümörün verdiği cevabın gösterilmesinde rol oynar. İlk ameliyatta safra kesesi içinden alınan sıvıda yapılan CEA ölçümlerinde yüksek değer tespit edilmesi gizli karaciğer metastazlarının ortaya konulmasına yardımcı olmaktadır. Ayrıca ameliyat sonrası yapılan kolonoskopik tetkiklerde anastomoz kenarlarından alınan biyopsilerde, human metallo panstimulin'in yüksek oluşu kolon tümörünün daha agresif kimliği olduğunu ortaya koyar. Adenomatöz polipi olanların rektal biyopsilerinde tirozinaz artışının kanser gelişmesinin en erken belirtisi olduğu bildirilmektedir (17,46).

xii. Tümör hücrelerinin DNA indeksi; Flow sitometre ile tümör hücrelerinin DNA indeksi ortaya konulabilir. Bu hücreler daha ziyade diploid nükleuslu olup anöloid nükleuslu tümörlere göre daha az metastaz yaparlar. İleri evre tümörlerin anöloid olma eğilimi vardır. Bazı çalışmalarda tümörün klinikopatolojik evresinden bağımsız olarak DNA indeksinin prognostik değeri olduğu ortaya konulmuştur (46).

Sporadik kolorektal kanser riski ile spesifik gen polimorfizmleri arasındaki ilişki ülkemizde birçok araştırmanın konusu olmuş, moleküler risk faktörleri belirlenmeye çalışılmıştır (7). Bu çalışmalarla prognozun ilerlemesinin altında yatan moleküler mekanizmalar anlaşılmaya başlamıştır. Türkiye'deki sporadik kolorektal kanser riski ile ilişkili genetik polimorfizmlerin belirlenmesi için daha büyük çalışma gruplarını içeren çok merkezli araştırmalara ihtiyaç vardır (7).

Kolon kanserlerinin bazı alt tiplerinde bağışıklık sisteminin başlatıcı etkisi olduğu düşünülmektedir. Daha önemli bir yaklaşım ise kolon kanseri biyolojisinin değerlendirilmesinde dolaşımdaki sitokin ve sitokin reseptörlerinin düzeyi kanser hastalarında tanı ve pragnostik amaçla biomarker olarak kullanılabileceğidir (10).

2.10 Sitokinler

Sitokinler, genelde otokrin ve parakrin özelliklere sahip moleküler ağırlıkları küçük proteinler olarak tanımlanabilir. Günümüzde 200'ün üzerinde insan sitokini tanımlanmıştır. Sitokinleri çalışmada zorluklar yaşanabilir çünkü bu proteinler nadiren tek başlarına salınırlar ve nadiren tek başlarına etki gösterirler. Bir sitokinin bir başkasının yapımı ve yanıtı üzerinde etkisi olabilir (49). Sitokinler hücrel düzenleyici proteinlerdir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranışını etkilerler. Sitokinlerin etkileri sistemik veya lokaldir, bazıları klasik hormon gibi davranırlar. Şöyle ki; belli hücreler tarafından kana veya çeşitli hücrel sıvılara salgılanıp vücudun diğer bölgelerindeki hücrel reseptörlerine bağlanırlar. Bunlar otokrin (bir hücre tarafından salgılanan sitokinin aynı hücre üzerine etkisi) ve parakrin (belli bir hücre tarafından salgılanan sitokinin yakındaki komşu hücreye etkisi) etkilerdir (50).

Sitokinlerin tanımlanması ve karakterize edilmesi çeşitli isimlendirme ve sınıflandırma sistemine göre yapılmıştır. Bu sınıflandırma sitokinler arasındaki fonksiyonel benzerliklere etki mekanizmalarına dayanmaktadır. Sitokinler başlıca şu ana gruplara ayrılmaktadır:

- 1) Doğal immunité mediatörleri olan sitokinler;
 - a) Tip 1 interferonlar
 - b) TNF (Tümör nekroz faktör)
 - c) İnterlökin-1 (IL-1)
 - d) İnterlökin-6 (IL-6)
 - e) İnterlökin-18 (IL-18)
 - f) Kemokinler
- 2) Lenfosit aktivasyonu, çoğalma ve farklılaşmasını düzenleyen sitokinler;
 - a) İnterlökin-2 (IL-2)
 - b) İnterlökin-4 (IL-4)
 - c) Transforming Growth faktör (TGF)
- 3) İnflamasyonda düzenleyici rol oynayan sitokinler;
 - a) İnterferon-gama (IFN-g)
 - b) Lenfotoksin (Nötrofil aktivatoru)

- c) İnterlökin-12 (IL-12)
- d) İnterlökin-10 (IL-10)
- 4) Hematopoezi uyaran sitokinler;
 - a) Stem cell faktör (SCF)
 - b) İnterlökin-3 (IL-3)
 - c) Monosit-makrofaq koloni stimule eden faktör (M-CSF)
 - d) Granülosit koloni stimule eden faktör (G-CSF)
 - e) İnterlökin-7 (IL-7)
 - f) İnterlökin-9 (IL-9)
 - g) İnterlökin-11 (IL-11) (51).

Sitokinler, hematopoietik sistemin de içinde bulunduğu, hedef hücrelerin aktivitelerini değiştiren veya düzenleyen protein ve/veya glikoprotein yapılı immunomodölatörlerdir. Sitokinler hedef hücrelerdeki kendilerine ait spesifik ligandlara bağlanarak etki ederler. Bağlanma ile başlayan sinyal transdüksiyonu ve ikinci haberci iletimi, gen aktivasyonu, mitotik bölünme, büyüme ve farklılaşma, migrasyon veya apoptozise neden olur (52). Sitokinler hücre bölünmesi ve farklılaşmasının kontrolü, hematopoez ve bağışıklık sisteminin regülasyonu, yaraların iyileşmesi, kemik formasyonu ve hücreselel metabolizmanın değiştirilmesi gibi biyolojik olaylarda rol oynamaktadır.

Sitokinler immun ve inflamatuvar cevabın etkin mekanizmalarının çoğuna katılırlar. IL-2 ve IFN gama gibi yardımcı T lenfosit T helper-1 grubundan salınan sitokinler hücreselel immunitede, IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 gibi T helper-2 tip sitokinler humoral immun cevaplarda etkilidirler (53). Lenfokin, monokin, interlokin interferon olarakta adlandırılan sitokinlerin ortak karakteristik özellikleri (54) şunlardır;

1. Sitokinler doğal ve spesifik immunitenin efektör fazında üretilirler.
2. Bir sitokin değişik tip hücreler tarafından salınabilir.
3. Bir sitokin değişik tip hücreler üzerine etki gösterebilir.
4. Moleküler ağırlıkları oldukça düşüktür.
5. Bir sitokinin aynı hedef hücre üzerinde farklı etkileri olabilir. Etkilerini bazen anında bazen saatler hatta günler sonra gösterebilirler.
6. Birden fazla sitokin aynı etkiyi gösterebilir.

7. İki sitokin birbirlerinin etkisini ortadan kaldırabilir (antagonizm), arttırabilir (sinerji) hatta değişik bir etkiye yol açabilir.

8. Sitokin sentez ve sekresyonu kısa süreli olaylardır. Sentezleri genellikle yeni gen transkripsiyonu ile başlar, hücrede önceden yapılmış halde bekletilmezler.

9. Sitokinler hedef hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanarak etkilerini başlatırlar.

10. Belli bir biyolojik etkiyi sağlamak için gereken sitokin miktarı genellikle çok düşüktür.

11. Son derece potenttirler.

12. Daima geçici süreyle ve lokal olarak sentezlenirler. Etkilerini bir reseptöre bağlanarak gösterirler. Reseptör moleküller membrana bağlı oldukları gibi serbest (soluble) halde bulunabilirler. Sitokin reseptörlerinin en önemli fonksiyonlarından biri ekstrasellüler bir sinyali spesifik bir sitokin varlığında intrasellüler bir sinyale dönüştürmektir. Reseptör moleküllerin ekspresyonu da sitokinlerin kontrolü altında bulunur. Sitokin moleküllerinin etkisini ortadan kaldırabilen veya azaltabilen 6 grup molekül vardır (54).

1. Reseptör antagonistleri: Bu moleküller reseptör moleküllerine bağlanarak sitokin etkisini bloke ederler.

2. Solubl sitokin reseptörleri: Solubl reseptörler genellikle sitokinleri serumda bağlayarak hücreye olan etkisini ortadan kaldırır.

3. Sitokin otoantikorları: Sitokinleri spesifik olarak nötralize ederler.

4. İnhibitor sitokinler: IL-10 ve IL-4'un tip1 sitokinler için, IL-2 ve IFN- γ 'nın tip 2 sitokinler için baskılayıcı etki gösterdikleri bilinmektedir.

5. Sitokin reseptörünün yokluğu: Bunun en tipik örneği IFN - γ reseptörlerinin mutasyon sonucu silinmesiyle IFN- γ 'nın makrofajları aktive etmesinin önlenmesidir.

6. İnhibitor proteinler: Bazı insan proteinleri de sitokinlere bağlanmak suretiyle onların biyolojik etkilerini azaltabilirler (49).

2.10.1 Sitokin Reseptörlerinin Sinyal Yolakları

Aktive ettikleri sinyal ileti yollarına göre farklı şekilde sınıflandırılabilirler.

Çizelge 2.1 Sitokin Reseptörlerinin Sinyal İleti Mekanizmaları.

Sinyal İleti Yolağı	Bu Yolağı Kullanan Sitokin Reseptörleri	Sinyalleme Mekanizması
JAK/STAT Yolağı	Tip I ve Tip II sitokin reseptörleri	JAK aracılı fosforilasyon ve STAT transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu
TRAF'lar tarafından TNF reseptör sinyellenmesi	TNF reseptör ailesi: TNF-R1, Fas	Adaptör proteinlerin bağlanması, transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu
Reseptör ile ilişkili tirozin kinazlar	M-CSF reseptör, kök hücre reseptör	Reseptörlerle intrinsik tirozin kinaz aktivitesi
G protein sinyellenmesi	Kemokin reseptörleri	GTP değişimi ve çeşitli hücrel enzimleri aktive eder

2.10.2 İnterlökin-6

Sitokinler inflamatuvar cevapta ve kanser patogeneğinde önemli rol oynar bu gruba en iyi örneklerden biri interlökin-6 (IL-6)'dır (55). IL-6, birçok inflamatuvar ve immün sistem aracılı cevapta önemli rol oynayan bir sitokindir. İmmün ve inflamatuvar olayların oluşumunda anahtar rolü üstlenen tümör nekroz faktörü (TNF) ve IL-1'e cevap olarak üretilir. Diğer akut faz proteinleri gibi karaciğerde sentezlenen IL-6 lipoprotein lipaz aktivitesini, yağ asitlerinin sentezini ve yağ depolanmasını azaltır. Tümör hücrelerinin büyümesini ve diferansiyasyonunu sağlar (55). Esas olarak vasküler endotelial hücreler, mononükleer fagositler, fibroblastlar, aktive T lenfositler ile kardiyak mikzomalar, mesane ve serviks tümörlerinden salınır. Etkisini özellikle B lenfositler ve hepatositler üzerinde gösterir. B lenfositlerin antikor üreten hücrelere farklılaşmasını sağlarken, hepatositlerden C-reaktif protein (CRP), mannoz bağlayan lektin (MBL) ve kompleman komponentleri gibi akut faz reaktanlarının salınımına neden olur. Böylece inflamatuvar cevabın ortaya çıkmasını ve gelişmesini sağlar. T lenfosit ve timositler üzerine kostimülatördür. Diğer sitokinlerle beraber kemik iliğindeki hematopoietik kök hücrelerin gelişimini uyarır. IL-1 ile beraber T-helper hücreleri aktive eder (49).

IL-6 geni, IgG üretiminde B hücrelerini stimüle edici olarak 1986 yılında Hirano ve Kishimoto tarafından keşfedilmiştir (56). *IL-6* geni, 7. kromozomun kısa kolunda, 7p14-7p21 arasında lokalize olmuştur (57). Olgun *IL-6* molekülü 26 kDa ağırlığında bir proteindir. *IL-6* geninin promotor bölgesindeki -174 pozisyonunda tanımlanan G-C değişimi fonksiyonel öneme sahiptir. Yapılan transfeksiyon çalışmalarında, -174 C allelini taşıyanlarda transkripsiyon seviyesinin, G allelini taşıyanlara oranla azaldığı tespit edilmiştir. Bu değişimi içine alan -225 ile -164 arasındaki bölge, gen ekspresyonunda negatif regülatör etkiye sahiptir. DNA footprinting deneyleri, glukokortikoid reseptörünün -201 civarında bir bölgeye bağlandığını göstermiştir. -174'deki bu polimorfizm, glukokortikoid reseptör bağlanmasını etkileyebilecek kadar bu bölgenin yakınında yer almaktadır ve bu nedenle transkripsiyonel aktivasyonu baskılayabilir (58). Ayrıca -174'deki bu değişim bir transkripsiyon faktörü olan NF-1 için potansiyel bir bağlanma bölgesi yaratmaktadır. NF-1'in, transkripsiyon üzerine farklı etkiler gösterebilmekle beraber, gen ekspresyonunun bir baskılayıcısı olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak, C allelini taşıyan kişilerde, G allelini taşıyanlara oranla, lipopolisakkaritler ve IL-1'e cevap olarak *IL-6* salınımı daha düşük olmaktadır. Bu noktadan hareketle, pek çok immün ve inflamatuvar hastalık ile bu polimorfizm arasında bir ilişki olup olmadığı araştırılmakta olup sistemik başlangıçlı juvenil kronik artrit, Alzheimer hastalığı, iskemik stroke koroner kalp hastalıkları (59-62) ve inflamatuvar barsak hastalıkları gibi hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (55).



