

T.C.



AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

**İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**T LENFOSİT VE NK HÜCRE POPÜLASYONUNDAKİ VDR (VİTAMİN D RESEPTÖRÜ)
EKSPRESYONU İLE KOLON ADENOMLARINDA DİFFERANSİYASYON ARASINDA
İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Recep Alperen TORUN

Antalya, 2018



T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**T LENFOSİT VE NK HÜCRE POPÜLASYONUNDAKİ VDR (VİTAMİN D
RESEPTÖRÜ) EKSPRESYONU İLE KOLON ADENOMLARINDA
DİFFERANSİYASYON ARASINDA İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Recep Alperen TORUN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İnci SÜLEYMANLAR

“Kaynak gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

Antalya, 2018

TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak eğitimime devam ettiğim süre boyunca destek ve emeklerini bizden sakınmayan başta anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Ender TERZİOĞLU olmak üzere anabilim dalında yer alan bütün hocalarıma, sadece yapılan araştırma hususunda değil, bütün bu süreç boyunca mesleki ve etik anlamda bana yol gösterici olan, tez danışmanım Prof. Dr. İnci SÜLEYMANLAR'a, tez süresi boyunca sürekli destek veren Prof. Dr. Sadi KÖKSOY'a, örneklerin saklanması ve çalışılmasında yardımcı olan Uzm. Biyolog Nilüfer EKİNCİ ve Uzm. Dr. Mehmet SOYLU'ya, istatistiksel analizler konusunda yardımları için Sn. Nevruz İlhanlı'ya ve tüm çalışma boyunca örneklerin toplanması konusunda destek ve yardımlarını esirgemeyen Gastroenteroloji Bilim Dalı Endoskopi Ünitesi hemşire ve personellerine teşekkürü bir borç bilir, şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR DİZİNİ	iii
TABLolar DİZİNİ	v
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Kolon Polipleri	3
2.1.1 Mukozal Polipler	4
2.2 T ve NK Hücre Fonksiyonları	17
2.2.1 CD4 ve CD8	18
2.2.3 NK Hücrelerin Fonksiyonları	22
2.3 D vitamini	25
2.3.1 Vitamin D Reseptörü	26
2.3.2 D vitamininin Tümör Hücreleri Üzerine Olan Etkileri	27
2.3.3 D vitamininin Proinflamatuvar T Lenfosit Cevapları Üzerine Etkisi	27
2.3.4 D vitamininin T _{reg} Lenfosit Üzerindeki Etkileri	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Çalışma Planı	31
3.2. İstatistiksel Analiz	33
4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ	41
7. ÖZET	42
8. ABSTRACT	45
KAYNAKÇA	47

KISALTMALAR DİZİNİ

1,25(OH)₂D₃	1 α , 25-dihidroksivitamin D ₃
ADCC	Antikor Bağımlı Hücre Aracılı Sitotoksite
APC	Adenomatous Polyposis Coli
BTLA	B and T lymphocyte attenuator
CD	Cluster of Differentiation
CIMP	CpG-island Methylator Phenotype
CTLA-4	“Coinhibitory receptor cytotoxic T-lymphocyte antigen”
CXCR	Kemokin Reseptörü
CXCL	Kemokin Reseptörü Ligandı
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
FAP	Ailesel Polipozis Koli
FGF23	Fibroblast Büyüme Faktörü
FOXP3	Factor Forkhead Box P3
GM-CSF	Granülosit-Monosit Koloni Stimüle Edici Faktör
HLA	Human Leukocyte Antigen
HbA1c	Hemoglobin A1c
IL	İnterlökin
IFN	İnterferon
iCOS	İnduklenebilir T Hücre Kostimulanı
MHC	Major Histocompatibility Complex

MSI	Mikrosatellit İnstabilite Yolağı
NK	Natural Killer Hücree
PD-1	Programlı Hücree Ölüme-1
PTH	Parathormon
RXR	Retinoid X Reseptörü
SSA/P	Sesil Serrata Adenom/Polip
TCR	T hücre reseptörü
TGF	Transforme Edici Büyüme Faktörü
Th1	Type 1 T helper
Th2	Type 2 T helper
Th9	Type 9 T helper
Th17	Type 17 T helper
Tfh	Follicular T helper
Treg	Reguluar T lenfosit
TSA/P	Geleneksel Serrata Adenom/Polip
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
VDR	Vitamin D Reseptörü
VDRE	Vitamin D Response Element

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1 Kolon Poliplerinin Sınıflandırılması	3
Tablo 2.2 Polip Eksizyonu Yapılmış Hastalarda Önerilen Kontrol Aralıkları	13
Tablo 3.1 Polip Tipine Göre Oluşturulan Gruplar	31
Tablo 3.2 Displazi Derecesine Göre Oluşturulan Gruplar	31
Tablo 3.3 Çalışmaya Alınan Popülasyonun Değerlendirme Kriterleri	31
Tablo 4.1 Çalışmaya Alınan Popülasyonun Polip Tiplerine Göre Dağılımı	34
Tablo 4.2 Çalışmaya Alınan Popülasyonun Polip Tipine Göre Analizinin Sonuçları	34
Tablo 4.3 Çalışmaya Alınan Popülasyonun Displazi Derecesine Göre Dağılımı	37
Tablo 4.4 Çalışmaya Alınan Popülasyonun Displazi Derecesine Göre Yapılan Analizinin Sonuçları	37

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kalsitriol, $1\alpha, 25$ -dihidroksivitamin D_3 ($1,25(OH)_2D_3$), D vitamininin en aktif formu olup pleiotropik bir hormon olarak çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Kalsiyum ve fosfor metabolizmasındaki rolü nedeni ile primer olarak kemik sağlığı ile ilişkilidir. Buna ek olarak kalsitriol vitamin D reseptörüne (VDR) bağlanarak; kanser hücrelerinde büyüme, farklılaşma ve sağkalımında rol oynayan birçok genin ekspresyonunun kontrolünde rol oynamaktadır.

D vitamini bağırsak epitelinin homeostazında, Wnt sinyal yolağı modülasyonu ve tümör gelişimine neden olan enflamatuvar olayları inhibe ederek göstermektedir. Vitamin D_3 'ün aktif formu olan kalsitriol, vitamin D_3 'ün karaciğerde 25-hidroksilasyonu ardından böbrek, karaciğer ve diğer dokularda CYP27B1 ile 1α -hidroksilasyonu ile oluşturulur.

Neoplastik kolon polipleri kolonun mukus sekrete eden epitel hücrelerinden köken alan benign kitlelerdir. Adenomatöz kolon polipleri sık görülür. Özellikle batı toplumlarında 50 yaş üstü populasyonun %20-40'ında tespit edilebilir. Yaş ve cinsiyet ile ilişkili olup erkeklerde ve 50 yaş üstü populasyonda daha sık görülür. (1) Polip oluşumu; sigara kullanımı, obezite, aşırı kırmızı et tüketimi ve kalsiyum ve fiberden fakirden beslenme ile ilişkilidir. (2-4) Statinlerin ve NSAİ ilaçların koruyucu etkisi de tespit edilmiştir. (3,139)

Adenomatöz polipler histolojik görünümüne göre tübüler, tübülovillöz ve villöz adenom olarak üç kısma ayrılır. %65-80'ini tübüler adenomlar, %0-25 tübülovillöz ve %5-10'unu villöz adenomlar oluşturur. 1 cm'nin altındaki tübüler adenomlarda malign transformasyon riski %5 civarında iken 2 cm'den büyük villöz adenomlarda bu risk %50'lere kadar çıkmaktadır. Tübülovillöz adenomlarda ise karsinoma ilerleme riski %22'dir. (6)

T hücreleri VDR eksprese ederler ve $1,25(OH)_2D$ vitamini tarafından indüklenebilirler. T hücre proliferasyonunu ve IFN- γ , IL-17 üretimini baskımlarken NK hücrelerini ve IL-4 üretimini artırır. Bu etkinin oluşması ise maruziyetten 48-72 saat içinde başlar. IL-17 ve IFN- γ üretimini baskılaması otoimmün hastalıkların aktivitelerini sınırlandırmada etkin olduğunu düşündürmektedir. (7)

D vitamininin kanser hücreleri üzerindeki anti-proliferatif etkisinin gösterilmiş olmasına ek olarak D vitamininin CD8+ T lenfosit aktivitesini de

arttırdığı gösterilmiştir. Baş ve boyunun yassı hücreli karsinomunda kalsitriol kullanan hastalarda intratümoral CD4+ ve CD8+ T lenfositlerde CD69 ekspresyonunu arttırmış rekürrensi geciktirmiştir. (8) "Lewis Lung Carcinoma" modelinde kalsitriol ve düşük doz IFN- γ 'nın eş zamanlı uygulamaları sonrasında sinerjistik olarak GM-CSF üretiminde azalma ve CD8+ T hücrelerinin tümör içine infiltrasyonunu arttırarak sitotoksik T lenfosit aktivitesinde artışı sağladığı gösterilmiştir. (9)

CD4+ T hücrelerinde kalsitriol, naive CD4+ T hücrelerinin Th1 ve Th17 yönünde farklılaşmasını engellemekte ve Th2 yönünde farklılaşmayı arttırmakta, T hücre proliferasyonu ve sitokin üretimini baskılamaktadır. Böylece inflamatuvar süreçlerin baskılanmasında rol oynamaktadır. (10-14)

Bu bilgiler doğrultusunda yapacağımız çalışmada amaç, 4 ayrı grup belirleyerek (Hiperplastik, tübüler, tübülövilöz, villöz) kalsitriol reseptörlerinin kolon epitel hücreleri üzerindeki etkilerinin ve kan dolaşımında bulunan T hücre popülasyonlarının da kolon adenomlarının displastisitesi üzerinde etkisi olup olmadığını belirlemektir.

Bu amaç ile hastanemiz İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Bilim Dalı polikliniğine başvuran ve kolonoskopi işlemi sonrasında polipektomi uygulanan hastalardan elde edilen polipektomi materyallerinde saptanan polip tipleri ve displazi dereceleri ile aynı kişilerin periferik kan örneğinde tespit edilen T hücre popülasyonlarında VDR ekspresyonunu "Akış Sitometrisi" tekniği ile saptayarak aralarında bir ilişki olup olmadığını, VDR'nin ekspresyon düzeyinin kolon poliplerinin tipi ve displazi düzeyleri arasındaki ilişkinin anlamlılığını araştırmayı planlamaktayız

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kolon Polipleri

En basit şekliyle polipler kolon veya rektum mukozasından lümen içine büyüyen lezyonlardır. Genel olarak değerlendirildiğinde şekil, boyut, moleküler yapı, hücresel köken olarak farklılıklar taşıyan heterojen bir gruptur. Boyut olarak çok küçük ve obstruksiyona neden olabilecek kadar büyük olabilirler. Genellikle asemptomatiklerdir ve tarama esnasında saptanırlar. Poliplerin dikkate alınması gereken en önemli özelliği malignite potansiyeli taşımalarıdır. Farklı şekillerde değerlendirme yöntemleri olsa da klinisyeni en çok ilgilendiren histopatolojik sınıflandırılmasıdır. Kolorektal polipler öncelikli olarak mukozal ve submukozal kökenli olarak ikiye ayrılır, sonrasında ise histopatolojik olarak sınıflandırılırlar. Kolon poliplerinin sınıflandırılması Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1 Kolon Poliplerinin Sınıflandırılması

Mukozal	Submukozal
Adenomatöz polipler	Lipomlar
Tübüler	Karsinoid tümörler
Tübülovillöz	Kolitis sistika profunda
Villöz	Pnömatozis sistoides koli
Malign	Gastrointestinal stromal tümör (GIST)
Serrata polipler	Malignite metastazları (Melanom vd.)
Hiperplastik polip	Lenfoid agregatlar
Sesil serrata adenom/polip (SSA/P)	Malign lenfoid lezyonlar
Geleneksel serrata adenom/polip (TSA/P)	Fibromlar
Adenom benzeri displazi içeren SSA/P	Nörofibrom/Ganglionörinom
Hamartamatöz Polipler	Leiomyosarkom/Leiomyom
Peutz-Jeghers polipleri	Granüler hücreli tümörler
Juvenil polip	Hemanjiomlar
Diğer	
İnflamatuvar/Psödopolipler	
“Cap” polipler	
Prolapsus	

2.1.1 Mukozal Polipler

Adenomatöz polipler

Kolonoskopi ile saptanan poliplerin %90'ı mukozal kökenlidir ve bunların da %75'i adenomlardır. Adenomatöz ve diğer polipler karakteristik olarak iki farklı büyüme paterni izlerler. Saplı polipler kolon mukozasına vasküler içeriği fazla olan bir sap ile bağlıdır, sessil polipler ise lateral yönde büyüme ve genişleme eğilimine sahiptir. Adenomlar malignite potansiyeli taşıdıklarından ötürü üzerinde en fazla çalışma olan polip türüdür. (15) Asemptomatik ve orta riskli olan grupta yapılan çalışmalarda 50 yaş üstü populasyonda kolonoskopi ile yapılan taramalarda %27-32 oranında adenom saptanmış ve bu hastaların %6-10'unda yüksek riskli adenom saptanmıştır (16-18) Yüksek riskli adenomlar; çapı 1 cm'den büyük olanlar, villöz yapıda olanlar, yüksek derecede displastik olanlar ve in-situ karsinomlardır.

Adenomatöz Poliplerle İlişkili Faktörler

Yaş

Yaş, kolon adenomlarının gelişiminde en önemli faktördür. 50 yaş ve üstünde prevalans %30 olmasına karşın 40-49 yaş arası orta riskli, asemptomatik bireylerde bu oran %8.7'ye, (17-19) 30-39 yaş arası kolonoskopi yapılmış olan bireylerde ise %1-5'e düşmektedir. (17)

Ek olarak ilerlemiş yaş, multipl adenom varlığında artışa ve bu poliplerin displastik özelliklerinde artış ile ilişkilidir. Örnek olarak, 60 yaş altı bireylerde %9 oranında üç ve üçten fazla adenom tespit edilmiş iken bu oran 60-74 yaş grubunda %17, 75 yaş üstü grupta ise %28 olarak bulunmuştur. (20) Ayrıca benzer bir durum poliplerin displastik özelliklerinin artışında da görülmekte, 80 yaş üstü grupta %14 oranında olan yüksek riskli polip varlığı, 50-54 yaş aralığında %3.2 oranındadır (20)

Cinsiyet

Hem otopsi hem kolonoskopi serilerinde erkeklerde polip varlığının kadınlara göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda relatif risk oranı erkeklerde aynı yaş kadınlar ile karşılaştırıldığında 1.5 olarak tespit edilmiştir. (21)

Aile öyküsü

Genetik faktörler kolon adenom vakalarının yaklaşık %30'undan sorumlu görünmektedir (22-25) ve bir çok çalışma ailesinde kolorektal kanser öyküsü olanlarda kolon adenom prevalansında artış olduğunu göstermiştir. (26)

Adenomlar İçin Çevresel Risk Faktörleri

Obezite ve Fiziksel Aktivite

Çok sayıda çalışmada kolorektal kanser ve obezite arasında ilişki gösterilmiştir. (27,28) Her ne kadar obezite, fiziksel aktivite ve kilo alımının kolorektal kanserle olan ilişkisi doğrudan, net bir şekilde gösterilmemiş olsa da, obezite ile beraber çeşitli adipokinlerin artışı ile insulin rezistansına sekonder hiperinsülinemi ve IGF-1 düzeylerinde artış, subklinik inflamatuvar bir ortam hazırlanmasına ve sonuç olarak IL-6, TNF, CRP düzeylerinde artışa sebep olabilir gibi görünmektedir. (29,30) Adenomlar, kolorektal kanser için prekürsör lezyonlar olsa da, adenomların obezite ile ilişkisi net değildir. “The Polyp Prevention Trial” adlı 4 yıl boyunca 1826 hastada yapılan çalışmada, vücut kitle indeksi (VKİ) ile kolorektal adenom varlığı arasındaki ilişki araştırılmış ve çalışma sonunda ne kilo kaybının ne de kilo alımının adenom rekürrensini etkilediği, tek başına kilo kaybının adenom rekürrensini engellemede etkili olmadığı gösterilmiştir. (31) Orta riskli hastalarda kolonoskopi ile yapılan başka bir prospektif bir çalışmada da aynı şekilde adenom varlığının VKİ indeksi ile ilişkili olmadığını göstermiştir. (32) Fakat yapılan bir çok çalışma ve metaanaliz, obezite ile kolorektal adenom riskinde artış olduğunu söylemektedir. Yapılan bir metaanalizde VKİ'nde 5 birimlik bir artış, adenom gelişme riskinde %19 artışa neden olmaktadır (33). Başka bir metaanalizde ise VKİ 25'in üzerinde olan bireylerde riskin belirgin olarak yükseldiği ve riskin VKİ ile doğru orantılı olarak artmaya devam ettiği bulunmuştur (34). Bazı profesyonel topluluklar obez kişileri doğrudan kolorektal adenom için yüksek riskli kabul etmekte, 45 yaşından sonra kolonoskopik kontrolün maliyet etkin olduğunu söylemektedir (35).

Diabetes Mellitus

Tip 2 diabetes mellitus'un (DM) kolorektal adenom ve kanserler için risk faktörü olduğunu gösteren kanıtlar son zamanlarda artış göstermektedir. Tip 2 DM tanılı hastalarda hiperinsülinemi ve artmış IGF düzeyleri kolon epitelinin

proliferasyonunu arttırıyor olabilir. Büyük bir grupta yapılan retrospektif vaka kontrol çalışmasında Tip 2 DM, insülin ve tiazolidinedion maruziyetinin kolon adenomları ile belirgin şekilde ilişkilendirilmiştir. (36) HbA1c düzeyi ve kullanılan antidiabetik tedavinin çeşiti ile yüksek risk adenom varlığı arasında net ilişki kurulamamış olsa da, adenomun tespit edildiği dönemde hastanın glisemik kontrolü kötü ise adenomun progresyonu kötü seyretmektedir. HbA1c değeri %7,5'un üzerinde olan kontrolsüz tip 2 DM hastalarında sağ yerleşimli kolon adenomlarının sıklığında artış, daha riskli histopatoloji varlığı, adenom sayısında artış olduğu ve daha erken yaşta tanı aldığı tespit edilmiştir. (37)

Alkol

Yapılan bir çok kohort ve vaka kontrol çalışmasında alkol alımının kolorektal riskini arttırdığı ve yoğun alkol alımı olan bireylerde tanı anında adenomun daha riskli olduğu gösterilmiştir. Alkol alımı ile beraber düşük folat ve tiamin içeren diyetle beslenenlerde ve sigara içenlerde risk sinerjistik olarak artmaktadır. (38-40)

Sigara

Sigara, bir çok kanser tipinin artışına neden olmaktadır. İyi dizaynı çok sayıda vaka kontrol çalışmasında adenom gelişiminde belirgin artışa neden olduğu gösterilmiştir. (41-43) Sigara kullanımı, dokuda neoplazi gelişimine neden olacak bir çok mutasyonun ortaya çıkmasında rol oynamaktadır.(44,45) Kolonda, diyetle alınan heterosiklik aminlerin hepatik CYP1A2 induksiyonu ile onkojenik metabolitlere dönüşmesine neden olarak polip gelişiminden sorumlu olabilir. (46)

Diyet

Beslenme alışkanlıkları ve kolon polipleri arasındaki ilişki çok sayıda çalışmanın konusunu oluşturmuştur. Özellikle diyetle alınan yağ ve fiber konunun odağıdır. Büyük bir prospektif kohort çalışmada, erkeklerde yüksek düzeyde sature yağ ile beslenenlerde kolorektal adenom gelişmesinde relatif risk 2.0 (%95 Cİ, 1,2-1,3) bulunmuş, fiberden zengin beslenmenin ise koruyucu etkisi olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak erkek cinsiyette hem sature yağdan zengin hem de fiberden fakir beslenen grupta relatif risk fiberden zengin yağdan fakir beslenen gruba göre 3,7 olarak hesaplanmıştır. (47) Buna ek olarak, "Prospective Prostate,

Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial" adlı çalışmada, fiberden zengin beslenen bireylerde fiberden fakir beslenenlere göre kolon adenom gelişme riski %27 daha az olduğu gösterilmiştir. (48) Ek olarak polipi olan bireylerde yapılmış olan vaka kontrol serilerinde polip boyutu büyük olanların diyetlerinde kalsiyum ve kolesterol içeriğinin daha fazla olduğu, sebze, meyve ve fiberden fakir beslendikleri bulunmuştur. (49,50)