Şekil 2.3 *IL-6* Geninin Kromozomal Lokalizasyonu (63).

İnsan *IL-6*'sı ilk kez, fitohemaglutinin veya antijen ile uyarılmış periferik mononükleer hücrelerin kültür süpernatantlarında B hücre farklılaşma faktörü olarak bulunmuştur. 1986'da *IL-6* DNA'sının aminoasid dizisi ortaya konmuştur. *IL-6*:

- 1- Dört α -helikal uzun zincir içermektedir.
- 2- Lenfoid ve non-lenfoid birçok hücre tipi tarafından üretilen pleiotropik bir sitokindir.
- 3- T ve B hücre fonksiyonlarının ayarlanması, Ig sekresyonu sağlar.

4- Akut faz inflamasyon reaksiyonlarının gerçekleşmesini sağlar.

5- Hematopoez gibi birçok biyolojik etkiye sahiptir.

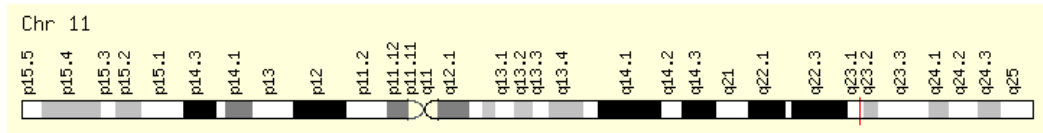
IL-6'nın akut faz cevap sırasındaki etkileri IL-1 ve TNF gibi birkaç diğer sitokin ile sinerjik aktiviteyi içermektedir. IL-6, T hücrelerinin ve timositlerin kostimülatörüdür. T lenfositlerin farklılaştırıcı faktörü ve erken kemik iliği hematopoetik stem hücrelerinin gelişimi için bir kofaktördür. IL-10 üretimi, insan T hücreleri içinde IL-6 ve IL-12 tarafından arttırılmaktadır. IL-6, lenfositlerin yapışmasını arttırmak için endotelial hücreler üzerine etki göstermektedir. Ayrıca bu sitokinin kemotaksis inhibitör etkiye sahip olduğu da ortaya çıkarılmıştır (64). IL-1 ve TNF ile ortak olarak, IL-6; inflamasyonu oluşturan bir endojen pirojen olarak önemli rol oynar. Son çalışmalar IL-6'nın ölümcül infeksiyonlara karşı koruyucu olduğunu göstermektedir ve bu etkiye de kısmen de olsa nötrofillerin aracılık ettiği öne sürülmektedir. Bu koşullarda IL-6 kanda kolaylıkla ölçülebilen sitokinlerden biridir (65). IL-6, akut faz cevabın asıl oluşturucusudur ki bunu CRP, kompleman bileşenleri, orosomukoid, haptoglobin, fibrinojen, proteaz inhibitörleri gibi akut faz proteinleri sentez etmek için hepatositleri aktive ederek sağlar. (CRP) infeksiyon, inflamasyon, malignensi ve otoimmün hastalıklar gibi birçok durumda serum seviyesi yükselen bir akut faz proteindir (56). Karaciğerde interlekin-6'nın kontrolü altında sentezlenir. Diabetes mellitusun akut faz yanıt ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Tip 2 diyabette sialik asid, α -1 asid glikoprotein, CRP, serum amyloid A gibi akut faz reaktanlarının ve mediator sitokin IL -6'nın artmış olduğu gösterilmiştir (66,67). IL-6'nın başlıca işlevleri arasında, B hücrelerinin farklılaşması (immunglobulin salınımı), değişik B hücrelerinde büyümeyi uyarma, hepatik akut faz yanıtına yol açma, makrofajlar ve T hücrelerinin etkinleşmesi ve farklılaşması ile nöronal farklılaşma sayılabilir. IL-6 görevini JAK adı verilen reseptörler aracılığı ile yapar. Günümüzde yapılan çalışmalarda IL-6'nın işlevinin bu reseptörünün hipermetilasyon ile durdurulabileceği kanıtlanmıştır (55, 56). Yüksek dereceli displazi ve kanserlerde epitel hücrelerinde *IL-6* ekspresyonu ve STAT-3 aktivitesi kontrollerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde artış gösterir. Bu bulgular, IL-6 – STAT-3 yolunun ülseratif kolitli hastalarda kolon kanseri gelişiminde çok önemli olduğunu göstermektedir. IL-6 sinyalinin blokajının, kronik inflamatuvar hastalıkları, otoimmün hastalıklar ve enflamasyona bağlı kanserlerin önlenmesinde etkili tedavi

olarak kullanılabilceği düşünölmektedir. IL-6, IBD hastalarının patogenezinde önemli bir regölatör olarak tespit edilmiştir. Çeşitli çalışmalarda, IBD hastalarında IL-6 seviyesine bakılmış ve IBD'li çocuklarda akut faz proteinleri ve IL-6 serum seviyeleri arasında belirli bir korelasyon kaydedilmiştir. Ülseratif kolitli hastaların barsak epital hücrelerinde, IL-6 ve STAT-3 kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazla çıkmıştır. Serumda yükselmiş IL-6 seviyesi, prostat, mesane, kolon ve meme kanseri başta olmak üzere birçok kanserle ilişkilendirilmiştir (56, 68).

2.10.3 İnterlökin 18

İnterlökin 18 (IL-18) IL-1 ailesinden proinflamatuvar bir sitokindir ve ilk olarak interferon gama indükleyici faktör olarak adlandırılmıştır. Başlangıçta 24 kDa'lık inaktif öncül protein olarak sentezlenir (pro-IL-18) fakat kaspaz-1 ve kaspaz-4 tarafından 18 kDa'lık biyolojik aktif formuna kesilir (69). Pro-IL-18, kaspaz 1 dışında lökositler tarafından salınan proteinaz-3 gibi ekstraselüler enzimler tarafından da kesilebilir (70, 71). IL-18 IL-12 ve IL-21 ile benzer şekilde çalışır (72). Nöron ve glialarda fonksiyonel IL-18 reseptör (IL-18R) varlığı stimülasyon deneyleri ile *in vitro* olarak primer murin hücre kültürlerinde ve *ex vivo* olarak murin hipokampal kesitlerde gösterilmiştir (73, 74). IL-18'in reseptörüne bağlanması transkripsiyon faktörü olan NF-B nin aktive olmasını sağlar (75). IL-18 ağırlıklı olarak makrofajlar ve monositler tarafından üretilen proinflamatuvar bir sitokindir, aynı zamanda dentritik hücreler Kupffer hücreleri, fibroblastlar ve epital hücrelerin farklılaşma ve büyümesinde etkilidir. *IL-18* geni kromozom 11'de (11q22.2-22.3) lokalizedir ve promotör bölgesinde birçok polimorfizm içerir. *IL-18* geni altı ekson ve beş introndan oluşmaktadır (72, 76). *IL-18* geninin promotör bölgesinde üç polimorfik bölge dikkati çeker bunlar -607 pozisyonundaki C/A değişimi, -137 pozisyonundaki G/C değişimi ve -656 pozisyonundaki G/T değişimidir. *IL-18* geni 5' untranslate bölgede + 113 T/G ve + 127 C/T olmak üzere iki polimorfik bölge içerir. Bunların dışında kodlanan bölgede 105 pozisyonunda A/C değişimi gözlenmiştir. Bu polimorfizmlerin önemi tam olarak bilinmesede -607 ve -137 pozisyonundaki değişimlerin *IL-18* geninin ekspresyonunu değiştirdiği bilinmektedir (77). *IL-18*'in -607 C/A varyasyonu c-AMP bağlayıcı proteinin bağlanma yerini bozar ve *IL-18* mRNA transkripsiyonunu etkiler. Bu genin -

607 pozisyonundaki C haplotipinin ve -137 pozisyonundaki G haplotipinin IL-18 proteininin ekspresyonunu anlamlı derecede arttırdığı bulunmuştur. Yeni bir sitokin olan IL-18 başlangıçta IL-12 ile birlikte Th-1 hücrelerinden IFN-g salgılanmasına neden olarak dikkati çekmiştir. Ancak daha sonra NK ve T hücrelerinin sitotoksitesini arttırdığı, IL-1b ve TNF-a gibi proinflamatuvar sitokinlerin salgısını potansiyelize ettiği gösterilmiştir. Bu özellikleri nedeniyle IL-18 inflamasyonda temel taşı rolü oynayan bir sitokin gibi görünmektedir. Serum IL-18 düzeyleri erişkin Still hastalığı başta olmak üzere romatoid artrit, juvenil kronik artrit, sarkoidoz, multiple skleroz, crohn hastalığı gibi birçok inflamatuvar hastalıkta yüksek saptanmıştır. *IL-18* gen polimorfizmlerinin kardiovasküler hastalıklar, Behçet hastalığı, atopik astım gibi inflamasyon hastalıklarında etkili olduğu bulunmuştur ayrıca nazofranjial ve yumurtalık kanserlerinin ilerlemesinde etkili olduğu tanımlanmıştır (72, 77, 78).



Şekil 2.4 *IL-18* Geninin Kromozomal Lokalizasyonu (63)

Yapılan çalışmalarda, IL-18'in serum seviyesinin bazı kanser tiplerinde örneğin; özofagus, meme ve mide kanserinde hastalığın seyrini izlemek için kullanılabileceği rapor edilmiştir. Klinik araştırmalarda, serum IL-18 düzeyleri ve özofagus kanseri şiddeti arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (76). Yunan populasyonunda yapılan çalışmalarda KRK gibi hastalıklarla ilişkili bulunmuştur (77). Ovaryum kanseri ile ilişkilendirildiğinde ise IL-18'in serum seviyesi yüksek çıkmıştır (69). IL-18, IL-12 ile birlikte etki ederek T hücrelerinde IFN-g üretimini artırır ve Th1 tipi immün yanıt gelişimine neden olur. IL-12'nin yokluğunda ise, hem Th1 hem de Th2 üzerindeki etkilerine bağlı olarak, Th2 sitokinlerinin üretiminde artmaya neden olmakta ve allerjik inflamasyonda yer almaktadır. IL-18 doğal immünite üzerinde çeşitli roller oynayarak nötrofillerde sitokin ve kemokin üretimini, sitotoksitesiyi, granül salınımını arttırmakta ve NK hücrelerinde IFN-g üretimini indüklemektedir. IL-18 hem doğal hem de kazanılmış immünite üzerindeki önemli etkilerinden dolayı, monosit ve makrofajlardaki IL-1b ve TNF-a gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini arttırarak romatoid artrit gibi

kronik inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır. Ayrıca IL-18 genindeki bu polimorfizmlerin allerjik rinit, astım bronşiale gibi allerjik inflamasyon ile karakterize hastalıklarda da yatkınlığı arttırdığı gösterilmiştir (79, 80). IL-18, aktive makrofajlar, kupffer hücreleri, keratinositler, intestinal epitelyum hücreleri ve osteoblastlarda inaktif olarak üretilir. IL-18'in farelerde yapılan bir araştırmada, tümör anjiogeneğini inhibe ederek, tümörögenesi zayıflatarak ve tümör hücrelerinde apoptozisi indükleyerek anti-tümör etkiye neden olduğu bildirilmiştir (81, 82).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

“Kolorektal Kanserli Hastalarda *IL-6* ve *IL-18* Gen Polimorfizmlerinin ve Plazma Düzeylerinin” araştırıldığı bu çalışmada, hasta ve kontrol gruplarının oluşturulması, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirilmiştir. Biyokimyasal analizler Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Moleküler biyolojik analizler ise GEN Plaza Biyoteknoloji Merkezi'nin desteğiyle tamamlanmıştır.