Her ne kadar yağ ve fiberin kolon adenomlarının gelişiminde söz aldığı bilinse de, fiber alımından bağımsız olarak, düşük yağ içerikli diyet ile yapılan önleyici çalışmalarda adenom gelişiminde ve rekürrensinde azalma sağlanamamıştır.(51-53) 4 yıl süren ve yapılmış olan en büyük çalışmalardan birinde, sonuç olarak, normal diyetine devam eden grupla ve yağ alımı azaltılan, (günlük kalorinin %20'si) fiber alımı artırılan (18 gr/1000 kcal), meyve ve sebze tüketimi artırılmış olan grup arasında adenom rekürrensi açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu sonuç da polip gelişimi üzerine diyetin etkisinin çok uzun süreler içinde ortaya çıktığını düşündürmektedir. (51)

Serrata Polipler

Son zamanlarda histolojik ve moleküler analizler ile yeni bir polip kategorisi tanımlanmıştır. Serrata polipleri isimlerini histolojik yapılarının testere dişli veya "serrated" olmalarından alırlar. İsimlendirilmeleri konusunda net bir standart henüz belirlenememiştir. Birbirlerinden tamamen farklı olan bir kaç türü vardır:

- 1-Hiperplastik polip
- 2-Sesil serrata polip
- 3- Geleneksel sesil adenom
- 4- Mikst hiperplastik-adenomatöz polip

Bahsedilen türlerin çoğu malign potansiyel taşır ve malign transformasyonun temelinde yatan moleküler yolaklar standart polip-karsinom sekansından tamamen farklıdır. (Serrata neoplazi yolağı)

Hiperplastik Polipler

Kolonoskopi ile tespit edilen serrata poliplerin %80'inden fazlasını hiperplastik polipler oluşturur. (54-56) Hiperplastik polipler için risk faktörleri, adenomlar ve kolorektal kanserin risk faktörleri ile benzerdir. (57)

Sesil Serrata Adenomlar/Polipler

Sesil serrata adenom ve sesil serrata polip (SSA/P) eşanlı olarak kullanılmaktadır. (58) Serrata lezyonların yaklaşık %20'si ve tüm mukozal lezyonların %2'si bu gruptadır. Kolonun her yerinde olabilirler fakat %80'i proksimal kolondadır. (59) Erkek ve kadınlarda eşit oranlarda, yaşlı populyasyonda ise daha sık karşılaşılr.

Geleneksel Serrata Adenom (TSA)

TSA'lar "hiperserrated" konturları olan adenomatöz polipler için kullanılan bir isimdir. Diğer serrata poliplere benzer olarak sıklıkla CIMP ilişkili hipermetilasyon gösterirler. Klasik adenomlardan farklı olarak nadiren APC mutasyonu taşırlar, -özellikle BRAF mutasyonu taşıyorlarsa- daha erken p53 mutasyonu geliştirmeye yatkınlıkları vardır. (60) SSA/P'lere nazaran daha sık KRAS mutasyonu taşırlar. (61) Klasik adenomlar gibi premalign kabul edilirler.

Adenom Benzeri Displazinin Eşlik Ettiği Sesil Serrata Adenom (Mikst Hiperplastik/Adenomatöz Polip)

Tübüler veya tübülovillöz yapılar barındırırlar. Bu lezyonların gelişiminin iki farklı histolojik özellik iki farklı lezyonun birbiri içine geçmesi ile değil, "mikst polip yolağı" nedeni ile gelişmekte olduğu düşünülmektedir. Genellikle displastik odakta MLH1 mutasyonu vardır, displazi olmayan alanda bu mutasyona rastlanmaz. (62)

Adenomların Patogenezi

Kolon epiteli tek katlı kolumnar epitelten oluşur. Bu epitel hücreleri differansiasyon, proliferasyon, apoptoz ve dökülme siklusu içindedir. Bu siklus yaklaşık 5 günde bir tekrarlanır. Az miktardaki kolonik kök hücreler ise kolon kriptlerinin bazalinde bulunur. (63) Bu kök hücreler yakın zamanda tanımlanmıştır ve Lgr5 (64) ve EPHB2 (65) ile işaretli küçük proliferatif hücreler olarak görülmektedir. Yeni bölünmüş olan bir kök hücre, kolon kriptinin aksına dik olarak göç etmeye ve eş zamanlı olarak maturasyon için differansiye olmaya başlar. Maturasyon sonunda; olgun kolonosite, müsin sekrete eden goblet hücresine veya enteroendokrin hücreye dönüşürler. Bu kadar hızlı seyreden siklus, hızlı bir proliferasyona ihtiyaç duymaktadır. Doğal olarak çok sayıda kontrol

noktası olmalı, anormal hücre büyümesinin kontrolü sağlanmalıdır. Bu kontrol noktaları bir çok sebepten dolayı başarısız olabilir. Bu sebeplere örnek olarak duyarlı hücrelerde genotoksik stres, kronik inflamasyon ve enfeksiyona sekonder aberan proliferasyon veya mutajen ortama maruziyet verilebilir. Sonuç ise, bozulmuş yapısal özellikler, anormal büyüme ile karakterize olan displastisitedir.

Displastik epitel tanım gereği kolorektal poliplerin karakteristik özelliğidir. Displazinin karakteristik özellikleri; hipersellularite, büyük ve hiperkromatik, koyu boyanan nükleus ve azalmış sitoplazmik volümdür. Apoptotik hücre sayısı azalmış, aktif mitotik hücre sayısı artmıştır.(66,67) Hüresel anomaliler hafif, orta, şiddetli olabilir. Hafif displazide çekirdek genelde bazaldeki yerleşimini korumuştur fakat büyük ve hiperkromatiktir. Doku yapısı hafifçe bozulmuş, kriplerde dallanma ve sayılarında artış vardır. Displazi şiddetlendikçe, nükleus polaritesini kaybeder, katmanlı bir görünüm alır ve şekil ve boyutunda farklılıklar göstermeye başlar, goblet hücrelerinin mün içeriği azalır ve sayıları artar. Şiddetli displazi bazen intraepitelyal karsinom veya insitu karsinom olarak da adlandırılır. (68,69)

Adenom gelişiminin moleküler patogeneğinde bir çok kromozomal, genetik ve epigenetik değişiklikler yatmaktadır. Bu ise epitel homeostazının sağlanmasında bir çok noktada proliferasyonun kontrolünün sağlandığını göstermektedir. Erken dönemde çeşitli onkogen genlerin aktivasyonu veya tümör supresor genlerin inaktivasyonunun adenom gelişimini tetiklediği görülmektedir. En sık olarak da bir tümör supresor gen olan APC'nin (Adenomatosis polyposis coli) inaktivasyonu veya allelinde delesyonunun sporadik olgularda ve ailesel poliposis koli (FAP) vakalarında adenom gelişimini başlatan değişiklik olduğu görülmektedir. (70) APC'nin inaktivasyonu Wnt sinyal yolağının aktifleşmesine, hücrenin komşu hücrelere nazaran daha fazla bölünmesine yol açmaktadır.

Onkogen olan KRAS'ın aktive olacak şekilde mutasyonu tümörogeneye katkı sağlamaktadır. KRAS, epidermal ve transforme edici büyüme faktörlerinin de (EGF ve TGF) içinde bulunduğu bir çok sinyal yolağında hayati bir öneme sahip olan bir GTPaz'dır. KRAS mutasyonları genelde 12 ve 13. Kodonlarda olmaktadır. (71) 1 cm'nin altındaki adenomlarda KRAS mutasyonu %10'dan az saptanırken, 1 cm'nin üzerindeki adenomlarda %58 oranında görülmektedir. APC

ve KRAS mutasyonları "kromozomal instabiliteye" yol açmakta, bu mutasyonları taşıyan adenomlarda anöploidi sık görülmektedir. İlginç olarak APC mutasyonu olmayan fakat KRAS mutant olan olgularda genellikle benign hiperplastik lezyonlar gelişmekte, bu da APC'nin displaziye yol açan mutasyon olduğunu göstermektedir. (72-74) 1990'ların başında adenom gelişimine neden olan ikinci bir yolak olan "mikrosatellit instabilite yolağı (MSI)" tanımlanmıştır. Bu yolak mikrosatellit genlerde delesyon ve insersiyonlar ile gelişmekte, kolorektal kanserlerin %15'inden sorumlu görünmektedir. (75-77) MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 gibi bazı özel genler mikrosatellit sekansların replikasyonunda DNA mismatch hatalarını düzeltmekte görevlidir. Bu genlerde gelişecek mutasyonlar mikrosatellitlerin replikasyonu ile birikirler. (78-81) Bu mutasyonların birikmesi tümörün progresyonu ile sonuçlanmaktadır. Örnek olarak MSI ilişkili tümörlerin %80'inde TGFBR2 genini inaktive eden mutasyonlar mevcuttur. MSH6, IGF2R gibi 30'dan fazla gene mutasyon MSI yolağında tanımlanmıştır. (82,83) Serrata adenoma/poliplerin, premalign bir lezyon olarak tanınması sonrasında rehberler, takip konusunda adenomatöz poliplere benzer bir takip ve kontrol protokolleri önermeye başlamıştır. (58)

Adenom gelişimine ve ertesinde karsinoma ilerleyen sürece yol açan üçüncü bir yolak da hipermetilasyon ile DNA tamirinde rol oynayan supresör genlerin inhibisyonudur. Sporadik kolorektal kanserlerin %50'sinde, EGF benzeri transmembran protein kodlayan HPPI (84), bir DNA tamir geni olan MGMT (85), tümör supresör bir gen olan CDKN2A (86) ve bir sodyum transporter olan SLC5A8 (87) genlerinde mutasyon tespit edilmiştir. Promoter DNA'nın hipermetilasyonu genelde CpG -dinukleotidden zengin bölgelerde olur. Bundan dolayı bu yolak "CpG-island methylator phenotype (CIMP)" olarak adlandırılır.(88-90) Yaygın bir şekilde oluşabilecek hipermetilasyon, eş zamanlı olarak bahsedilen diğer yolaklarla da beraber olabilir, MSI ilişkili ve ilişkisiz tümörlerde bu mekanizma bulunabilir. Her ne kadar CIMP yolağı klasik adenomların oluşmasında rol oynasa da serrata adenomlarda da bulunabilir, serrata neoplazi yolağında progresyonu tetikleyebilir. **(Bkz. Serrata polipler)**

Kolon Poliplerinin Histolojik Özellikleri

Polipler genellikle boyut, histolojik özellik ve displazinin derecesi açısından değerlendirilir. Malignite potansiyeli ile doğrudan ilişkili olduğu için 5 mm'nin altında, 1 cm'nin altında, 1-2 cm aralığında ve 2 cm'nin üstünde olarak boyut açısından sınıflandırılır.

Yaklaşık olarak poliplerin %80'i 1 cm'den küçük, hafif displazi içeren tübüler adenomlardır. (91) (92) Tübüler adenomlar histolojik olarak incelendiğinde kompleks tübüler yapıda ve aşırı dallanma gösteren neoplastik lezyonlar olarak gözlenir. Bu anormal yapıdaki hücreler, muskularis mukoza tabakasını infiltre etmemiş, hiperkromatik ve müsin içeriğini kaybetmiş görünümündedirler. Buna karşın villöz adenomlar ise daha büyük (%3-16'sı 1 cm'den küçük, %60'ı 2 cm'den büyük), polipin merkezine parmaklı çıkıntılar yapmış şekilde izlenirler. Pratikte %100 villöz içeriği bulunan adenomlar nadirdir ve villöz olarak isimlendirilen adenomların villöz komponenti %80'den fazladır. Tübülovillöz adenomlar ise adenomların %8-16'sını oluşturur ve bahsedilen her iki tipin de özelliklerini taşırlar. Yüksek dereceli displastik adenomlarda ise nükleus polaritesini kaybetmiş, katmanlı görünüme sahip, gland miktarı artmış ve müsin içerikleri azalmıştır. Her ne kadar villöz histolojinin risk açısından değerlendirilmesine dair bazı tartışmalar devam ediyor olsa da, tübüler ve villöz adenomların tanısının konması ve ayrımının iyi yapılması; takip kriterlerinin, risk değerlendirmesinin farklı olması nedeni ile önemlidir. (93,94) Villöz adenomlar daha agresif bir seyir izlerler, malign bir odak oluşturma riski daha fazladır ve eş zamanlı yüksek riskli neoplastik lezyon varlığı bulunma oranı daha fazladır. (95) 1 cm'nin altında tespit edilen poliplerde in situ karsinom varlığı %1,6 iken aynı boyuttaki villöz bir lezyonda bu oran %10'dur. (92,96) Villöz histoloji varlığı, boyut ve displazi derecesi ile beraber bir adenomun yüksek riskli olduğunun değerlendirilmesinde kriterdir ve villöz patoloji saptanmış hastalarda kontrol muayenesi daha sık aralıklarla yapılmalıdır.

Neo-plastik kolon adenomları ve bu lezyonların inflamatuvar durumu hakkına yapılan bir araştırmada; adenomatöz lezyonların etrafındaki non-neoplastik kolon mukozasına göre daha inflamatuvar ortamda bulunduğunu, inflamasyonun polip boyutu ile doğru orantılı bir ilişki içinde olduğu tespit

edilmiştir. Polip boyutu, doğrudan lezyonun malignite riskini arttıran kriterlerden biridir. Aynı çalışmada inflamasyon ile displazi düzeyi de değerlendirilmek istenmiş fakat örneklem yetersizliğinden dolayı bu karşılaştırma yapılamamıştır.(283)

Hiperplastik polipler genelde ufak, görünüm olarak adenom ve diğer mukozal lezyonlardan ayırt edilemeyen, düz yapıda lezyonlardır ve non-neoplastiktir. Histolojik olarak polip yüzeyinden muskularis tabakasına kadar uzanan düz ve uzun kript yapısına sahiptir. Bu kriptler katlı halde duran epitele paraleldir ve klasik testere dişi görünümünü oluştururlar. (66,97) Baskın histolojik yapısına göre mikroveziküler, goblet hücreli ve müsinden fakir olarak farklı gruplarda incelenebilirler. (58) Mikroveziküler subtip, polip yüzeyinde kript tabanından daha belirgin olmak üzere testere dişli kontur, dağınık yerleşimli goblet hücreleri ve intrasitoplazmik müsün damlaları ile karakterizedir. En sık karşılaşılan subtipdir ve klasik olarak rektosigmoid bölgede gelişir. (98) Buna karşın goblet hücreli tip ise neredeyse tamamen goblet hücrelerinden oluşur ve kenar yapısı daha düz görünümündedir. Müsinden fakir olan subtipde ise görünüm mikroveziküler tipe daha çok benzer fakat daha fazla nükleer atipi gösterirler. (98) Sıklıkla distal kolonda bulunmaktadır. (99)

SSA/P lezyonlar, isminde olduğu gibi "sesil", düz yapıda lezyonlardır. Histolojik olarak, mukozanın derinlerinde genişlemiş, katlantılı ("L" veya ayakkabı şeklinde) ve muskularis mukoza üzerinde dallanmış yapıda kript yapıları vardır. Bu yapı bu gruba özeldir ve displastik olarak kabul edilir. (100,101) Nükleer atipi olabilir fakat belirgin değildir. (98) Epitel hücrelerdeki displazi adenom benzeri olursa "adenom benzeri displastik SSA/P" adını alır ve yüksek dereceli displastik olarak kabul edilir. Ayrıca gastrik müsün sekrete edebilirler ve bu şekilde hiperplastik poliplerden ayrımı yapılabilir. (102,103)

SSA/P'de lezyon içinde görece sık rastlanan malign odak ve senkron kanser varlığı nedeni ile kanser ile ciddi bir ilişki vardır. (104) Moleküler fenotipleme ile mikroveziküler hiperplastik polipten SSA/P ve serrata adenokansere seyreden "serrata neoplazi yolağı" varlığını desteklemektedir.

TSA lezyonları, histolojik olarak, uzun geniş villus yapısı ve hiperproliferatif, tomurcuklanan kriptlere paralel uzanan displastik epitel içerirler.

(105) SSA/P'lerin aksine distal kolon ve rektumda daha fazla bulunurlar. Polip eksizyonu yapılmış olan hastalarda önerilen kontrol aralıkları Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2 Polip Eksizyonu Yapılmış Hastalarda Önerilen Kontrol Aralıkları

Bazal kolonoskopi bulgusu	Önerilen kontrol aralığı (yıl)
Polip yok	10
Küçük (<10 mm), hiperplastik, rektum veya sigmoid kolon yerleşimli	10
1-2 adet küçük tübüler adenom	5-10
3-10 adet tübüler adenom	3
>10 adenom	<3
≥10 mm boyutunda bir veya birden fazla tübüler adenom	3
Bir ya da daha fazla villöz adenom	3
Yüksek derecede displazi içeren adenom	3
Serrata lezyonlar	
10 mm'den küçük displazi içermeyen serrata adenom	5
10 mm ve daha büyük olan serrata polip veya polipler	3
Displazi içeren serrata polip	3
Geleneksel serrata adenom	3

Adenomatöz Poliplerin Klinik Prezantasyonu

Genellikle asemptomatik seyrederler ve tarama amaçlı tetkik edilen kolonoskopi ile veya ilişkisiz gastrointestinal şikayetlerin etiyolojik olarak araştırılması esnasında tespit edilirler. (96,106) Semptoma neden olan polipler genelde 1 cm'nin üstündeki poliplerdir ve gizli ya da aşikar rektal kanama ile prezente olabilirler. İmmunokimyasal tetkikleri kullanılarak yapılan taramalarda polipi olan bireylerin fekal hemoglobun miktarı normal popülasyona göre daha fazladır. (107) Fakat sporadik poliplere sekonder anemi nadir gelişir. (108)

Diğer nadir prezantasyon şekilleri ise; bağırsak alışkanlıklarında değişiklik, aralıklı intussusepsiyon veya polip büyük ise obstruksiyondur. (109) Çok nadir görülen bir diğer prezantasyon şekli ise büyük sekretuar villöz adenom

varlığında sulu diare ve elektrolit-sıvı kaybına sekonder hiponatremi ve böbrek yetmezliği tablosudur.(110,111)

Adenomların Doğal Seyri

Kolonoskopi ile yapılan taramalar esnasında rutin polipektomi uygulanması, tespit edilen polipin tedavisiz bırakılmasının etik açıdan yanlış olarak görülmesinden dolayı polip-karsinom sekansının takibi çok kısıtlıdır. Az sayıda, küçük bir hasta grubu üzerinde retrospektif olarak yapılan çalışmalar bu konuda fikir vermektedir. Yapılan böyle bir çalışmada adenomların karsinoma progresinin oldukça yavaş olduğu gösterilmiştir. (112) Bir çalışmada polip eksizyonu yapılmamış 14 hastada (10'u tübüler, 4'ü villöz karakterde), karsinoma progresyon en az 5 yıl, genel olarak 10 yıldan uzun sürmüştür. (92) Çok daha eski bir çalışmada ise küçük rektal poliplerin sadece %5'inin 3-5 yıl içerisinde büyüme gösterdiği, genel olarak boyutlarının sabit kaldığı veya küçüldüğü gösterilmiştir. (113,114)

Poliplerin malign transformasyonları için gerekli olan zamanı tahmin etmek için lezyon tipleri ile yaş aralığının saptanması bir fikir verebilir. Yapılan bir çalışmada adenomatöz poliplerin karsinom gelişiminden yaklaşık 4 yıl önce geliştiği bulunmuştur. (92) Günümüz şartları ile hangi polipin malign transformasyon göstereceğinin bilinmesi mümkün değildir.

Her ne kadar adenomların küçük bir kısmı karsinoma ilerlese de mekanizma olarak hangi genetik değişiklikler ile bunun geliştiği iyi bir şekilde belirlenmiştir. (70,115,116) En erken tespit edilebilen değişiklik ise bir tümör supresor gen olan APC'nin mutasyonu ile aktif hale geçen WNT/ β -catenin yolağıdır. (117)

KRAS mutasyonları da iyi bilinen değişikliklerdir ve polip boyutu arttıkça daha sık olarak gözlenmektedir. Hızlı bir şekilde büyüme gösteren adenomların büyük bir kısmında özellikle kodon 12'de olmak üzere KRAS mutasyonu mevcuttur. (118,119) Adenomun boyutu ve displastisitesi arttıkça anöploidi ve progresif genomik instabilite de artmaktadır. (120) 17. Kromozomdaki P53 geninin mutasyonu ise karsinom progresyonu için kritik bir yere sahiptir (72)

Adenomatöz Poliplerin Tanısı

Dışkıda Gizli Kan Testi

Dışkıda gizli kan testi, kolon kanserleri için bir tarama testi olarak dizayn edilmiştir. Ana prensip, kolon içinde gelişen bir kitlenin, aralıklı olarak lümen içine kanayacağıdır. Yapılan sistematik değerlendirmelerde, asemptomatik bireylerde kolorektal kanser nedeni mortalitede %7 ve %33 arasında düşüş sağlamıştır. (121-124) Testin kolorektal kanser için sensitivitesi %25 ile %80 arasında iken spesifitesi, beslenme ile alınan heme molekülü, bitki temelli peroksidaz enzimleri ve kolorektal kanser harici kanama nedenleri dolayısı ile %15-30 civarındadır. (125) Dışkıda gizli kan testi adenomlar için bir tanı aracı değildir çünkü küçük adenomatöz poliplerde kanama eğilimi düşüktür. Büyük poliplerde ise kanama daha sık rastlanır, fakat aralıktır, alınan tek örnekle saptanamayabilir. Dışkıda gizli kan tespit edildiğinde bir neoplazi varlığını ekarte etmek amacı ile kolonoskopi yapılır. Fakat bu hastaların %80'inde, kolonoskopide sonuç negatiftir. (125)

Fekal İmmunohistokimya Testi

Bu testte doğrudan insan hemoglobinine karşı oluşturulmuş antikorlar kullanılmaktadır. Yapılan bir çok çalışmada kolorektal kanser ve adenoma varlığı saptamada dışkıda gizli kan testine üstün olduğu gösterilmiştir. (126,127)

Her ne kadar bu test insanların tarama amaçlı kolonoskopi yaptırmasına, ayrıca yüksek riskli adenomların tespitine yarıyor olsa da küçük adenomlar için yeteri kadar sensitif değildir.