Çalışmada; hasta ve kontrol gruplarını oluşturan bireylerden DNA izolasyonu için, 6-7 ml'lik venöz kan 1 ml % 2 'lik etilendimetiltetraasetik asit (EDTA) içeren, 15 ml'lik santrifüj tüplerine konulmuştur. DNA izolasyonuna kadar +4°C de saklanmış olup DNA eldesi High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, İsviçre) ile yapılmıştır. Ayrılan kanlardan plazma eldesi yapıp çalışma zamanına kadar -80'de saklanmıştır. Elde edilen DNA'lardan *IL-6* ve *IL-18* polimorfizmlerine ait gen bölgelerinin çoğaltılması, genotiplendirilmesi ve analizleri “Bioneer Marka ExiCycler96 Model Real Time PCR” cihazı ve ExiData V3.54.8 yazılımı (Bioneer) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen plazmalardan ise ELİSA Kit (invitrogen) yöntemiyle mikroELISA cihazında(DSX™ Four-Plate Automated ELISA Processing System, Dynex Technologies, Virginia, USA) plazma düzeyleri ölçülmüştür. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

3.1 Kullanılan Araç ve Gereçler

3.1.1 Kullanılan Cihazlar

- ExiCycler Model Real Time PCR Cihazı (Bioneer Kat No: A-2060, Exi-05C-1201027)
- DSX™ Four-Plate Automated ELISA Processing System mikroELISA Cihazı (Dynex Technologies, Virginia, USA)
- Santrifüj (Nüve NF-800)

- Etüv (Nüve EN-500)
- Otoklav (Nüve OT 4060 V)
- Vorteks (VELP)
- Mikropipet Seti (Eppendorf)
- Derin Dondurucu (Arçelik-2031D)
- Buzdolabı (Arçelik-8188 NF)
- Otomatik Pipet Seti (Arise, Kat No: A-Pette)
- Filtreli Pipet ucu (AXYGEN, Kat No: AXT-300)
- Eppendorf tüpler (AXYGEN, Kat No: AXMCT-150-C)

3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

- EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) (Sigma E-5134)
- DNA İzolasyon Kiti (Roche)
- Steril distile Su (Sigma W-3500)
- qPCR Master Mix (Bioneer, içerdikleri: Taq DNA Polimeraz, 10X reaction buffer, Dye (Xylene Cyanole), Stabilizer (sorbitol), Tween 20, dNTP)
- AccuPower GreenStar qPCR PreMix (Kat No: K-6210, Bioneer)
- IL-6 ELİSA Kit (Invitrogen Kat No: KHC0061)
- IL-18 ELİSA Kit (MBL Kat No: 7620)
- Primer/Probe (Bioneer Kat No: S-1001)

G/C rs1800795 *interlökin-6* promotör -174 polimorfizmi için;

F: 5'-CGACCTAAGCTGCACTTTTCC-3'

R: 5'-GGGCTGATTGGAAACCTTATTAAGATTG-3'

C/A rs1946518 *interlökin-18* promotör -607 polimorfizmi için;

F: 5'-GTTGCAGAAAGTGTA AAAATTATTAC-3'

R: 5'-TAACCTCATTTCAGCACTTCC-3'

3.1.3 DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, DNA ile ilgili yapılan moleküler analizlerin ilk basamağını oluşturur. İnsan genomik DNA'sının ekstraksiyon, izolasyon ve pürifikasyonuna ilişkin çok çeşitli protokoller geliştirilmiştir. Bu çalışmada kit ile izolasyon yöntemi kullanılmıştır. DNA izolasyonu temelde 2 aşamadan meydana gelir.

1). DNA İzolasyonunda İzlenen Yol

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubuna ait bireylerden alınan 6-7 ml periferik kan, üzerinde her birey için özel protokol numarası kaydedilen ve içerisinde 1 ml EDTA bulunan 15 ml'lik plastik tüplerde -20 °C'de saklanmıştır. 1,5ml'lik steril santrifüj tüplerine her bireye ait özel protokol numaraları kaydedilerek içlerine 200µl periferik kan örneği pipetlenmiş ve DNA izolasyonu için aşağıda sıralanan yöntem uygulanmıştır:

- Steril santrifüj tüpü içerisine pipetlenen 200 µl periferik kan üzerine 400µl Lysis Solüsyonu ve 20 µl Proteinaz K Solüsyonu eklendi, dikkatlice vortekslenerek karışması sağlanmış,
- Örnekler su banyosunda 56 °C'de 10 dakika inkübasyona bırakılmış,
- İnkübasyonu tamamlanan örneklerin üzerine 200 µl % 96'luk etanol eklenmiş ve vortekslenerek karıştırılmış,
- Hazırlanan karışım 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirilerek kolona aktarılmış ve 6000 rpm'de 1dk santrifüj edilmiş, toplama tüpü atılarak kolon yeni toplama tüpüne yerleştirilmiştir,
- Kolon üzerine 500 µl Wash Buffer I pipetlenmiş ve 8000rpm'de 1dk santrifüj edilmiş, toplama tüpündeki sıvı boşaltılarak kolon tekrar yerleştirilmiştir,

- Kolon üzerine 500 µl Wash Buffer II pipetlenmiş ve maksimum hızda (>12000 rpm) 3 dk santrifüj edilmiştir, toplama tüpü atılarak kolon 1,5ml'lik steril saklama tüpüne yerleştirilmiş,
- Kolon üzerine 200 µl Elution Buffer pipetlenmiş 2 dk oda ısısında bekletildikten sonra 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir
- Kolon atılmış ve elde edilen DNA +4 °C'de saklanmıştır.

3.2 Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması

Hasta grubu, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kolorektal Ana Bilim Dalı'nda kolorektal kanser tanısı almış 18-65 yaş aralığındaki 96 bireyden oluşturulurken, sağlıklı kontrol grubu hastalık tanısı almamış sağlıklı bireylere ait DNA örneklerinin hasta grubuyla sayı bakımından ve cinsiyet dağılımı açısından uyumlu olacak şekilde seçilmesiyle oluşturulmuştur. Çalışma için Mersin Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onay alınmıştır. Hem hasta hem de kontrol grubundaki bireylerden çalışmaya dahil olmayı kabul ettiklerine dair etik kurulda belirtilen yönergelere uygun bir biçimde hazırlanmış bilgilendirilmiş onam formunu doldurmaları istenmiştir. Çalışmaya dahil olmayı kabul eden her bireyin onayı alındıktan sonra, 6-7 ml periferik kan alınarak 1 ml, % 2'lik EDTA içeren santrifüj tüplerine konulmuştur.

3.3 İnterlökin-6 Geninde Promotör Bölgesindeki (-174 G/C) Gen Polimorfizmi İle İnterlökin-18 Geninde Promotör Bölgesindeki (-607 C/A) Gen Polimorfizminin Belirlenmesi

3.3.1 İnterlökin-6 geninin promotör (-174) bölgesi ile İnterlökin-18 geninin promotör (-607) bölgesinin özgül primerlerle amplifikasyonu

İnterlökin-6 genine ait *rs1800795* polimorfizmi ve *İnterlökin-18* genine ait *rs1946518* polimorfizmi "Bioneer" tarafından üretilen, Q-PCR Premix sistemine göre "Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu" (Real Time Polymerase Chain Reaction) yöntemiyle belirlenmiştir.

Çizelge 3.1 *IL-6*, *IL-18* genlerine ait primerler

Primerler	Sekansları	Uzunluk
<i>IL-6</i> : polimorfizm –174G/C		
Forward Primer: <i>IL-6-174G/C-F</i>	5'-CGACCTAAGCTGCACTTTTCC-3'	21
Reverse Primer: <i>IL-6-174G/C-R</i>	5'-GGGCTGATTGGAAACCTTATTAAGATTG-3'	28
<i>IL-18</i> : polimorfizm -607 C/A		
Forward Primer: <i>IL-18 -607 C/A-F</i>	5'-GTTGCAGAAAGTGTA AAAATTATTAC-3'	26
Reverse Primer: <i>IL-18 -607 C/A-R</i>	5'-TAACCTCATT CAGCACTTCC-3'	20

3.3.2 SNP Özellikleri

GEN-SNP rs	<i>IL-6 rs1800795 [Homo sapiens]</i>	
Varyant (M>m)	G>C	
Çoğaltılan Sekans	CACTTTTCCCCTAGTTGTGCTTGC[G/C]ATGCTAAAGGACGTCACATTGCACA FAM/TAMRA	

Şekil 3.1 *IL-6* genine ait rs1800795

GEN-SNP rs	<i>IL-18 rs1946518 [Homo sapiens]</i>	
Varyant (M>m)	C>A	
Çoğaltılan Sekans	CACGGATACCATCATTAGAATTTTAT[G/T]TAATAATTTTACACTTCTGCAAC FAM/TAMRA	

Şekil 3.2 *IL-18* genine ait rs1946518

3.3.2.1 Real Time-PCR reaksiyon ortamının hazırlanması

Öncelikle Real Time PCR reaksiyon miksi 96 kuyucuklu saydam polipropilen tabağın (plate) kuyucuklarına dağıtılmıştır. Hazırlanan karışımın kontamine olup olmadığını belirlemek için her bir reaksiyon tabağında örnek DNA içermeyen negatif kontrol kuyucuğu kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı kuyucuklara dağıtıldıktan sonra 96 kuyucuklu plate için Real Time PCR film ile kuyucukların üzeri kaplanmıştır. Isı bloğuna yerleştirilen plate daha önceden hazırlanan yürütme metodu şablon dosyası açılarak reaksiyon başlatılmıştır. Yaklaşık iki buçuk saat süren deneyin ardından genotip tayini yapılmaya çalışılmıştır. Her bir polimorfizm için şablon dosyada kayıtlı aşağıdaki Real Time PCR şartları kullanılmıştır:

- 43 µl, PCR Grade Water
- 5 µl Örnek DNA'sı (Yaklaşık 50 ng/uL)
- 1 µl, Primer/Prob Seti (10 pmol/uL)
- 1 µl, qPCR PreMix (İçeriği: Taq DNA Polimeraz, 10X reaction buffer, Dye (Xylene Cyanole), Stabilizer (sorbitol), Tween 20, dNTP)

Q-PCR Reaksiyon Karışımı		Reaksiyon Hacmi
Örnek	Negatif Kontrol	5ml
	Örnek DNA	5ml
Forward Primer		1ml
Revers Primer		1ml
PCR Grade Su		43ml
Toplam		50ml
Basamak	Sıcaklık	Çalışma Zamanı
Line1: pre-denatürasyon	95	5 dakika
Line2: denatürasyon	95	5 saniye
Line3: annealing&extension	60	40 saniye
Scan	Hedef boya/filtre: FAM/TAMRA	

Çizelge 3.2 Real Time PCR şartları ve Gerekli Malzemeler

3.4 Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Önceden santrifüj edilip hazırlanmış ve ölçüm gününe kadar -80 derecede muhafaza edilmiş olan plazma örnekleri, oda ısısına (20-25 °C) gelene kadar bekletildikten sonra analiz edilmiştir. Bu çalışmada IL-6 ve IL-18'in plazma düzeyleri ELISA (kantitatif sandviç enzim bağlı immünoassay) yöntemiyle saptanmıştır.

3.4.1 İnterlökin-6'nın Ölçümü

Plate kuyucuklarında yerleşik anti-IL-6 antikoları kullanılmıştır. Standartlar ve örnekler, sabitlenmiş antikoları bağlamak üzere kuyucuklara pipetlenmiştir. Kuyucukların yıkanmasından sonra biyotinlenmiş antikor eklenmiştir. Yıkamayla bağlanmayan biyotinlenmiş antikolar uzaklaştırıldıktan sonra streptavidin ile konjuge Horseradish Peroksidaz (HRP) pipetlenmiş ve inkübasyondan sonra kuyucuklar tekrar yıkanmıştır, Tetrametilbenzidin (TMB) substrat solüsyonu eklenmiş ve bağlı IL-6 miktarıyla orantılı renk oluştuğu gözlenmiştir. Stop solüsyonuyla mavi renk sarıya değişmiş ve renk yoğunluğu 450 nm dalga boyunda, (DSX™ Four-Plate Automated ELISA Processing System mikroELISA cihazında, Dynex Technologies, Virginia, USA) ölçülmüştür. Standartların absorbansları ve konsantrasyonları ile oluşturulan eğriye göre örneklerin içerdiği IL-6 miktarı hesaplanmıştır.

Standart çözeltilerinin hazırlanması: 10 dk oda ısısında bekletilmiş 1 ml standart diluent, liyofilize halde olan stok standart içine eklenmiş ve çalkalamadan hafifçe karıştırılmıştır. Hazırlanan stok solüsyonundaki standart konsantrasyonu 50 ng/ml olarak hesaplanmıştır. 8 tane ependorf alınmış ve ilk 7 ependorf içerisine 0.5 ml standart diluent eklenip sonuncusu boş bırakılmıştır. 50 ng/ml olan stok solüsyonundan 500 µl alınıp ilk ependorfa eklenmiş, iyice karıştırılmıştır. Bu karışımdan da 500 µl alınıp bir sonrakine eklenmiştir. Bu işlem sıradaki 7 ependorfla tamamlanmıştır. Sonuçta, 8 farklı konsantrasyondan oluşan standart seri hazırlanmıştır.

Yöntem prosedürü:

- Tüm reaktif, örnek ve standartlar hazırlanmış,

- Standart ve örneklerden 100 µL her kuyucuğa eklenmiştir.
- Biotin konjugattan 50 µL eklenmiş,
- 2 saat oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
- Aspire edilip 4 kez yıkanmış,
- 100 µL streptavidin-HRP eklenmiş ve 30 dk. oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
- Aspire edilip 4 kez yıkanmış,
- 100 µL stabilize kromogen eklenmiş ve 30 dk. oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
- 100 µL Stop Solution (dur solüsyonu) ile reaksiyonlar durdurulmuştur.
- 450 nm de absorbanlar okunmuş ve konsantrasyonlar standart eğriden hesaplanmıştır.

3.4.2 İnterlökin-18'in Ölçümü

Platelerdeki kuyucuklarında yerleşik iki tane anti-IL-18 antikoru kullanılmıştır. Standartlar ve örnekler, sabitlenmiş antikoları bağlamak üzere kuyucuklara pipetlenmiştir. Yıkamayla bağlanmayan antikolar uzaklaştırıldıktan sonra streptavidin ile konjuge horseradish peroksidaz (HRP) pipetlenmiştir. İnkübasyondan sonra kuyucuklar tekrar yıkanmış, tetrametilbenzidin (TMB) substrat solüsyonu eklenmiş ve bağlanmış IL-18 miktarıyla orantılı renk oluşumu gözlenmiştir. Stop solüsyonuyla mavi renk sarıya değişmiş ve renk yoğunluğu 450 nm dalga boyunda, (DSX™ Four-Plate Automated ELISA Processing System mikroELISA cihazında, Dynex Technologies, Virginia, USA) ölçülmüştür. Standartların absorbanları ve konsantrasyonları ile oluşturulan eğriye göre örneklerin içerdiği IL-18 miktarı hesaplanmıştır.