Fekal DNA Testi

Neoplastik lezyonlardan sürekli olarak kolon lümenine DNA dökülmekte ve bu DNA feçes içinde nispeten stabil olarak kalabilmektedir. Fekal DNA üzerinde kolorektal kanserlere özgü olan mutasyonlar tespit edilebilmektedir. Sensitivite ve spesifitesi ile tarama testi olarak kabul edilebilir. 50-75 yaş arası popülasyonda yapılan prospektif bir çalışmada sensitivitesi %52, spesifitesi ise %94 olarak bulunmuştur. (128)

Kolonoskopi

Kolorektal poliplerin tanısı ve tedavisi açısından oldukça etkili bir yöntemdir. Her ne kadar etkili olsa da kanama ve perforasyon gibi bazı komplikasyonları (129,130) ve bazı alanlarda ciddi derecede sınırlamaları vardır. (131) Yapılan çalışmalarda 1 cm'den büyük adenomların %6'sının, 0,5 cm'den küçük adenomların ise yaklaşık %25'inin atlandığı düşünülmektedir.(132,133) Optik kolonoskopi ile tomografik kolonoskopi arasında ise %12-17'lere varan oranlarda teşhis miktarında fark gösterilmiştir. (134,135) Bunun muhtemel sebepleri ise kolonik haustraların arkasında kalan veya lümene paralel şekilde büyüme gösteren poliplerdir. Kolonoskopi sonrası ortaya çıkan kolorektal kanser tabloları yaklaşık % 5 oranındadır ve bu oranın düşürülmesi kolonoskopi ile yapılan taramalarda en önemli hedef olmalıdır.(136-139) Son rehberlerde bu konu ile ilgili olarak yapılan taramalarda erkeklerde %20, kadınlarda ise %15 oranında polip saptanması gerektiği belirtilmektedir. (140) Düşük orandaki tespitler, "interval kanser" vakalarında artışa neden olmaktadır. (139)

Tomografik Kolonografi

Kolonun hazırlanmasından sonra kolon içine karbondioksit verilmesi ve akabinde bilgisayarlı tomografi ile kolonun 3 boyutlu görüntüsünün alınması ile yapılmaktadır. (141) Bir çok çalışma ile optik kolonoskopi ile karşılaştırması yapılmıştır. (142) Asemptomatik hastalarda, büyük poliplerin tespitinde oldukça başarılı olmakta fakat diminutif (<0,5 cm) boyutlu polipleri atlayabilmektedir. (143)

Biyopsi Ve Histolojik Değerlendirme

Buraya kadar bahsedilen tetkikler polipleri saptayabilmekte fakat polipin benign ya da malign olduğu belirleyememektedir. Kesin tanı rezeke edilen veya biyopsisi alınan polipin histopatolojik değerlendirmesidir. Kolorektal polipler çeşitli yöntemlerle çıkarılabilmektedir. Rezeke edilen polipin boyutu ve histopatolojik özelliği, hastaya yapılacak olan takip veya tedavinin ana belirleyici unsurlarıdır. (144) Ek olarak çoklu ve yüksek riskli polip rezeksiyonu yapılmış olan hastalarda ek genetik testlerin yapılmasına da yardımcı olmaktadır. (145)

2.2 T ve NK Hücre Fonksiyonları

T hücrelerinin antijenleri tanıırken kullandığı moleküllerin temel yapısı 1990'lardan itibaren bilinmekte ve T hücrelerinin antijen reseptörlerinin yapı olarak immunglobülinlere benzediği bir çok çalışmada gösterilmiştir. (146) Bu reseptörler, doğrudan CD3 proteini ile ilişkili olan birbirine disülfit bağı ile bağlı heterodimerlerden oluşmaktadır.

α - β Heterodimerleri olgun T hücrelerinin %90'ından fazlasında bulunur. γ - δ heterodimerleri ise kandaki T hücrelerinin %10'undan azında bulunur ve *Listeria monocytogenes* gibi infeksiyonlara özel yanıtlardan sorumludur. (147) Ayrıca, bu hücreler buldukları dokuya göre de sınıflandırılabilir. Yapılan hayvan çalışmalarında, epidermis, akciğer, bağırsak, akciğer ve uterus gibi bir çok farklı epitel dokuda, çok γ - δ T hücresi tespit edilmiştir; bu da bariyer görevi gören dokularda kontrolü sağlayan faktörlerden biri olduğunu göstermektedir. (148) Fakat sekonder lenfoid organlarda %1-5 arasındadır. Yapı olarak γ zinciri β zinciri ile, δ zinciri ise α zinciri ile benzerlik taşımaktadır. α - β dimeri gibi liganda bağlandıktan sonra CD3 kompleksi ile beraber hücre aktivasyonunu sağlamaktadır.

Benzer olmalarına rağmen immunglobülinlerin ve T hücre reseptörlerinin antijene bağlanma mekanizmaları farklıdır. İmmunglobulinler doğrudan antijene bağlanabilirken T hücre reseptörleri genelde diğer bir hücrenin yüzeyinde bulunan MHC (Major histocompatibility complex) moleküllerine bağlı peptid antijenlere bağlanabilirler. (149,150)

Bazı T hücreleri ise MHC tarafından sunulan peptidleri tanımaz, onun yerine MHC bölgesinden kodlanmayan fakat MHC'ye benzer yapıda olan molekülleri tanırlar. Bu moleküllerinden biri de CD1 molekülüdür. CD1 her ne kadar MHC Class I molekülüne benzer yapıda olsa da, MHC Class II molekülü gibi büyük ekstrasellüler peptidleri sunar. Ek olarak glikolipid yapıda olan molekülleri de sunabilmektedir. Glikolipidler, mycobacterium ailesinin membranında bulunur, CD1 ise enfekte olan hücrelerin hücre yüzeyinde bulunan lipoarabinomannan ve mikolik asit gibi moleküllere bağlanabilmektedir. Özellikle TBC infeksiyonuna immün cevapta önemli rol oynamaktadır.(151,152)

γ - δ T hücre reseptörlerinin tersiyer yapısının farklı olması α - β

heterodimerini taşıyan T hücrelerinden farklı olarak işlenmemiş proteinler, bakteriyel fosfoantijenler, nonklasik MHC-I moleküllerine ligand olarak bağlanabilmesine olanak sağlamaktadır. (153) Ayrıca CD1 tarafından sunulan antijenleri de tanıyabilmektedir. (154)

2.2.1 CD4 ve CD8

CD4 ve CD8 immunglobülin süperfamilyasına benzer özelliklere sahiptir. CD8'in iki farklı ekspresyon paterni ve muhtemelen farklı fonksiyonları olan izoformları bulunur. Bu iki izoform CD8 α/α veya CD8 α/β şeklinde bulunabilir. (155) CD4 ise monomer yapıdadır. T hücrelerinde, mononükleer fagositler ve dendritik hücrelerde eksprese edilir. (156)

CD4 ve CD8'in Fonksiyonu

MHC'nin antijen sunmasından ayrı olarak TCR'lerin CD4 ve 8 tarafından aktive edilmesi gerekmektedir. CD 4 veya 8 ile sadece MHC'nin sunduğu antijenin sağladığından yaklaşık 100 kat daha fazla aktivasyon sağlamaktadır.

CD8 nonpolimorfik HLA Class I molekülünün $\alpha 3$ domainine bağlanırken, CD4 nonpolimorfik HLA Class II moleküllerinin $\beta 2$ domainine bağlanır. (156) Ek olarak CD4 HIV virusunun hücreye girişinde CCR5 ve CXCR4 gibi kemokin reseptörleri ile beraber kullandığı koreseptördür. (157)

2.2.2 T Hücre Alt Tipleri

Timosit Prekürsörler

T lenfositler, kemik iliğinde B lenfositleri de oluşturan lenfoid progenitör hücreden oluşurlar. B lenfosit prekürsötleri kemik iliğinde kalırlarken, T hücreler timusa göç ederler ve orada maturasyon seyrine devam eder, immunolojik eğitime tabi tutulurlar. İlk başta timositler çift-negatiftir, CD4 veya CD8 bulundurmazlar. Oldukça heterojen bir grup olan bu hücrelerin içinde NK hücre reseptörü olan NK1.1 reseptörü eksprese eden $\gamma\text{-}\delta$ T hücreler, $\alpha\text{-}\beta$ T hücreler, ileride $\alpha\text{-}\beta$ T hücreleri olacağı düşünülen TCR eksprese etmeyen timositler bulunur. Bu ikinci grup aynı anda CD8 ve CD4 eksprese ederek çift-pozitif evreye geçerler ve pozitif/negatif seçime ve CD4/8 “cell fate choice” aşamalarına dahil olurlar.

Bütün bu olaylar sonunda CD4 veya CD8'den sadece birini eksprese eden periferik T hücreleri oluşur. (Matür timosit) (158)

Helper ve Sitotoksik T Hücreler

CD8 taşıyan T hücreler, sitotoksik T hücreleri olarak adlandırılır. T hücre popülasyonunun yaklaşık %30'unu oluştururlar. MHC Class I molekülleri ile sunulan hücreye spesifik antijenleri tanırlar ve o hücrelerin lizisini sağlarlar. CD4 taşıyan T hücreleri ise Helper T hücre olarak adlandırılır. T hücre popülasyonunun yaklaşık %65'ini bu hücrelerden oluşur. MHC Class II molekülleri tarafından sunulan antijenleri tanırlar ve aktivasyon üzerine çeşitli lenfokinleri sekrete ederler. Bu lenfokinler aktif immun cevabın regülasyonunda rol oynarlar. Helper T hücreler sekrete ettikleri lenfokin ve sitokinlere, oluşturduğu immun yanıtlara göre alt gruplara ayrılırlar. (156)

CD4+ T Hücrelerin Alt Tipleri

T helper 1 (Th1) ve T helper 2 (Th2) hücreler sekrete ettikleri sitokinlere göre ayrılırlar. (159)Th1 hücreler interferon- γ 'nın ana kaynağıdır ve makrofaj aktivasyonu ve hücre içi patojenlerin temizlenmesinde rol oynarlar. Th2 hücreler ise interleokin-4 ve IgE'nin ana kaynağıdır. Her iki grup da prekürsör T hücreden köken alır, subtipler ise sonradan polarizasyon ile oluşur.

Th1 hücreler IFN- γ 'ya ek olarak, lenfotoksin- β , IL-2 ve IL-12 sekrete ederlerken, Th2 hücreler IL-5, IL-13 ve IL-25 sekrete ederler. (156) Her alt tipin sekrete ettiği sitokinler aynı zamanda naif T hücrelerinin kendi yönlerinde polarizasyonunu sağlamakta, diğer yönlere doğru polarizasyonunu inhibe etmektedir. (160)

Th1 hücreleri, virüslere ve diğer intrasellüler patojenlere karşı yanıtta, kanser hücrelerinin eliminasyonunda, deride gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonlarında yer alır ve hücrel immunitiyi indüklemektedir. Bunu da makrofajların Fc reseptörlerini stimüle ederek, fagositoz ve antijen sunumuyla makrofajların fonksiyonel kapasiteleri arttırarak sağlar. Th2 hücreler ise humoral immunité ve antikor üretimini indükleyerek ekstrasellüler patojenlerin eliminasyonunda rol alır. B hücre stimulanı ve büyüme faktörü olan IL-4'ü kullanarak antijen spesifik B hücrelerinin IgM sentezini indükler, diğer immunglobülinlerin (IgA, IgE) sentezini de stimüle eder ve IgG alt tiplerinin zayıf opsonizasyonu ve nötralizasyonunu sağlar. Ek olarak IgE yapısındaki antikorların

yapımını da arttırdığı için mast hücre ve eozinofil yönünde differansiasyonu da artırır. (159)

Genel olarak değerlendirildiğinde Th1 yolağı daha agresif, akut organ spesifik otoimmün rahatsızlıklarda ve inflamasyonlarda rol alırken, Th2 yolağı ise atopi ve sistemik otoimmün hastalıklara predispozisyon oluşturmaktadır. Örnek olarak, H. pylori enfeksiyonuna sekonder gelişen peptik ülser tablosu Th1 yolağı ile, kronikleşen tabloda T hücre aracılı B hücre aktivasyonuna sekonder gelişen düşük dereceli B hücreli lenfoma Th2 yolağı ile ilişkilidir. (161) Ek olarak tip 1 diabetes mellitus, romatoid artrit ve multipl skleroz iki yolağında rol aldığı tablolardır. Bir çok kanser çeşidinde ise hangi yolağın baskın olduğu net olarak belirlenememiştir. (162)

CD4+ CD25+ Regulator T Hücreler

Ana işlevleri supresör etki şeklindedir. Bu potent supresör etkiyi doğrudan hücre-hücre etkileşimi veya sitokinler aracılığı ile, çeşitli anatomik bölgelerde, çeşitli hastalık ve inflamasyon durumlarında ortaya koyabilmektedir. (163) “Factor forkhead box P3” (FOXP3), CD25 (IL-2 için düşük afiniteli reseptör) ve CTLA-4 (Coinhibitory receptor cytotoxic T-lymphocyte antigen) ekspresyonu diğer alt tiplerden ayırımı sağlayan en önemli fenotipik özelliğidir. (164)

FOXP3, Treg hücrenin fenotipini göstermesi açısından son derecede önemlidir (165) fakat tek başına yeterli değildir. (166) Treg hücrelerin gelişimi ve fonksiyonlarının devamı için IL-2, TGF- β ve diğer ko-stimulan faktörlere de ihtiyaç vardır. (167) Treg hücreler immun yanıtları çeşitli şekillerde baskırlar, (168) TCR üzerinden aktivasyonu ile;

- a) Anti-inflamatuar sitokin üretimi (IL-10, TGF- β veya IL-35)
- b) CD25 ile IL-2'nin absorpsiyon yolu ile miktarının azaltılması
- c) Diğer immun hücrelerin granzimler veya CD95-CD95L aracılı lizisi
- d) Antijen sunan hücreler ve diğer immün hücrelerin aktivasyonunun baskılanması
- e) Ortama supressör etkili moleküllerin sekresyonu [CD7, CD43 ve CD45'i bağlayabilen bir protein olan galectin-1 (169), fibrinojen benzeri protein-2 (FGL-2, antijen sunan hücrelerin Fc γ reseptörünü suprese eden düşük affiniteli bir molekül (170))]

f) CD4+ ve CD8+ hücrelerin spesifik antijenler üzerinden doğrudan supresyonu şekillerinde bu etki gerçekleşir.

Th17 Hücreler

CD4+ T hücrelerin bir alt tipi olan bu hücreler, belirli patojen ve mantarlara karşı yanıtta rol oynamaktadır. (171) IL-17 (IL-17A) ve IL-17F üreterek geniş bir alanda IL-17 ve IL-22 reseptörleri üzerinden etki gösterirler. Differansiasyonları için primer olarak IL-23 ve IL-1 β 'ya, ek olarak da TGF- β ve IL-6'ya ihtiyaç duyarlar. (172) Th17 hücreler, intestinal bakteriler, ekstrasellüler patojenler ve fungal infeksiyonlara karşı genelde nötrofil aktivasyonunu sağlayarak etki gösterir. Bağırsak epitelinin lamina propriasında çok miktarda bulunurlar; orada bulunan kommensal bakteri tarafından induklenir ve epitel bütünlüğünün sağlanmasında görev alır. (173)

IL-17, NK ve NK T hücreler tarafından da salgılanır, pleiotropik etkiye sahiptir. Antikor üretimi, nötrofil migrasyonu, makrofaj aktivasyonu, antijen sunumu, ekstrasvazasyon gibi fonksiyonları stimule eder. (174) Th17 ayrıca çeşitli kemokinler (CXCL8, CCL20 vd.) sitokinler (IL-6, TNF- α , IL-21 ve IL-22), büyüme faktörleri (granülosit koloni stimulan faktör, granülosit-makrofaj koloni stimulan faktör), akut faz proteinleri (C- reaktif protein) ve antimikrobiyal peptid ve müsin sekrete edebilir. (175)

Enflamasyonu artırma özelliği nedeni ile psoriasis, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, multipl skleroz, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve glukokortikoid dirençli astma tablolarında rol oynamaktadır. (176-181)

Tfh Hücreler

T foliküler helper hücreler, bir diğer CD4+ T hücre alt tipidir. Lenfoid folikülün germinal merkezinde antijen spesifik B hücre yanıtının regülasyonunda yer alır. CXCR5 reseptörü taşırlar, CXCL13'ten zengin B hücreler ile doğrudan programlı hücre ölümü-1 (PD-1), induklenbilir T hücre kostimulanı (ICOS), BTLA ve CD40L üzerinden B hücre ile ilişki kurarlar. (182) Bu etkileşimler B hücrelerinin plazma ve hafıza B hücrelerine differansiasyonu üzerinde etkilidir.

Th9 hücreler

Bir diğer alt tip de Th9 hücreler olup, Th17 ve Treg hücrelerin aksine regülatuar değil efektör karakterdedir. Özellikle IL-9, IL-10 ve IL-21 sekrete

ederler. (183) Başta akciğer olmak üzere allerjik reaksiyonlarda rol oynar. (184) In vivo çalışmalarda melanomda tümör immunitesinde rol aldığı gösterilmiştir. (185,186)

Hafıza T Hücreleri

Yeterli bir immün cevap ile patojenin ortadan kaldırılmasının ardından, hem CD4+ hem de CD8+ T hücreleri, daha sonra aynı veya benzer patojenle karşılaştığında güçlü bir immün yanıt oluşturabilmek üzere hafıza hücrelerine dönüşebilirler.(187,188)

T hücre popülasyonları, IL-15 ve IL-7 gibi homeostatik sinyallerin sayesinde, uzun yıllar boyunca antijenden bağımsız bir şekilde kendini yenileyerek, hayatta kalabilmektedir.(189,190) Aynı antijenler tekrar karşılaştığında aktivasyon ve sitokin üretimi için daha az stimulan faktöre ihtiyaç duymaktadır.

Diğer hücrelerden, eksprese ettikleri CD45 molekülünün izoformları ile ayırt edilebilmektedir. CD45 genel lökosit antijenidir ve bütün lökositlerde bulunur. (T200) İntراسیتoplazmik kısmının tirozin kinaz aktivitesi mevcuttur ve antijen aracılığı ile TCR aktivasyonunda rol alır. (191)

2.2.3 NK Hücrelerin Fonksiyonları

NK Hücrelerin Tanımı Ve Tanımlanması

"Natural killer" (NK) hücreler, tümörler, virus ile enfekte hücreler ve bir şekilde sensitize olduğu hücreleri doğrudan ortadan kaldırma yetisi olan hücrelerdir. (192,193) IFN- γ üretebilen ve doğal bağışıklık sisteminde ve doku gelişiminde rol oynayan doğal lenfoid hücreler (ILC) grubuna dahil edilmektedirler. (194) NK hücreleri, büyük granüler lenfositler ile (LGL) benzer morfolojik özellikler içerir ve ek olarak:

A) CD3-TCR kompleksi eksprese etmezler.

B) CD56 (N-CAM), CD335(NKp46) ve CD16(Fc γ RIIIA) eksprese ederler.

C) MHC Class I veya II eksprese etmeyen hücreleri doğrudan öldürme yetenekleri vardır.