Reaktiflerin hazırlanması: Yıkama solüsyonu 1/10 oranında distile su ile seyreltilmiştir. Konjugat solüsyonu ise 1:101 oranında konjugat seyreltici ile seyreltilmiştir. Standartlar, assay dilüent ve IL-18 kalibrotörü ile sulandırılmıştır. Her bir örnek 1:5 oranında assay dilüentle sulandırılmıştır. Örnekler ve standartlar kuyucuklara konulduktan sonra 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.

Yöntem prosedürü:

- Tüm reaktif, örnek ve standartlar hazırlanmıştır.
- Standart ve örneklerden 100 µL her kuyucuğa eklenmiştir.
- 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
- Aspire edilip 4 kez yıkanmış,
- 100 µL streptavidin-HRP eklenmiştir.
- 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
- Aspire edilip 4 kez yıkanmış,
- 100 µL stabilize kromogen eklenmiş ve 30 dk. oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
- 100 µL Stop Solution (dur solüsyonu) ile reaksiyonlar durdurulmuştur.
- 450 nm de absorbanslar okunmuş ve konsantrasyonlar standart eğriden hesaplanmıştır.
- Örnekler 1:5 oranında seyreltiildiği için çıkan sonuç 5 ile çarpılmıştır.

3.5 İstatistiksel Analiz

Kolorektal kanserli hastalar ile kontrol grupları; *IL-6* ve *IL-18* gen polimorfizmlerinin KRK ile arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla uygulanan istatistiksel testler, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı'ndan danışmanlık alınarak yapılmıştır. Allellerin her birinin frekansları hesaplanmış ve populasyonun denge durumu Hardy Weinberg ile belirlenmiştir. Analizler SPSS 11.5 paket programı kullanılarak hesaplanmış, $p < 0,05$ için sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 KRK Görülme Oranlarının Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı

Çalışmada hasta grubunu oluşturan KRK hastalarının 62 tanesi erkek (% 64,6) ve 34'ü kadın (% 35,4) olup yaş ortalamaları $56,96 \pm 12,93$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Sağlıklı kontrol grubu olarak seçilen 96 bireyin 39'u kadın (% 40,6) 57'si erkek (% 59,4), yaş ortalamaları $52,56 \pm 13,78$ olup, yaş değerleri bakımından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır ($p=0,005$). Hasta grubunun yaş değerleri kontrole göre daha yüksek bulunmuştur.

Hasta ve kontrol grupları cinsiyet dağılımı bakımından incelendiğinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,552$).

Çizelge 4.1 KRK Hastaları ve Kontrol Grubunun Cinsiyet ve Yaş Ortalamalarına Göre Dağılımı (n:birey sayısı)

	KONTROL	HASTA	p
n	96	96	0,005
Yaş(yıl)(ortalama±SS)	52,56±13,78	56,96±12,93	
CİNSİYET(K/E) %	39/57 (40,6/59,4)	34/62 (35,4/64,6)	0,552

4.2 *IL-6* (rs1800795) Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Oranlarının Kontrol Grubu ile Hastalar Arasındaki Dağılımı ve KRK ile İlişkisi

Yapılan istatistiksel analizde; kontrol grubunun *IL-6* polimorfizmi açısından “HardyWeinberg” dengesinde olduğu saptanmıştır ($p=0,686$). Hasta grubunda ise populasyonun “HardyWeinberg” dengesinde olmadığı saptanmıştır ($p<0,001$).

IL-6 G/C (rs1800795) polimorfizmine ait genotip oranları karşılaştırıldığında; KRK hastaları ile kontrol grubu arasında genotip dağılımları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$). GC genotipinin görülme sıklığı, kontrol grubunda KRK hastalarına göre fazla saptanmıştır. KRK hastaları ve kontrol grubundaki bireylere ait genotip sıklıkları incelendiğinde ise;

- **GG** genotipinin görülme sıklığı; KRK'li hastalarda % 41.7 kontrol grubunda % 27.1 olarak;
- **GC** genotipinin görülme sıklığı; KRK'li hastalarda % 16.7 kontrol grubunda % 47.9 olarak;
- **CC** genotipinin görülme sıklığı ise KRK'li hastalarda % 41.7, kontrol grubunda ise % 25; olarak bulunmuştur.

Sonuçlar allel sıklığı açısından sayısal ve oransal olarak incelendiğinde; KRK'li hastalarda:

- **C** alleli % 50, **G** alleli % 50 olarak bulunmuştur.

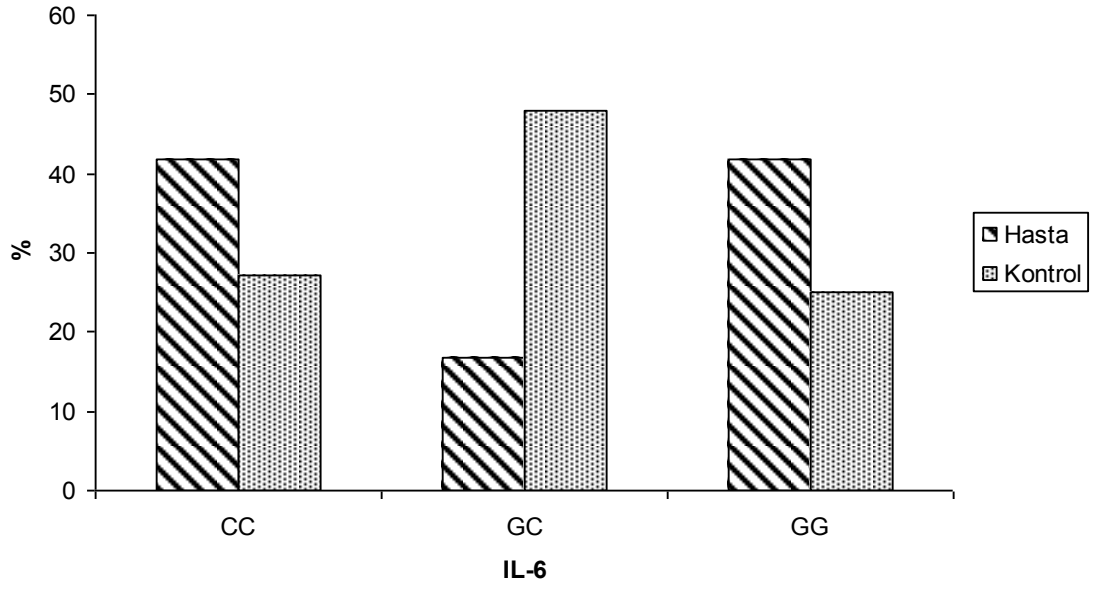
Kontrol grubunda:

- **C** alleli % 51, **G** alleli ise % 49 bulunmuştur. ($p=0,918$). (Çizelge4.2).

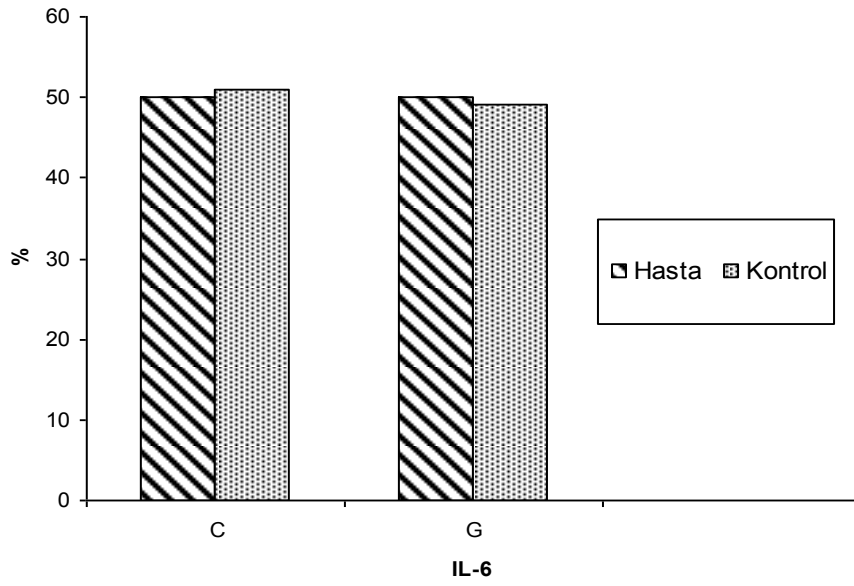
IL-6 için genotip dağılımları bakımından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0,001$). *GC* genotipine sahip bireylerin hasta olma olasılığı kontrol grubuna göre 0,208 kat daha azdır [$OR=0,208$, ($0,097-0,447$), $p<0,001$]. *GC* genotipi, kontrol grubunda hasta grubundan daha fazla görülmüş olup, sağlıklı bireylerde KRK riskini azalttığı belirlenmiştir. *IL-6* için allel dağılımları bakımından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p=0,918$).

Çizelge 4.2 *IL-6* (1800795) Polimorfizmi Allel Ve Genotip Oranlarının, Kontrol Ve Hasta Grubu Arasındaki Dağılımı (n: allel ve genotip sayısı)

<i>IL-6</i> Allelleri ve Genotip Frekansları	KONTROL		KRK		P
	n	%	n	%	
G Allel Frekansı	94	49	96	50	0,918
C Allel Frekansı	98	51	96	50	
GG Genotip Frekansı	24	25	40	41,7	0,001
GC Genotip Frekansı	46	47,9	16	16,7	
CC Genotip Frekansı	26	27,1	40	41,7	



Şekil 4.1 *IL-6* G>C (*rs1800795*) Polimorfizmine Ait Genotip Oranlarının Kontrol Grubu İle KRK Hasta Grubu Arasındaki Dağılımı



Şekil 4.2 *IL-6* G>C (*rs1800795*) Polimorfizmine Ait Allel Oranlarının Kontrol Grubu İle KRK Hasta Grubu Arasındaki Dağılımı

4.3 *IL-18* (C/A) Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Oranlarının Kontrol Grubu ile Hastalar Arasındaki Dağılımı ve KRK İle İlişkisi

Yapılan istatistiksel analizde; kontrol grubunun *IL-18* (C/A *rs1946518*) polimorfizmi açısından “Hardy Weinberg” dengesinde olmadığı saptanmıştır ($p<0,001$). Hasta grubunun ise “HardyWeinberg” dengesinde olduğu saptanmıştır ($p=0,103$).

IL-18 için allel dağılımları bakımından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p=0,539$).

IL-8 C/A (*rs1946518*) polimorfizmine ait genotip oranları karşılaştırıldığında; kontrol grubu ile KRK hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0,001$). CA genotipinin görülme sıklığı, KRK hastalarında kontrol grubuna göre fazla saptanmıştır. KRK hastaları ile kontrol grubundaki bireylere ait genotip sıklıkları incelendiğinde;

- CC genotipinin görülme sıklığı; KRK’li hastalarda % 28.1, kontrol grubunda % 42.7
- CA genotipinin görülme sıklığı; KRK’li hastalarda % 41.7, kontrol grubunda % 5.2
- AA genotipinin görülme sıklığı ise; KRK’li hastalarda % 30.2 iken; kontrol grubunda % 52.1 olarak bulunmuştur.

Sonuçlar allel sıklığı açısından sayısal ve oransal olarak incelendiğinde;

KRK’li hastalarda:

- A alleli % 51, C alleli % 49 olarak

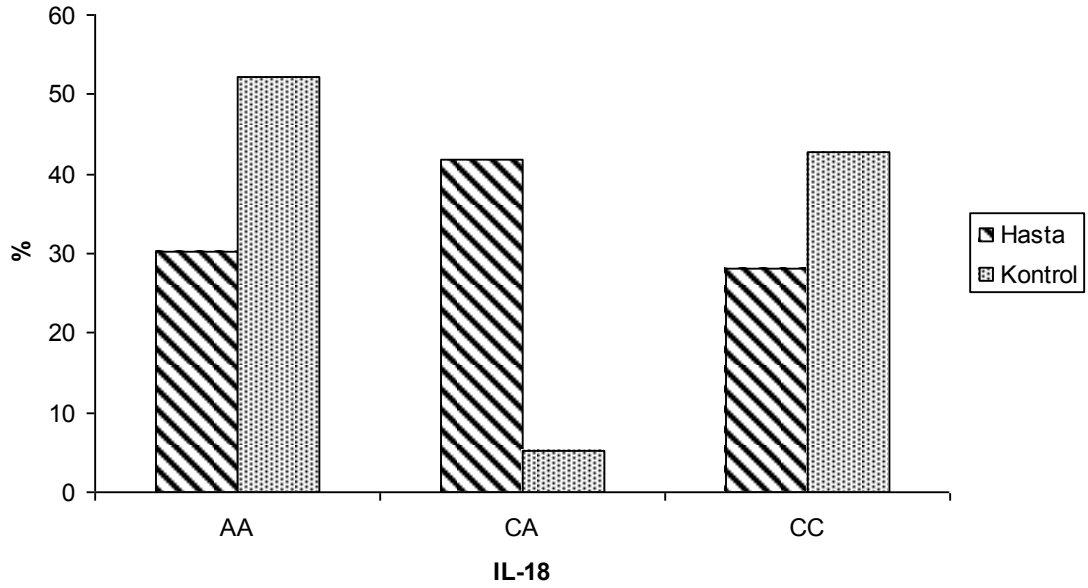
Kontrol grubunda:

- A alleli % 54.6, C alleli ise % 45.4 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3).

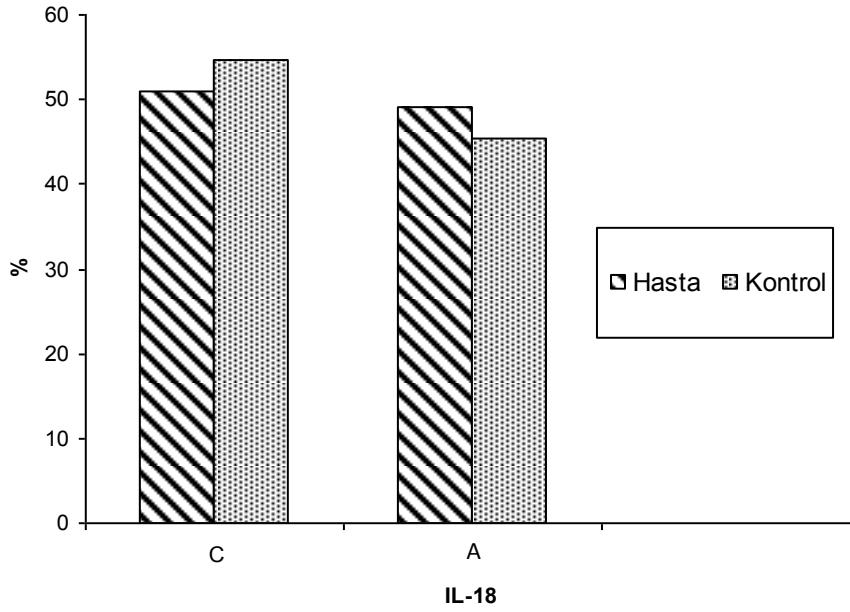
IL-18 için genotip dağılımları bakımından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). CA genotipine sahip olan bireylerin KRK’e yakalanma olasılığı hastalarda kontrol grubuna göre 12,14 kat daha fazla bulunmuştur, CA genotipi KRK’e yakalanma olasılığını arttırmaktadır [$OR=12.14$ (4,25-34,68), ($p<0,001$)].

Çizelge 4.3 *IL-18* Polimorfizmi Allel Ve Genotip Oranlarının Kontrol Ve Hasta Grubu Arasındaki Dağılımı (n: allel ve genotip sayısı)

<i>IL-18</i> Allelleri ve Genotip Frekansları	KONTROL		KRK		P
	n	%	n	%	
A Allel Frekansı	105	54,6	98	51	<i>0,539</i>
C Allel Frekansı	87	45,4	94	49	
AA Genotip Frekansı	50	52,1	29	30,2	<i>0,001</i>
CA Genotip Frekansı	5	5,2	40	41,7	
CC Genotip Frekansı	41	42,7	27	28,1	



Şekil 4.3 *IL-18* A/C (*rs1946518*) polimorfizmine ait genotip oranlarının kontrol grubu ile KRK hasta grubu arasındaki dağılım



Şekil 4.4 IL-18 A/C (rs1946518) Polimorfizmine Ait Allel Oranlarının Kontrol Grubu İle KKK Hasta Grubu Arasındaki Dağılım

4.4 KRK'li Hastalarda IL-6 ve IL-18'in Biyokimyasal Analizi

IL-6 değerleri bakımından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p < 0,001$). Hasta bireylerde IL-6 değerleri anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. IL-18 değerleri bakımından hasta ve kontrol grubu değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p = 0,966$).

Çizelge 4.4 Biyokimyasal Parametrelerin Gösterimi

	KONTROL	HASTA
Sitokinler	Ort.±Std. Sapma	Ort.±Std. Sapma
IL-6	12,03±37,63 p/gm	33,24±97,53 p/gm
IL-18	476,98±299,05 p/gm	561,37±484,28 p/gm

4.5 KRK'li Hastalarda IL-6 ve IL-18'in Plazma Seviyelerinin Genotiplerle İlişkilendirilmesi

Yapılan analizde 66 KRK'li hastanın IL-6 plazma seviyeleri ve genotip dağılımları incelenmiş, genotipler arasında IL-6 seviyeleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı

bir farklılık belirlenememiştir ($p=0.622$). Aynı şekilde 49 KRK'li hastanın IL-18 seviyeleri ve genotip dağılımları incelenmiş, genotipler arasında IL-18 seviyeleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenememiştir ($p= 0.370$).

Çizelge 4.5 IL-6 Plazma Seviyeleri ve Genotip Dağılımları

Genotipler	GG	GC	CC	p
IL-6 Medyan[min.-max.] ort±std. sapma	7,00[7,00-204,00] 15,00±30,63 p/gm	7,00[7,00-535,00] 23,52±78,63 p/gm	7,00[7,00-564,00] 37,32±116,38 p/gm	0,622

Çizelge 4.6 IL-18 Plazma Seviyeleri ve Genotip Dağılımları

Genotipler	CC	CA	AA	p
IL-18 Medyan[min.-max.] ort±std. sapma	458,00[40,00-1432,00] 553,94±366,09 p/gm	362,00[148,00-3099,00] 567,41±604,93 p/gm	381,00[99,00-1175,00] 454,29±261,43 p/gm	0,370

5. TARTIŞMA

Kolorektal kanser, tüm dünyada yaygın görülen malignitelerden biri olup toplam kanser vakalarının % 9,4'ünü oluşturur (83). Vakaların % 2-6'sı otozomal dominant veya resesif kalıtılırken büyük çoğunluğunun genetik temeli tam olarak bilinmemektedir (83). Erken tanı ve tedavi yöntemlerinin gelişmesi ile kolon kanserlerinden ölüm oranları giderek azalmaktadır (84). Bugüne kadar kolorektal kanser için pek çok etkili tedavi modeli geliştirilmiştir. Ancak, tedavi stratejisi kolorektal kanser hastalarının bir kısmında etkili olmuştur. Bu nedenle, hastalığın doğal öyküsünü önceden tahmin edebilen, en elverişli tedavi stratejisini saptamaya izin veren ve hastalığın geleceğini değerlendirebilen prognostik faktörleri ortaya koymak çok önemlidir. Ayrıca benzer histopatolojik özelliklere sahip kolon karsinomlarının farklı klinik davranışlarını anlayabilmek, mortalite ve morbiditeyi azaltmak için yeni prognostik faktörler araştırılmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada, kolorektal karsinomlu hastalarda plazma IL-6 ve IL-18 konsantrasyonları ölçülmüş ve aynı zamanda *IL-6 -174 G/C* ile *IL-18 -607 C/A* polimorfizmleri çalışılmış, bu parametrelerin tanı, tedavi ve takipte bir prognostik faktör olup olmadıkları araştırılmıştır.

Bağışıklık sistemi yetersizliğinin, kolon kanserlerinin bazı alt tiplerinde başlatıcı etkisi olduğu düşünülmektedir. Daha önemli bir yaklaşım ise, kolon kanseri biyolojisinin değerlendirilmesinde, dolaşımdaki sitokin ve sitokin reseptörleri düzeyinin kanser hastalarında tanı ve prognostik amaçla biyomarker olarak kullanılabilenidir (10). Sitokinler, doğal ve kazanılmış immünitede rol alan, immün fonksiyonları sağlayan proteinlerdir. Bu moleküller; lenfositlerin büyüme ve farklılaşmasında, antijenlerin eliminasyonunda, hematopoietik hücrelerin farklılaşmasında rol alırlar. Sitokinler diğer sitokinlerin sentez ve etkilerini değiştirebilecek özelliktedirler. Etkileri, lokal veya sistemik olabilir ve hedef hücrelerdeki spesifik membran reseptörlerine bağlanmaları ile başlar. Hücrelerin sitokinlere yanıtı, gen ekspresyon değişimleri ile meydana gelir. Böylece hedef hücreler yeni fonksiyonlar geliştirebilir veya proliferasyon olabirler (85).

Literatür taraması sonucunda Türk toplumunda şimdiye kadar yapılan polimorfizm çalışmalarında, KRK'li hastalarda *IL-6* ve *IL-18* polimorfizmini ve plazma düzeylerini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada; KRK ile ilişkili olduğu düşünülen *IL-6 G>C* (rs1800795) ve *IL-18 C>A* (rs1946518) polimorfizmleri ve dolaşımdaki düzeyleri incelenmiştir.

IL-6, inflamasyon ve çeşitli fizyolojik süreçleri düzenleyen çok fonksiyonlu bir sitokindir (86). Meme, yumurtalık, prostat, akciğer, serviks kanseri, multiple myelom, renal hücreli karsinom ve kolonjiyo karsinom dahil olmak üzere insan tümörlerinin çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerinde etkili olan pleotropik bir sitokindir (87). Çeşitli klinik raporlar, serum *IL-6* seviyesinin farklı tümör tipleri, evreleri ve prognozu ile ilgili olduğunu göstermiştir. Özellikle, KRK'de cerrahi müdahale öncesinde *IL-6* seviyesinin tümörün evresi, yaşama oranı ve karaciğer metastazı ile ilgili olduğu görülmüştür (87).

IL-6 hücre büyümesini uyarır ve apoptozu inhibe eder (88). TNF ve *IL-6* en iyi karakterize edilen protümörük sitokinlerdir ve bunların epitelyal hücrelerde onkogenik transkripsiyon faktörü olan NF-KB ve AP-1 (TNF)'i aktive ettikleri düşünülürken, daha sonra diğer birçok sitokinin, kanser hücrelerinde NF-KB ve STAT3'ün protümörük aktivasyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Fakat TNF ve *IL-6* birçok kanser türünde protümörük sitokin modeli olarak kalmıştır (89). Son yapılan çalışmalarda yüksek *IL-6* seviyesinin, karaciğer karsinomlarının en yaygın türü olan hepatoselüler karsinom ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. *IL-6* aracılı sinyal kaskatlarının bloke edilmesi çoğu kanser vakalarında tedavi yaklaşımı için önemli bulunmuştur. *IL-6* tarafından indüklenen JAK (Janus Kinaz) ailesi üyeleri üç ana yolağı etkinleştirir. Bunlar; STAT3, MAP kinaz ve PI3K yolaklarıdır. STAT3 sinyali kanser inflamasyonu için önemli bir yolaktır. Liu Y. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaya göre tumörögenезin, *IL-6* sinyali aracılı STAT3 yolağı ile olduğu düşünülmektedir. Bunun için, *IL-6/STAT3* yolağı kanser tedavisinde çok önemlidir (90).

IL-6'nın bu çok yönlü biyolojik işlevleri dikkate alındığında pek çok hastalığın patogenezinde rol alabileceği düşünülmektedir. Bu bilgilerden yola çıkılarak yapılan çalışmada elde edilen verilere göre *IL-6 -174 G/C* polimorfizmine ait genotip oranları

değerlendirildiğinde; GC genotipine sahip bireylerin hasta olma olasılığının, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 0,208 kat daha az olduğu görülmektedir. Bizim çalışma grubumuzda GC genotipi KRK'e yakalanmada koruyucu bir genotip gibi görülmektedir. Ayrıca genotipler ve plazma seviyeleri korele edildiğinde genotipler arasında anlamlı bir fark gözlenememiştir.

Martha (13) ve ark.'larının 1579 kolon kanserli, 1977 sağlıklı bireyde ve 794 rektal kanserli, 1005 sağlıklı bireyde yapmış oldukları çalışmada *IL-6 -174 G/C* polimorfizminin GG genotipinin kolon kanseri riskini azalttığını fakat rektal kanser riskini arttırdığını belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise kolorektal kanser olarak ele aldığımız hasta grubunda GG genotipinin (% 41.7) kontrol grubuna göre (% 25) daha fazla olduğu gösterilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

Kun-Yun (87) ve ark.'larının Tayvan popülasyonunun da 454 KRL'li hastada yaptıkları çalışmada, kolorektal kanserli hastalarda G alleli taşıyan (GG, GC) genotiplerin G alleli taşımayan (CC) genotiplere göre daha düşük seviyede karsinoembriyonik antijen ürettiklerini belirlemişlerdir. Yaptığımız çalışmada ise GC (G allel taşır) genotipine sahip bireylerin KRK' e yakalanma riski 0,208 kat azalmaktadır.

Kolorektal kanserlerle ilgili olarak söz konusu genlerin polimorfizm çalışmaları kısıtlı olduğu için farklı kanser türleri ve aynı genin farklı polimorfizmleri ele alınarak incelendiğinde;

Ganqwar (86) ve ark.'larının serviks kanserinde yaptıkları çalışmada *IL-6 -174* CC genotipinin serviks kanseri riskini arttırdığını ve GC heterozigot bireylerde ise evre I tümör oluşum riskinin arttığını belirlemişlerdir.

Noqueira (92) ve ark.'ları serviks kanserinde GG genotipini GC ve CC ile karşılaştırdıklarında bir C alleli taşıyan kadınlarda jinekolojik kanser gelişme riskinin fazla olduğunu belirlemişlerdir.

Vairaktaris (91) ve ark.'larının oral kanserlerde *IL-6 -174 G/C* polimorfizminin C allel frekansının hasta grubunda sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede fazla

olduğunu ve CC genotipinin oral kanserlere yakalanma riskini 7 kat arttırdığını belirlemişlerdir.