Hedef hücre tanıma mekanizmaları CD8+ sitotoksik T lenfositlerden tamamen farklıdır MHC class I molekülü ile eksprese edilen antijenleri

kullanmazlar. MHC class I varlığı NK hücre fonksiyonlarını inhibe edebilmektedir. (156)

Morfolojik olarak değerlendirildiğinde, orta-büyük boyutta, yuvarlak nükleuslu, sıkı yapıda kromatin içeren ve genellikle görünür nükleollü yapıdadır. Sitoplazmalarında bol miktarda lizozom ve perforin, granzim içeren granuller bulundurulur. (195)

NK hücreler ilikteki progenitör lenfoid hücreden köken alır. (196) Birkaç gün ve birkaç hafta arasında ömre sahiptir fakat, viral etkenlere karşı reaksiyon sonrası birkaç aya kadar yaşayabilir.(197,198) Differansiasyon için timusa ihtiyaçları yoktur. Lenfosit popülasyonunun %5-20'sini oluştururlar. (199) Litik kapasiteleri maturasyonla beraber artış gösterir. (200)

NK Hücrelerin Fonksiyonlarının Mekanizmaları

Hücre Aracılı Sitotoksiste

NK hücreler, doğrudan hedef hücreye bağlanarak bu etkiyi gösterirler ve bu etkiyi perforin ve granzim içeren granullerin degranülasyonu ile sağlarlar. (195) Sitotoksiste ayrıca hücre yüzeyinde bulunan moleküller tarafından da sağlanabilir. NK hücre üzerindeki Fas ligand, membranöz TNF veya TNF aracılı apoptoz indukleyen ligand (TRAIL) aracılığı ile hedef hücrede hücre ölümünü tetikleyen reseptörler uyarılır. Hücrelerin lizisi, membran permeabilitesinin değişmesi ve apoptozun induklenmesi ile meydana gelir. (195)

NK hücre yüzeyinde, sitotoksik mekanizma ve sitokin sekresyonunu indukleyici moleküller bulunur. Bunlardan biri, IgG'nin Fc parçasına düşük affinitesi olan CD16'dır. CD16 dolaşımdaki birçok NK hücrede bulunur ve sinyal iletiminde rol alan CD3ξ ya da FcεR1γ zincirleri ile bağlantılıdır. CD16 hücre zarında bu parçalara bağlandığında antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksiteyi tetikler. (ADCC) Bunun dışında NK hücreler, benzer ligandlar tarafından diğer reseptörler aracılığı ile de aktive olabilir. Örnek olarak NK2GD, bütün NK hücreleri tarafından eksprese edilir ve transforme olmuş veya virus ile enfekte olmuş hücreleri tanımda rol almaktadır. (201) Bu reseptör, sağlıklı hücrelerde çok az miktarda MHC class I molekülleri tarafından sunulan glikoproteinleri tanımlar. (MICA, MICB, ULBP1, ULBP6) Bu proteinler virus ile enfekte ya

da transforme olmuş hücreler tarafından çok miktarda eksprese edilmektedir. (201)

NK hücreler ek olarak tümörleri tanımak için çeşitli reseptörler kullanmaktadır. DNAM-1 (CD226) ve “doğal sitotoksikite reseptörleri” olan NKp30, NKp44 ve NKp46 bu reseptörlere örnek olarak sayılabilir. (202)

NK hücreler MHC Class I eksprese etmeyen tümör hücrelerine saldırmayı tercih ederler. (203) Bir çok virüs de enfekte ettiği hücrelerin MHC Class I sentezini inhibe etmektedir. Bunu muhtemelen sitotoksik T lenfositlerden kaçış mekanizması olarak kullanmaktadır. (204) Tümör hücrelerinde MHC class I ekspresyonunun ortadan kalktığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. (205) Fakat NK hücreler yeterince güçlü şekilde aktive edildiklerinde MHC class I eksprese eden hücreleri de öldürme yetisine sahiptir.

NK Hücrelerin Fizyolojik Roller

Doğal İmmünite

Myeloid hücrelerle birlikte, NK hücreler bağışıklık sisteminin ilk aşaması olan doğal bağışıklıkta rol alırlar. NK hücreler potent stimulanı olan TNF- α 'ya bir miktar bağlı olarak, selektif olarak virüsle enfekte olan hücreleri öldürebilmektedir. (206) In vivo çalışmalarda, viral enfeksiyon ortamına TNF- α eklendikten sonra NK hücre sayısında artış yaşanmaktadır. NK hücre aktivasyonu takiben antijen-spesifik T helper ve sitotoksik T lenfositlerin aktivasyonu başlar, enfeksiyon tablosunun 7-9. günlerinde T hücreler pik aktiviteye ulaşır. (207) Viral enfeksiyonla ile gelişen NK hücre aktivasyonunun faydalı veya patojenik etkileri olabilmektedir. (208)

NK hücreler, intrasellüler bakteri ve parazitler karşı fagoitik hücreleri aktive eden IFN- γ , GM-CSF, IL-12 ve TNF- α gibi molekülleri sekrete ederek bu hücrelerin potansini arttırmaktadır. (207)

Adaptif İmmünite

NK hücreler inhibitör ve stimulatör moleküller sekrete ederek, T ve B lenfositler, antijen sunan hücrelerin etkilerini modüle edebilmektedir. (193) Ek olarak dendritik hücre ile karşılıklı aktivasyon ilişkisi, patojenlere yanıtın kontrolünün sağlanmasında önemlidir. (209)

2.3 D vitamini

Kalsiyum ve fosfor metabolizması paratiroid hormon (PTH) ve fibroblast growth factor 23 (FGF23) aracılığı ile kontrol altında tutulmaktadır. Bu hormonlar böbrekte CYP2B1'nin ekspresyonunu kontrol etmektedir. Bu enzim 1,25(OH)₂D₃, sentezinin tamamlanmasını sağlamaktadır. Aktifleşmiş olan vitamin D₃ doğrudan böbrek, bağırsak ve kemik üzerine etki göstererek fonksiyon göstermektedir. (210-212) Bu şekilde kalsiyumun diyetle alınımının, glomerüler filtrattan rezorbsiyonunun ve ihtiyaç halinde kemikten hızlı bir şekilde kalsiyum ve fosfor salınımının sağlandığı mekanizmaların merkezinde bulunmaktadır. Aktif vitamin D₃'ün intestinal etkileri, diyetle alınan kalsiyum ve fosforun absorpsiyonunu sağlayan, calbindin D9K, NCX1, TRPV6 ve ATP2b1'in içinde bulunduğu proteinlerin sentezinin regulasyonu üzerinedir. (213) Aktif vitamin D₃ ek olarak kemik yapıdan kalsiyum ve fosforun mobilizasyonunu osteoklast aktivitesini ve yeni osteoklast oluşumunu stimule ederek arttırmaktadır. (214) Bu etkisini, otokrin TNF- α benzeri faktör reseptörü ve RANKL ekspresyonunu artırarak göstermektedir. Yapılan son çalışmalarda, ek olarak osteopontin, MGP, ENPP1, ENPP2, ANK, alkalen fosfataz ve diğer moleküllerin ekspresyonunun kontrolünde yer aldığı gösterilmiştir. (215) Kemikten mobilizasyon özellikle diyetle kalsiyum alınımının yetersiz olması halinde PTH ve aktif vitamin D₃ düzeylerinin artışı ile gelişmektedir. Son olarak aktif vitamin D₃, böbrekte kalsiyumun reabsorpsiyonunu arttırmaktadır. Bu etkisi sınırlı olmakla beraber, reabsorbe edilen kalsiyum miktarı doğrudan diyetle alım ile ilişkilidir. (216)

Kolorektal kanser D vitamini eksikliği ile ilişkilendirilen ilk kanserdir. Yapılan çalışmalarda kolorektal kanser ve D vitamini düzeylerinin ters orantılı olduğunu gösteren bir çok çalışma vardır. (217-225) Kolorektal adenomu olan hastalarda D vitamini ve kalsiyum replasmanı yapılmasını takiben normal mukoza alanlarından alınan biyopsilerinde plasebo ile yapılan karşılaştırma sonucunda; APC ve E-cadherin ekspresyonunda artış, B-katenin ekspresyonunda azalma saptanmıştır. (226)

D vitamini replasmanı sonrasında batı diyeti ile beslenen hastalarda yapılan bir çalışmada, D vitamininin farmakolojik dozlarda uygulanmasına müteakip sitokin ve kemokinler, kompleman sistemi, HLA, hücre siklus yollarında rol oynayan DNA polimeraz, CDK gibi immun ve inflamatuvar

cevapta rol oynayan moleküllerle ilişkili genlerin up-regulasyonuna neden olduğu tespit edilmiştir. İlave olarak hücre adezyon ve ekstrasellüler matriks genleri olan kollajenaz, matriks metalloproteinazlar, integrinler ve serin protez inhibitörlerinde belirgin up-regulasyon sağlamıştır. Kalsiyum uygulaması, bütün bu değişimlerde büyük derecede gerileme olmasına neden olmuştur. (227)

Kolorektal adenom ve 25(OH)D konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi değerlendirilen birçok çalışma mevcuttur. Dolaşımdaki 25(OH)D düzeyi ve adenom riskinin değerlendirildiği bütün çalışmaları içeren bir metaanalizde 25(OH)D düzeyinin kolorektal adenom riskini azalttığı gösterilmiştir. (228) Bu ilişki özellikle yüksek riskli adenomlar için daha belirgindir.

2.3.1 Vitamin D Reseptörü

Aktif vitamin D₃ aktivitesini aspesifik vitamin D₃ reseptörüne (VDR) bağlanarak gösterir. VDR, nükleer reseptör süperfamilyasından bir reseptördür. (229)

VDR Retinoid X reseptör'üne (RXR) bağlanır ve VDR-RXR heterodimerleri Vitamin D response element'e (VDRE) bağlanır. VDRE ise gen ekspresyonunu aktive veya inhibe eder. Bu şekilde D vitamininin anti-neoplastik etkisi sağlanır. VDR diğer transkripsiyon faktöleri (β -katenin, SP1 vd.) ile de etkileşir ve VDRE'den bağımsız olarak onların da ekspresyonunda rol oynar. (230) Yapılan bazı çalışmalarda in vitro (231) ortamda vitamin D₃'e hücre sel yanıtta ve ileri evre kanser hücrelerinde VDR ekspresyonunda azalma olduğu gösterilmiş olup vitamin D₃'ün VDR'den de bağımsız olarak biyolojik aktivite üzerine ve ya tümör mikroçevresine etkili olduğu düşünülmektedir. (232)

Kolon kanseri dışında örnek olarak malign melanomda vitamin D₃ düzeyleri düşük olan hastalarda daha erken evreler metastaz geliştiği de gösterilmiştir. (233) Ek olarak meme, over, pankreas ve prostat kanserlerinde de kemopreventif aktivitesi gözlenmiştir. (234)

VDR'nin bir çok tümörün ve malign hücre tipinde eksprese edildiği gösterilmiştir. Ovaryan karsinom tablosunda VDR oranlarının yükselmiş olduğu gösterilmiş olup kolon ve meme kanserinde VDR miktarı azalmıştır. (235)