Tan (93) ve ark.'ları prostat kanserinde, *IL-6* geninin -174 G/C polimorfizminin prostat kanser riskini arttırdığını ve bu genotipin T1-T2 tümör aşaması ile T3-T4 tümör aşaması arasında anlamlı olarak farklılık gösterdiğini saptamışlardır (p <0.001). Buna ek olarak *IL-6* genotiplerinin vasküler invazyon (p = 0.024), seminal vazikül tutulumu (p = 0.006) ve kapsüler invazyon ile bağlantılı olduğunu saptamışlar (p <0.001). Ayrıca *IL-6 -174 G/C* polimorfizminin nüks eden prostat kanserlerinde GG homozigot genotipi, artmış serum prostat spesifik antijeni ile ilişkili bulunmuştur (p = 0.027).

Azimzadeh (94) ve ark.'ları İran popülasyonunun da 260 KRK'li hastada ve 405 sağlıklı bireyde yaptıkları çalışmada *IL-6* geninin C/T, T/C ve T/G polimorfizmlerini araştırmışlar ve TG genotipinin kolorektal kanser riskini 1.75 kat arttırdığını belirlemiş ve ayrıca TC genotipinin erkeklerde kolorektal kanser riskini azalttığını saptamışlardır.

Farklı kanser türlerinde yapılan çalışmalarda C aleli taşıyan bireylerin kansere yakalanma riskinin arttığı görülmüştür yalnız Tan ve ark.'larının prostat kanserinde yaptıkları çalışmada serum düzeyi artması ile GG genotipinin ilişkili olduğu görülmüştür. Yapılan bu çalışmalardan yola çıkarak C alleli taşımanın KRK riskini azalttığı, ancak bazı kanser türlerinde (prostat kanseri gibi) riski arttırdığı belirlenmiştir. Bunun nedeni çalışılan kanser türlerinin gastrointestinal kanser tipi olmamasından kaynaklanıyor olabilmektedir.

Bu çalışmada plazma örneklerinde *IL-6* düzeyi değerlendirildiğinde; hasta grubunda 33,24±97,53 p/gm, kontrol grubunda ise 12,03±37,63 p/gm olduğu gözlenmiş ve *IL-6* değerleri hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Plazma seviyeleri, genotipler ile ilişkilendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır.

Sergei (89) ve ark.'larının kolorektal adenomlarda hasta serumlarında *IL-6* ekspresyonunun artmış seviyesinin kolorektal adenom gelişme riskinin arttırdığı ve buna bağlı olarak kanserli bireylerdeki artmış serum seviyesini kötü prognozla

ilişkilendirmişlerdir. KRK'li hastaların plazma örnekleriyle yaptığımız çalışma Sergei ve ark'nın yaptığı çalışmaya uygun olarak benzer bulgular elde edilmiştir.

Kemik (55) ve ark.'larının 89 karaciğer metastazlı kolon kanseri hastasında ve 90 metastazı olmayan kolon kanseri hastasında yaptıkları çalışmaya göre metastazı olanlarda IL-6 düzeylerini daha yüksek bulmuşlar ve bunun nedeninin nötrofil aktivasyonundan kaynaklandığını tesbit etmişlerdir.

Kolorektal kanserlerde yapılan serum düzeyi çalışmaları bizim çalışmamızda olduğu gibi yüksek bulunmuştur. IL-6'nın artmış serum düzeyi KRK riskini arttırmaktadır.

Faklı kanser türlerinde yapılan çalışmaları incelediğimizde;

Yan Liu (90) ve ark.'ları IL-6 düzeylerini karaciğer kanseri hastalarda sağlıklı yetişkinlere göre 25 kat daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

Grimm (95) ve ark.'ları servikal intraepitelyal neoplazi hastalarıyla yaptıkları çalışmalarında IL-1 ve IL-6'nın yüksek seviyelerini kötü prognozla ilişkilendirmişlerdir ayrıca *IL-6* -174 C allelinin servikal kanser riskini arttırdığını saptamışlardır.

IL-6'nın serum düzeyi karaciğer ve servikal kanserler dahil olmak üzere birçok kanser türünde artış göstermektedir.

İnterferon-A indükleyici faktör olarak bilinen IL-18, Th1 inflamatuvar yanıtta anahtar role sahip, *IL-1* süperailisi üyesi pleotropik bir proinflamatuvar sitokindir. IL-18 özellikle aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretilir, ancak aynı zamanda Kupffer hücreleri, T hücreleri, B hücreleri, keratinositler, astrositler ve osteoblastlar tarafından da ifade edilir. Ayrıca NK hücre aktivitesinin artırılması, tümörögenезin azaltılması ve tümör hücrelerinde anjiogenезin inhibüsyonu gibi anti-tümör etki gösterir. Buna ek olarak IL-18'in uygunsuz üretiminin kanser patogenezinde katkıda bulunabileceği ve tedavi sürecinde klinik sonuçları etkileyebileceği öne sürülmüştür (96).

IL-18, IL-12 varlığında IFN-gama üretimini artırır, Th1 farklılaşmasını sağlar, NK ve CD8 hücrelerinin sitotoksik etkisini artırır. Kanser hücrelerinin apoptozisini indükler. Ayrıca IL-18'in bağışıklık sisteminin, kanser hücrelerinin tanınmasına engel

olma gibi bir özelliği de vardır. Mikrovasküler duvarlara kanser hücrelerinin yapışmasını ve anjiogenik büyüme faktörlerinin üretimini artırır (97).

Özofagal, gastrik, ovaryum, kolon, deri, hepatoselüler ve miyeloid lösemi hücrelerinde ve baş ve boyun kanserlerinde; IL-18 seviyesinin arttığı rapor edilmiştir (10). Yapısal olarak IL-1 ile homolog bir sitokindir. IL-1 ile benzer Toll benzeri reseptörleri olmasına rağmen, IL-1'den oldukça farklı fonksiyonları vardır. IL-18 Kupffer hücreleri ve aktive makrofajlardan, lipopolisakkarit ve diğer mikrobiyal ürünlere yanıt olarak sentezlenir. NK (naturel killer) ve T hücrelerinden IFN-gama (interferon gama) üretimini stimule eder ve *IL-12* ile bu nedenle sinerjistik etki gösterir. Anti CD40 ve *IL-4* ile uyarılmış B hücrelerinden IFN-gama üretimini stimule eder ve otokrin bir şekilde IgE yapımını inhibe eder. NK ve T hücrelerinin maturasyonunu, sitokin üretimini ve sitotoksitesini artırır (27). *IL-18* 'in promotör bölgesinde bulunan C/A polimorfizmi kanser ve inflamatuvar hastalıklarda marker olarak kullanılan önemli polimorfizmlerden biridir (38). Promotör bölgedeki bu polimorfizmin, promotörün çalışmasını değiştirdiği ve transkripsiyonu arttırdığı belirlenmiştir (16).

IL-18'in bu çok yönlü biyolojik işlevleri dikkate alındığında pek çok hastalığın patogenezinde rol alabileceği görülmektedir. Bu noktadan yola çıkarak yapılan bu çalışmada *IL-18* geninin -607 C/A polimorfizminde CA genotipine sahip olan bireylerin KRK' e yakalanma olasılığının kontrol grubuna göre 12,14 kat daha fazla olduğu bulunmuştur.

Nikiteas (83) ve ark.'larının Yunanistan popülasyonunda 84 KRK'li, 89 sağlıklı bireyle yapmış oldukları çalışmada kolorektal kanserli hastalarda *IL-18* -607 C/A polimorfizmini araştırmışlar ve AA, AC ve CC genotip frekanslarını hastalarda sırasıyla % 1.4, % 56 ve % 22.6 olarak, kontrol grubunda ise sırasıyla % 24.7, % 36 ve % 39.3 olarak bulmuşlardır ve CA heterozigot genotipinin CC homozigot genotipinden 3 kat daha fazla KRK gelişiminde etkili olduğunu belirlemişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada ise; genotip frekansları hastalarda sırasıyla % 30.2, % 41.7 ve % 28.1 olarak kontrol grubunda ise sırasıyla % 52.1, % 5.2 ve % 42.7 olarak bulunmuştur. Allel sıklıkları etnik ve coğrafik olarak değişiklik gösterebilmektedir. Nikiteas ve ark. ile

uyumlu olarak, CA heterozigot genotipinin KRK riskini 12,4 kat arttırdığı belirlenmiştir.

Guo JY (99) ve ark.'larının Çin popülasyonunun da 170 KRK'li 160 sağlıklı bireyde yapmış oldukları çalışmada KRK ile -607 C/A polimorfizmi arasında bir ilişki bulamamışlar ancak -137 G/C polimorfizmi ile yaptıkları çalışmada ise istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde etmişlerdir. C allel taşıyanlarda hastalık riskini G allel taşıyanlara göre 1.814 kat daha fazla bulmuşlardır.

Yaptığımız çalışma Nikiteas ve ark.'larının yaptıkları çalışma ile uyum göstermekte ancak Guo JY ve ark.'larının yaptıkları çalışma ile uyum göstermemektedir. Bunun nedeni Türk popülasyonunun, Yunan popülasyonuna çevresel ve genetik olarak Çin popülasyonundan daha çok benzerlik göstermesi olabilir.

Kolorektal kanserlerde bu konuda yapılan çalışmalar kısıtlı olduğu için farklı kanser türleri ele alınarak incelendiğinde;

Farjadfar (97) ve ark.'ları akciğer kanserli hastalarda -607 C/A polimorfizminde A allel frekansını (% 48.6) C allele (% 35) göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. Hastalarda CC, CA ve AA genotip oranları sırasıyla % 20.5, % 61.7 ve % 17.8 olarak kontrol grubunda ise % 41.2, % 47.5 ve % 11.3 olarak bulmuşlardır.

Dehaghani (78) ve ark.'larının ovaryum kanserli kadınlarda yaptıkları çalışmada hastalarda C allel frekansını % 55.9 A allel frekansını % 44.1 olarak sağlıklı bireylerde ise sırasıyla % 59.8 ve % 40.2 olarak bulmuşlardır. Genotip frekanslarını hastalarda AA, AC ve CC sırasıyla % 14.1, % 60 ve % 25.9 olarak kontrol grubunda ise sırasıyla % 16.5, % 47.5 ve % 36 olarak bulmuşlar ve hastalar ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamamışlardır fakat 64 hastada IL-18 serum düzeyleri ölçümlerinde 438.5 ± 373.4 pg/ml ve 85 sağlıklı bireyde 305.5 ± 243.1 pg/ml sonucunu bulmuşlardır serum düzeyinin hastalarda kontrol grubuna göre yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Saenz-Lopez (16) ve ark.'ları renal hücre karsinomlu hastalarda yaptıkları çalışmada AA, AC ve CC genotip frekanslarını hastalarda sırasıyla % 38.3, % 49.4 ve % 12.3 olarak kontrol grubunda ise sırasıyla % 33.2, % 52.2 ve % 14.6 olarak

bulmuşlardır. Allel frekanslarını ise C alleli için hastalarda % 62,6 kontrol grubunda %59,3 A alleli için hastalarda % 37,4 kontrol grubunda ise % 40,7 olarak belirlemişler ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamamışlardır. Ayrıca CC genotipinin uzak organlara metastazı arttırdığını belirlemişlerdir.

Qi T (101) ve ark.'ları Çin popülasyonunda da 50 servikal kanserli hasta ve 50 sağlıklı bireyde *IL-18 G/C* polimorfizmi ile serum düzeylerini araştırmışlar ve CC genotipine ne sahip bireylerin servikal kansere yakalanma riskinin arttığını belirlemişlerdir. Serum konsantrasyonunu CC genotipine sahip hastalarda anlamlı derecede düşük bulmuşlardır ($p=0,018$).

Farklı kanser türlerini incelediğimizde ise; *IL-18* gen polimorfizmlerinin farklı sonuçlar gösterdiği gözlenmiştir, bu farklılığın *IL-18* geninin hem proapoptotik hem antiapoptotik özeliğinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca çalışmaların farklı etnik gruplarda yapılması ve örneklem genişliğinin farklılık göstermesi sonuçları etkilemektedir.

Plazma örneklerinde *IL-18* düzeyi değerlendirildiğinde; hasta grubunda $561,37 \text{ p/gm} \pm 484,24 \text{ p/gm}$ kontrol grubunda ise $476,98 \text{ p/gm} \pm 299,05 \text{ p/gm}$ olarak bulunmuştur. *IL-18* değerleri hasta grubunda kontrol grubuna göre fazla bulunmuş ancak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. *IL-18* düzeyleri, genotiplerle ilişkilendirildiğinde genotipler arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Merendino RA (98). ve ark.'larının İtalyan popülasyonunda KRK'li 18 hastada ve sağlıklı 18 birey ile yaptıkları çalışmada serum *IL-18* düzeylerini ölçmüş ve bizim çalışmamıza göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Bu farklılığın sebebinin çalışılan popülasyonların farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Zakaria (100) ve ark.'ları 75 hepatoselüler karsinomlu hastada ve 10 sağlıklı bireyde *IL-18* serum seviyesini ölçmüşler ve hasta bireylerde sağlıklı kontrollere göre oldukça yüksek olduğunu saptamışlardır HCC hastalarında *IL-18* seviyesini ileri tümör evresiyle ve prognozla ilişkili bulmuşlardır.

Tangkijvanich (96) ve ark.'ları hepatoselüler karsinomlu 70 hastada ve 10 sağlıklı bireyde serum *IL-18* düzeylerini sırasıyla $104,6 \pm 65,8$, $38,5 \pm 22,4$ (pg/mL)

değerlerinde ölçmüşler ve hasta bireylerin serum düzeylerinin sağlıklı bireylere göre yüksek olduğunu tesbit etmişlerdir.

Bazı kanser türleri ile IL-6 ve IL-18'in plazma düzeyleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar bulunmaktadır ve çoğu çalışmada bu sitokinlerin plazma seviyeleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. *IL-6* ve *IL-18*'in bu özellikleri göz önüne alındığında teşhis ve tedavide kullanılabilecekleri düşünülmektedir. Ancak; KRK ile ilişkilerini inceleyen literatür bilgisi sınırlıdır.

KRK'ler genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı multifaktöriyel kanserler olması nedeniyle bu faktörlerin hasta ve kontrol grubunda ne derece etkili olduğu bilinmemektedir. Bunun yanı sıra sadece *IL-6* ve *IL-18* polimorfizmleri değil KRK etiyojisinde rol alan diğer genlerle birlikte daha geniş kapsamlı çalışmalar yapılırsa daha anlamlı sonuçlar elde edilebilir polimorfizm çalışmaları kanser tedavisini yönlendirebilmesi açısından da önem taşımaktadır.

Çalışmamızda değerlendirmeye aldığımız örneklem genişliğinin büyük olmamasından dolayı allel frekansı ve genotip dağılımları ile hastalık durumu arasındaki ilişki popülasyonu yansıtmayabilir. Bu nedenle anlamlı bulduğumuz ilişkilerin doğrulanması açısından bu araştırmadan bağımsız daha geniş bir örneklem grubunda bulguların tekrarlanması faydalı olacaktır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kolorektal kanserler (KRK) dünya çapında en sık görülen üçüncü kanser türü olup, batı ülkelerinde kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır ve sıklığı giderek artmaktadır. KRK'lerin nedeni bilinmesine rağmen başta diyet olmak üzere yaşam tarzı ve fiziksel aktivitenin % 30-50 oranında KRK insidansını arttırdığı düşünülmektedir. KRK'ler ABD' de kanserden ölüm oranında ikinci sırada yer alır. 2009 yılında 147,000 yeni tanı konmuş ve hastalıkla ilişkili 50,000 ölüm olduğu rapor edilmiştir. Tüm gastrointestinal kanser ölümlerinin yarısından fazlasını temsil eder. Kanserinin cerrahi tedavisindeki gelişmelere rağmen KRK ölümcül bir hastalık olmaya devam etmektedir. KRK görülme oranı erkeklerde % 4, kadınlarda ise % 3,7 olarak belirlenmiştir. Aile öyküsü, olumsuz sosyo-ekonomik koşullar, sigara-alkol tüketimi, obezite, fiziksel hareketsizlik, pişirme teknikleri KRK ile ilişkili bulunmuştur.

Gelişmiş tarama yöntemleri erken tanıya katkı sağlamakla beraber etkili tedavi yöntemlerinin uygulanması hayatta kalmada açısından önem taşımaktadır. Tümörün barsakta görülme zamanı erken teşhiste oldukça önemlidir erken teşhis edilen tümörler genellikle tedavi edilebilir ve cerrahi müdahale en iyi tedavi yöntemi olarak bilinir. KRK kanserler tedavi edilebilir olmalarına rağmen hastaların yaklaşık % 50' si metastaz nedeniyle ölmektedir.

Yapılan bu çalışmada, KRK'yi etkilemesi muhtemel genetik faktörlerden biri olan *IL-6* ve *IL-18* polimorfizmleri ile plazma düzeylerinin KRK arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda *IL-6* G/C polimorfizmine ait genotip oranları karşılaştırıldığında; KRK hastaları ile kontrol grubu arasında genotip dağılımları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır. GC genotipine sahip bireylerin hasta olma olasılığı kontrol grubuna göre 0,208 kat daha azdır. Aynı şekilde *IL-18* C>A polimorfizmine ait genotip oranları karşılaştırıldığında; kontrol grubu ile KRK hastaları arasında *IL-18'in* genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır. CA genotipine sahip bireylerin Hasta olma olasılığı kontrol grubuna göre 12,14 kat daha fazladır.

Yapılan biyokimyasal analiz sonuçlarında ise; IL-6 değerleri bakımından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. Hasta bireylerde IL-6 değerleri anlamlı şekilde daha yüksektir. IL-18 değerleri bakımından hasta ve kontrol grubu değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır. Çalışılan örnek sayısı arttırılırsa daha anlamlı sonuçlar elde edilebilir. Ayrıca yaptığımız bu çalışmanın farklı populasyonlarda tekrarlanması yararlı olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. **Yamaguchi S, Ogata H, Katsumata D, Nakajima M, Fujii T, Tsutsumi S, Asao T, Sasaki K, Kuwano H, Kato H.** MUTYH-associated colorectal cancer and adenomatous polyposis. *Surg Today*, 2013; 13: 592-7.
2. **Feras J. Khalek A, Gallicano GI, Mishra L.** Colon Cancer Stem Cells. *Gastrointest Cancer Res*, 2010; 1: 16–23.
3. **Hagland HR, Berg M, Jolma IW, Carlsen A, Søreide K.** Molecular Pathways and Cellular Metabolism in Colorectal Cancer. *Dig Surg* **2013**; 30: 12-25.
4. **Mamur Arslan B.** Kolorektal Kanserde Adiponektin (ADIPOQ) ve Adiponektin Reseptör 1 (ADIPOR1) Genlerinin Polimorfizmlerinin Araştırılması. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi. Yüksek lisans tezi, Mersin; 2011.
5. **Safari A, Shariff ZM, Mirnalini Kandiah, Rashidkhani B ve Fereidooni F.** Dietary patterns and risk of colorectal cancer in Tehran Province: a case–control study. *Safari et al. BMC Public Health*, 2013; 13: 222.
6. **Prenen H, Vecchione L, Cutsem E V.** Role of targeted agents in metastatic colorectal cancer. *Targ Oncol*, 2013; 13: 281.
7. **Saygılı G.** Kolorektal Karsinomlarda Siklooksijenaz–2 (Cox-2) Enziminin Boyanma Paterni Ve Yaygınlığının Prognostik Parametrelerle Karşılaştırılması. Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Uzmanlık tezi. İstanbul, **2007**.

- 8. Cooper HS.** Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology. : Mills S.E, Carter D, Oberman H.A, Reuter V, Stoler M. Intestinal Neoplasm. *Lippincott Williams & Wilkins*; Philadelphia, **2004**. 1543- 1595.
- 9. Boardman L, Karnes WE.** Surgery of the Colon and Rectum. New York: *Churchill Livingstone*, **1997**; 335-363.
- 10. Heike K, Rainer P.** Serum interleukin-6 level in colorectal cancer patients- a summary of published results, *Int. Journal Colorectal Dis.* **2010**; 25:135-140.
- 11. Cruse JM, Lewis RE.** *Atlas of Immunology*. CRC Press LLC and Springer Company (copublishers). Boca Raton, FL, USA and Heidelberg, Germany **1999**: 192-193.
- 12.** GenBank AF048692: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>
- 13. Martha L, Slattery Roger K, Wolff Jennifer S, Herrick Bette J, Caan John D, Potter.** IL6 genotypes and colon and rectal cancer. *Cancer Causes Control*, **2007**; 18: 1095–1105.
- 14. Sugawara I, Yamada H, Kaneko H.** Role of interleukin-18 in mycobacterial infection in IL-18-gene-disrupted mice. *Infect Immunol* **1999**; 67 (5): 2585-2589.
- 15. Haghshenas MR, Hosseini SV, Mahmoudi M, Firozi MS, Farjadian S, Ghaderi A.** IL-18 serum level and IL-18 promoter gene polymorphism in Iranian patients with gastrointestinal cancers. *Shiraz Institute for Cancer Research*, **2009**; 10: 1440-1746.

16. Lopez P S, Vazquez R C F, Martin J, Sanchez E, Tallada M, Garrido F, Cozar J, Cabello F R. Impact of interleukin-18 polymorphisms-607 and -137 on clinical characteristics of renal cell carcinoma patients. *Human Immunology*, **2010**; 71: 309–313.

17. Yıldırım F. Kolorektal kanserde mast hücre dansitesi ile mikrodamar yoğunluğu, vegf, egfr, p53 ki-67, cea ekspresyonunun prognostik önemi. Uzmanlık tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aydın, **2008**.

18. Romolo JL. Embriyoloji and anatomi of the colon. Shackelford s Surgery of the *Alimentary Tract*. **1996**; 4: 3 16.

19. Bugra D. Kolonun Anatomisi Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları. Türk Kolon ve Rektum Cerrahisi Derneği, **2003**; 1–17.

20. Mentis B. Kolonun Anatomisi Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları. Türk Kolon ve Rektum Cerrahisi Derneği, **2003**; 17-31.

21. Krijger I, Mekenkamp LJ, Punt LJ, Nagtegaal ID. MicroRNAs in colorectal cancer metastasis. *J Pathol*, **2011**; 224(4): 438-47.

22. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global Cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, **2002**; 49: 33.

- 23. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR.** Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med*, **1988**; 319(9): 525–32.
- 24. Harrison S, Benziger H.** The molecular biology of colorectal carcinoma and its amplications. *Surgeon*, **2011**; 9(4): 200-10.
- 25. Karaoğuz H, İçli F.** Cancer problem in Türkiye. *Ankara Med. Sch*, **1993**; 15: 547 558.
- 26. Fenoglio-Preiser C M, Noffsinger A E, Stemmermann G N, Lantz P E, Listrom M B, Rilke F O.** Carcinomas and other epithelial and neuroendocrine tumors of the large intestine. *Gastrointestinal pathology an atlas and text*. **1999**; 909-1068.
- 27. Anne B B, Clive A.** Colorectal cancer. *Clinical review*. **2007**; 335: 715-8.
- 28. Steven K, Libutti L B, Saltz, Anil K, Rustgi, Joel E.** Tepper Cancers of the Gastrointestinal Tract: Section 8: Cancer of the Colon. *Principles and Practice of Oncology*. **2005**; 1061-1109.
- 29. Joshua D. I. Ellenhorn, MD, Carey A. Cullinane, MD, Lawrence R. Coia, MD, Steven R. Alberts, MD.** Colon, Rectal, and Anal Cancers. In *Cancer Management: A Multidisciplinary Approach*. **2007-2008**; 339-371.
- 30. Hemminki K, Eng C.** Clinical genetic counselling for familial cancers requires reliable data on familial cancer risks and general action plans. *J Med Genet*. **2004**; 41: 801-807.
- 31. Ahsan H, Neugut AI, Garbowski Gc.** Family history of colorectal adenomatous polyps and increased risk for colorectal cancer. *Ann Intern Med*. **1998**; 128: 900-905.

32. Strate L, Syngal S. Hereditary colon cancer syndromes. *Cancer Cause and Control*. **2005**; 16: 201-213

33. Büyükdoğan M. Kolorektal kanserde genetik ve etyolojik faktörler. *Selçuk Tıp Dergisi*, **2009**; 25: 171–180.

34. Hamilton SR, Vogelstein B, Kudo S, Riboli E, Nakamura S, Hainaut P, Rubio CA, Sobin LH, Fogt F, Winawer SJ, Goldgar DE, Jass JR. World health organisation classification of tumors. Pathology and genetics of tumors of the digestive system, Tumors of colon and rectum. *IARC Pres* **2000**: 103-143.

35. Barum ML. Colorectal cancer screening. Primary Care, Clinics In Office Practice. **2001**; 28: 661-674.

36. Kalaycı G. Kolon Kanserleri, Genel Cerrahi Nobel Tıp Kitabevi İstanbul; **2002**; 2: 1343- 59.

37. Cacina C, Kolorektal kanserli hastalarda siklin bağımlı kinaz inhibitör ailesinden cdkn1a ve cdkn1b gen polimorfizmlerinin incelenmesi. Yüksek lisan tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul; **2008**.

38. Samur M, Akbulut H. Kolorektal Karsinogenes ve Herediter Durumlar. Hematoloji-Onkoloji, **2003**; 5 (3): 115 121.

- 39. Jalving M, Koornstra J, De Jong S, De Vries E, Kleibeuker J.H.** The potential of combinational regimen with non-steroidal anti-inflammatory drugs in the chemoprevention of colorectal cancer. *Aliment Pharmacol Ther*, **2005**; 21(4): 321–39.
- 40. Chan T.A.** Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, apoptosis, and colon-cancer chemoprevention. *Lancet Oncol*, **2002**; 3: 166–74.
- 41. Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J, Van den Brandt PA, Colditz GA, Folsom A R, Freudenheim JL, Giovannucci E, Goldbohm R A, Graham S, Holmberg L, Kim D H, Malila N, Miller A B, Pietinen P, Rohan T E, Sellers T A, Speizer F E, Willett W C, Wolk A, Hunter D J.** Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of 8 cohort studies. *Ann Intern Med*, **2004**; 140(8): 603–13.
- 42. Ye, Y.N, Wu W K, Shin V Y, Cho C.H.** A mechanistic study of colon cancer growth promoted by cigarette smoke extract. *Eur J Pharmacol*. **2005**; 519(1–2):52–7.
- 43. Ekblom A, Helmick C, Tach M.** Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population- based study. *N Engl J Med* **1990**; 323: 1228.
- 44. Willenbacher RF, Zelman SJ, Ferrel LD.** Chromosomal alteration in ulcerative colitis-related neoplastic progression. *Gastroenterology* **2001**; 120: 820.
- 45. Bretnall TA, Haggitt RC, Robinovitch PS.** Risk and natural history of colonic neoplasia in patients with primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis. *Gastroenterology*, **1996**; 110: 331.

46.Akpınar G. Kolon Kanserde Apolipoprotein E (Apo E) Gen Polimorfizminin Arastırılması. Doktora tezi. Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli; **2006**.

47. Dizdaroğlu F. Topuz E Sindirim sistemi tümörleri. 1.Baskı, İstanbul:İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları; **1998**;373- 458.

48. Narayan S, Deodutta R. Role of APC and DNA mismatch repair genes in the development of colorectal cancers. *Molecular Cancer*, **2003**; 2:41.

49. Aydın G. Deneysel omurilik yaralanmasında interlekin-10'un interlekin 1-beta ve interlekin-6 uzerine etkilerinin incelenmesi. Uzmanlık tezi, Suleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, **2007**.

50. Kuby, J. Immunology, **1992** W.H. Freeman and Company, 245.(İl 1)

51. Clemens, M.J. Cytokines, Oxford, *Bios Scientific Publishers Ltd*, **1991**; 57 -75.

52.Bidwell J, Keen L, Gallagher G. Cytokine gene polymorphism in human disease. *Genes and Immunity*, **1999**; 1: 3-19.

53.Beutler B, Cerami A. The Biology of cachectin/ TNF - α primary mediator of the host response. *Annu Rev Immunol*, **1998**; 7: 625 -655.

54. Abraham RT. Lymphokines and cytokines. Mayo medical school. *Immunology course notes*, **1992**.

55. Kemik Ö, Kemik A.S, Dülger A.C, Hasırcı İ, Daştan E, Bartun M.K, Purisa S, Tüzün S. Karaciğer Metastazlı Kolon Kanserli Hastalarda İnterlökin-6 Düzeyleri. *Van Tıp Dergisi*; 17 (2): 42-45, 2010.

56. Neurath MF, Finotto S. IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation and inflammation-associated cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2011**; 22(2): 83-9.

57. GenBank AF048692: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>

58. Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, Woo P. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and on association with systemic onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest*, **1998**; 102(7): 1369-1376.

59. Papassotiropoulos A, Bagli M, Jessen F, Bayer TA, Maier W, Rao ML, Heun R. A genetic variation of the inflammatory cytokine IL-6 delays the initial onset and reduce the risk for sporadic Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, **1999**; 45: 666-668.

60. Grau AJ, Aulmann M, Lichy C, Meiser H, Buggle F, Brandt T, Grond-Ginsbach C. Increased cytokine release by leucocytes in survivors of stroke at young age. *Eur J Clin Invest*, **2001**; 31(11): 999-1006.

61. Humphries SE, Luong LA, Ogg MS, Hawe E, Miller GJ. The interleukin-6 -174G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *Eur Heart J*, **2001**; 22(24): 2219-2220.

62. Georges JL, Loukaci V, Poirier O, Evans A, Luc G, Arveiler D, Ruidavets JB, Cambien F, Tiret L. Interleukin-6 gene polymorphisms and susceptibility to myocardial infarction. *J Mol Med*, **2001**; 79(5-6): 300-305.

63. <http://www.genecards.org>. Erişim Tarihi: **29.03.2013**

64. Woodrofe MN, Cuzner ML. Cytokine mRNA expression in inflammatory MS lesions, detection by non-radioactive in situ hybridization. *Cytokine*, **1993**; 5(6): 583-588.

65. Licinio L, Kling M, Hauser P. Cytokines and brain function: relevance of interferon - α induced mood and cognitive changes. *Semin Oncol*, **1998**; 25: 30 -38.

66. Tweardy D, Mott P, Glazer E. Monokine modulation of human astroglial cell production of granulocyte colony -stimulating factor and granulocyte –macrophage colony stimulating factor, I: e ffects of IL-1 α and IL-1s. *J Immunol*, **1990**; 144:2233 – 2241

67. Weiss JM, Sundar SK, Becker KJ, Cierpial MA. Behavioral and neural influences on cellular immune responses: effects of stress and interleukin -1. *J Clin Psychiatry*, **1989**; 50: 43-53.

68. Sugawara S, Uehara A, Nochi T, Yamaguchi T, Ueda H, Sugiyama A, Hanzawa K, Kumagai K, Okamura H, Takada H. Neutrophil proteinase 3-mediated induction of bioactive IL-18 secretion by human oral epithelial cells. *J Immunol*. **2001**; 167(11): 6568-6575.

- 69. Dehaghani Alamtaj S, Shahriary K, Kashef Mohammad A, Naeimi S, Fattahi M J, Mojtahedi Z, Ghaderi A.** Interleukin-18 gene promoter and serum level in women with ovarian cancer. *Mol Biol Rep.* **2009**; 36(8): 2393-7
- 70. Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, Okamura H.** Interleukin-18 regulates both Th1 and Th2 responses. *Annu Rev Immunol,* **2001**;19: 423-474.
- 71. Kanno T, Nagata T, Yamamoto S, Okamura H, Nishizaki T.** Interleukin-18 stimulates synaptically released glutamate and enhances postsynaptic AMPA receptor responses in the CA1 region of mouse hippocampal slices, *Brain Res.* **2004**; 1012: 190–193.
- 72. Taheri M, Hashemi-Shahri SM, Hamzehnejadi M, Naderi M, Moazeni-Roodi A, Bahari G, Hashemi M.** Lack of association between interleukin-18 -607 C/A gene polymorphism and pulmonary tuberculosis in Zahedan, Southeast Iran. *Prague Med Rep.* **2012**; 113(1): 16-22.
- 73. Suk K, Yeou Kim S, Kim H.** Regulation of IL-18 production by IFN and PGE2 in mouse microglial cells: involvement of NF- κ B pathway in the regulatory processes, *Immunol. Lett.* **2001**; 77: 79–85.
- 74. Leung BP, Culshaw S, Gracie JA, Hunter D, Canetti CA, Campbell C, Cunha F, Liew FY, McInnes IB.** A role for IL-18 in neutrophil activation, *J. Immunol,* **2001**; 167: 2879–2886.

75. Wheeler RD, Brough D, Le Feuvre RA, Takeda K, Iwakura Y, Luheshi GN, Rothwell NJ. Interleukin-18 induces expression and release of cytokines from murine glial cells: interactions with interleukin-1. *J. Neurochem*, **2003**; 85: 1412–1420.

76. Wei YS, Lan Y, Liu YG, Tang H, Tang RG, Wang JC. Interleukin-18 gene promoter polymorphisms and the risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Acta Oncol.* **2007**; 46(8): 1090-6.

77. Farhat K, Hassen E, Bouzgarrou N, Gabbouj S, Bouaouina N, Chouchane L. Functional IL-18 promoter gene polymorphisms in Tunisian nasopharyngeal carcinoma patients. *Cytokine.* **2008**; 43(2): 132-7.

78. Keskin F. Behçet hastalığı patogeneğinde interleukin-18 gen polimorfizminin önemi. Uzmanlık tezi. Gülhane askeri tıp akademisi. Ankara, **2007**.

79. Higa S, Hirano T, Mayumi M. Association between interleukin-18 gene polymorphism 105A/C and asthma. *Clin Exp Allergy*, **2003**; 33(8):1097-102.

80. Kruse S, Kuehr J, Moseler M, Kopp MV, Kurz T. Polymorphisms in the IL 18 gene are associated with specific sensitization to common allergens and allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* **2003**;111(1): 117-22.

81. Park CC, Morel JC, Amin MA, Connors MA, Harlow LA, Koch AE. Evidence of IL-18 as a novel angiogenic mediator. *J immunol*, **2001**; 167: 1644-1653.

82. Margaret N, Xiuling X, Franck B. A critical role for interleukin-18 in primary and memory effector responses to listeria monocytogenes that extends beyond its effects on interferon gamma production. *J Exp Med* **2001**; 194: 343-354.

83. Nikiteas N, Yannopoulos A, Chatzitheofylaktou A, Tsigris C. Heterozygosity for Interleukin-18 -607 A/C Polymorphism is Associated with Risk for Colorectal Cancer. *Anticancer Research*, **2007**; 27: 3849-3854.

84. Bayhan Z. Kolorektal kanserli hastalarda serum nitrik oksit, endotelin, vasküler endotelial büyüme faktörü, interlökin 2, interlökin 18 düzeylerinin belirlenmesi, bu düzeylerin tümör evreleriyle ilişkisinin ve vegf gen polimorfizminin araştırılması. Uzmanlık tezi. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ABD, **2008**.

85. Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman. Cellular and Molecular Immunology. *Saunders*, **2003**; 5: 243-275.

86. Gangwar R, Mittal B, Mittal RD. Association of interleukin-6 -174G>C promoter polymorphism with risk of cervical cancer. *Int J Biol Markers*. **2009**; 24(1): 11-58

87. Kun-Yun Y, Ying-Ying L, Ling-Ling H, Jim-Ray C, Rei-Ping Tang. The -174 G/C Polymorphism in Interleukin-6 (IL-6) Promoter Region is Associated with Serum IL-6 and Carcinoembryonic Antigen Levels in Patients with Colorectal Cancers in Taiwan. *J Clin Immunol*, **2010**; 30: 53-59.

88. Kim S, Temitope O, Martin C, Galanko J, Woosley J, Schroeder J, Satia J, Halabi S, Sandler RS. Circulating levels of inflammatory cytokines and risk of colorectal Adenomas. *Cancer Res*. **2008**; 68(1): 323-328.

- 89. Grivennikov S I, Karin Michael.** Inflammatory cytokines in cancer: tumour necrosis factor and interleukin 6 take the stage. *Ann Rheum Dis*, **2011**; 70: 104-108.
- 90. Liu Y, Pui-Kai L, Chenglong L, Jiayuh L.** Inhibition of STAT3 Signaling Blocks the Anti-apoptotic Activity of IL-6 in Human Liver Cancer Cells. *JBC Papers in Press*, **2010**.
- 91. Vairaktaris E, Yiannopoulos A, Vylliotis A, Yapijakis C, Derka S, Vassiliou S, Nkenke E, Serefoglou Z, Ragos V, Tsigris C, Vorriss E, Critselis E, Avgoustidis D, Neukam FW, Patsouris E.** Strong association of interleukin-6 -174 G>C promoter polymorphism with increased risk of oral cancer. *Int J Biol Markers*, **2006**; 21(4): 246-50.
- 92. Noqueira de Souza NC, Brenna SM, Campos F, Syrjänen KJ, Baracat EC, Silva ID.** Interleukin-6 polymorphisms and the risk of cervical cancer, **2006**; 16(3): 1278-82.
- 93. Tan D, Wu X, Hou M, Lee SO, Lou W, Wang J, Janarthan B, Nallapareddy S, Trump DL, Gao AC.** Interleukin-6 polymorphism is associated with more aggressive prostate cancer. *J Urol*, **2005**; 174(2): 753-6.
- 94. Azimzadeh P, Romani S, Mohebbi S R, Kazemian S, Vahedi M, Almasi S, Fatemi Seyed R, Zali Mohammad R.** Interleukin-16 (IL-16) Gene Polymorphisms in Iranian Patients with Colorectal Cancer. *J Gastrointestin Liver Dis*. **2011**; 20(4): 371-6.

- 95. Grimm C, Watrowski R, Baumühlner K, Natter C, Tong D, Wolf A, Zeillinger R, Leodolter S, Reinthaller A, Hefler L.** Genetic variations of interleukin-1 and -6 genes and risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol oncol.* **2011**; 121(3): 537-41.
- 96. Tangkijvanich P, Thong-ngam D, Mahachai V, Theamboonlers A, Poovorawan Y.** Role of serum interleukin-18 as a prognostic factor in patients with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* **2007**; 13(32): 4345-9.
- 97. Farjadfar A, Mojtahedi Z, Ghayumi M A, Erfani N, Haghshenas M R, Ghaderi A.** Interleukin-18 promoter polymorphism is associated with lung cancer: A case-control study. *Acta Oncologica,* **2009**; 48: 971- 976
- 98. Merendino RA, Ruello A, Cascinu S, Ferlazzo B, Bene A, Bonanno D, Quattrocchi P, Caristi N, Gangemi S.** Influence of 5-fluorouracil and folinic acid on interleukin-18 production in colorectal cancer patients. *Int J Biol Markers.* **2002**;17(1): 63-6.
- 99. Guo JY, Qin AQ, Li RK, Yang CM, Huang FD, Huang ZY, Guo HJ.** Association of the IL-18 gene polymorphism with susceptibility to colorectal cancer. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi.* **2012**; 15(4): 400-3.
- 100. Zakaria Y. Mohran, Fatma A. Ali-Eldin, Hala A. Abdel Aal.** Serum interleukin-18: Does it have a role in the diagnosis of hepatitis C virus related hepatocellular carcinoma? *Arab J Gastroenterol.* **2011**; 12(1): 29-33.
- 101. Qi T, Wang Q, Zheng L, Yang HL, Bao J.** Correlation of serum IL-18 level and IL-18 gene promoter polymorphisms to the risk of cervical cancer. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* **2008**;28(5): 754-7.

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Mersin’de doğdum. İlkokulu Mersin’de, ortaokulu Diyarbakır’da tamamladım. Lise eğitimimi Diyarbakır Fatih Lisesinde tamamladım.

2009 yılında Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldum. 2010 yılı şubat ayında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım. 2013 yılı ocak ayında aynı Anabilim Dalına araştırma görevlisi olarak atandım. Halen Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime ve görevime devam etmekteyim.