Kolorektal kanserde, VDR düzeyinin tümörün diferansiasyonu ve prognozu üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. (236,237) Tümör içindeki

stromal fibroblastların VDR ekspresyonu da prognozu iyileştirmektedir. (238) Sadece tümör hücreleri ile değil etrafındaki hücreler ile etkileşimde olması D vitamininin anti-kanser etkilerini değerlendirmek açısından önemlidir. Pankreas kanserinde ise VDR, pankreatik stellat hücrelerin transkripsiyonunu kontrol eder; stromal remodelling ile tümör boyutunun azalmasını ve kemoterapötiklere cevabın iyileştirilmesini sağlar. (239) Hepatosellüler karsinomda, hepatik stellat hücrelerde bulunan p62/SQSTMI proteininin VDR aracılığı ile karaciğerdeki inflamasyon ve fibrozisi baskılayıcı etkisi olduğu bulunmuştur. (240)

2.3.2 D vitamininin Tümör Hücreleri Üzerine Olan Etkileri

Yapılan randomize bir klinik çalışmada, D vitamini tedavisi sonrası, D vitamini metabolitleri ile prostat kanseri dokusunun Ki67 değeri arasında ters bir ilişki bulunmuştur. (241) Meme ve kolon kanserinde D vitamini ile hücre proliferasyonunun inhibisyonunun JNK1 üzerinden gerçekleştiği gösterilmiştir. (242) JNK1, VDR ile etkileşerek VDR'nin ekspresyonunu düzenlemekte, aktif vitamin D₃'ün anti-proliferatif etkisinde rol almaktadır. (243) Vitamin D₃'ün tümör supresör aktivitesine ek olarak, anjiogenez inhibisyonu ve invazyon ve metastaz inhibisyonu etkileri de mevcuttur. Antianjiogenik etkisi, tümör hücre proliferasyonunun inhibisyonu ile ilişkili olabilir. (244) Aktif vitamin D₃'ün, ratlarda yapılan çalışmalarda anjiogenik faktörleri (VEGF, TGF- α , FGF vd.) inhibe ettiği, anti-anjiogenik faktörleri stimule ettiği gösterilmiştir. Aktif vitamin D₃'ün bir anjiogenik sinyal molekülü olan anjiopietin-2'nin düzeyinde azalma sağladığı da gösterilmiştir. (245)

Antitümör mekanizmalardan bir diğeri de invazyon ve metastaz üzerine inhibitör etkisidir. Yapılan bir çalışmada aktif vitamin D₃'ün meme kanseri hücrelerinin invazyon yeteneğini kısıtlayıcı etkisi gösterilmiştir. (246) Ayrıca epitelden mezenkime hücre migrasyonunu engellediği de gösterilmiştir. (247) In vivo ortamda aktif vitamin D₃'ün subkutan olarak implante edilmiş "Lewis lung carcinom" modeli hücrelerinin metastaz kapasitesini azaltmaktadır. (248)

2.3.3 D vitamininin Proinflamatuvar T Lenfosit Cevapları Üzerine Etkisi

T lenfositlerin genomunda binlerce VDR bağlanma noktası bulunur ve bu da D vitamininin bu hücrelerin gen transkripsiyonu üzerinde ne kadar etkili olduğunun bir göstergesidir. (249) Ayrıca T lenfositler (CD4+ ve CD8+) aktive

edildikten sonra VDR ve CYP2B1 ekspresyonlarını arttırmaktadır. (250,251) D vitamini, T lenfositlerin aktivasyonunun başlangıcında da rol oynamaktadır. (252) Özellikle aktif vitamin D₃ T lenfositlerin PLC- γ 1 ekspresyonunu arttırmaktadır. Bu da T hücre reseptör sinyalizasyonunda rol oynamaktadır.

D vitamini T helper hücrelerin polarizasyonunda da önemli etkiye sahiptir. Th1 yanıtlarını baskılamakta, IFN γ üretimini suprese etmektedir.(253-255) Her ne kadar T hücrede bu etkileri oluştursa da monosit ve makrofajlardaki IFN γ aracılı antimikrobiyal etkinliği indüklemektedir. IFN γ da TLR'nin stimule ettiği CYP2B1 ekspresyonunu arttırmaktadır.(256,257)

Th2 üzerine olan etkileri daha komplikedir. Aktif vitamin D₃, Th2 yönüne polarizasyonu arttırmakta, Th1 yönüne polarizasyonu ise baskılamaktadır. (258) İn vitro ortamda yapılan birçok çalışma da bu bulguyu destekler niteliktedir.(259-261) Kordon kanı hücre kültürlerinde orta düzeyli dozlarda ise hem Th1 hem de Th2 cevaplarını baskılamaktadır. (262)

D vitamini, Th17 hücrelerin IL-17 üretimini doğrudan gen ekspresyonu düzeyinde etki göstererek azaltmakta, bu bulgu in vitro ve ex vivo çalışmalarla da desteklenmektedir. (253,254,263,264)

Bir başka CD4+ hücre alt tipi olan T foliküler helper hücreler de antijen spesifik B hücrelerin hafıza ve plazma hücrelerine differansiasyonunda destekleyici rol oynamaktadır. Şu ana kadar literatürde bu hücrelerin fonksiyonları ile D vitamini arasında ilişki belirten bir çalışma henüz yayınlanmamıştır.

D vitamininin immun sistem üzerine olan etkileri çoğunlukla CD4+ T helper ve antijen sunan hücreler üzerine yoğunlaşmıştır. CD8+ sitotoksik T hücreler, üzerine çalışmalar her ne kadar az yapılmış da olsa, hücre sel immunitenin temel parçalarından biridir. İntrasellüler patojenlere ve kansere karşı bağışıklık yanıtında rol oynarlar. Ayrıca astım alevlenmelerinde de rol sahibidirler. (265) Aktif vitamin D₃, CD8+ T lenfositlerin anti-CD3/anti-CD28 ile stimulasyondan sonra üretilen IFN γ miktarında düşüşe sebep olmaktadır. (266) Ek olarak IL-4 maruziyetinden sonra IL-13 sekrete eden Th2 yönünde gelişimi de inhibe etmektedir. (267) Bir aktif vitamin D₃ analogu olan kalsipotriolün, psöriatik lezyonlar üzerinde bulunan CD8+IL-17+ T lenfosit sayısında azalma ve klinik iyileşme sağladığı gösterilmiştir. (268) "Lewis Lung Carcinoma" modelinde

kalsitriol ve düşük doz IFN γ 'nın eş zamanlı uygulamaları sonrasında sinerjistik olarak GM-CSF üretiminde azalma ve CD8+ T hücrelerinin tümör içine infiltrasyonunu arttırarak CTL aktivitesinde artışı sağladığı gösterilmiştir. (269) $\alpha\beta$ T lenfositlerin yanısıra $\gamma\delta$ T lenfositler üzerinde hücre kültüründe yapılan bir çalışmada, D vitamininin CD25 ekspresyonunu azaltıcı, IFN γ üretimini azaltıcı etkisi olduğu gösterilmiştir. (270)

2.3.4 D vitamininin T_{reg} Lenfosit Üzerindeki Etkileri

T_{reg} hücreler immun yanıtların kontrolü ile patolojik düzeyde gelişebilecek immun yanıtları engellemektedir. T_{reg} hücre fonksiyonlarında azalmanın tespit edildiği bir çok tablo tespit edilmiştir. Bunlardan biri IL-10 ve FoxP3+ Treg hücre sayısında azalma olduğu gösterilen ciddi astım tablolarıdır. (271) Aktif vitamin D₃ T_{reg} hücrelerin fonksiyonlarını çeşitli yönlerden etkilemektedir. (272) Yapılan bu çalışmalarda astım hastalarının kliniği ile hava yolunda bulunan FoxP3+ T_{reg} sayısı ve IL-10 düzeyi ile hastaların serum D vitamini düzeyi arasında korelasyon bulunmuştur.(273-275) In vitro ortamda aktif vitamin D₃, CD4+ lenfositlerden IL-10 ekspresyonunu ve T_{reg} hücre sayısını arttırmaktadır. (262,273,276) Aberan T_{reg} hücrelerinin, tümör alanındaki mastositozu, normalde arttırıcı yönde etki göstermeleri gerekirken azalttığı, fakat IL-12 salgılayamamaya ve T4 hücrelerinin proliferasyonunu baskılamaya devam etmekte olduğu gösterilmiştir. (277)

Ek olarak D vitamini, akciğer homeostazında rol oynadığı düşünülen CD200 gibi lenfosit regülatuar yollarında, CTLA-4 ve PD-1 gibi inhibitör ko-stimulan moleküllerde stimulan etkiye sahiptir. (278,279) In vitro ortamda, ektonükleotidaz moleküller olan CD39 ve CD73'ün ekspresyonunu arttırıcı etkisi gösterilmiştir. (254,280) Aktif vitamin D₃, TGF β ilişkili bir çok molekülün ve biyoaktif TGF β 'nın ekspresyonunu arttırmaktadır. (280)

D vitamininin in vitro etkileri yavaş seyirli, günler içinde ortaya çıkan etkiler olmakla beraber CYP24A1 ekspresyonunun indüklenmesi gibi etkiler ani başlangıçlıdır. FoxP3 gibi bir çok regülatuar gen VDRE barındırır da, etki mekanizması muhtemelen sadece transkripsiyonel etki üzerinden gelişmemektedir. Konu üzerine yapılan ilk çalışmalarda, aktif vitamin D₃'ün T hücre döngüsü ve proliferasyonu üzerine inhibe edici etkisi olduğu gösterilmiş

olsa da T_{reg} hücrelerde artışa neden olmakta, bu etkiyi de IL-2 yolağı ve “activation-induced” lenfosit ölümü ile sağlamaktadır. (273,281)

İlginç olarak D vitamini, D vitamini ile indüklenip IL-10 sekrete eden CD4⁺ T lenfositlerden TLR-9’un gen ekspresyonunu arttırmaktadır. (282) İn vitro ortama TLR-9 agonisti eklenmesi bu hücrelerden IL-10 üretimini inhibe etmekte ve bu şekilde naive CD4⁺ T hücrelerinin proliferasyonunu baskılamaktadır. (282) Bu mekanizma ile diğer bazı yollar gibi lokal mikro çevre değişiklikleri ile D vitamini ilişkili pro-Treg aracılı uygunsuz yanıtlardan korunma sağlanmakta gibi görünmektedir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Planı

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı alındı. (05/06/2017 tarih ve 70904504/211 sayılı karar) Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Gastroenteroloji Polikliniği'ne başvuran ve değişik nedenler ile kolonoskopi endikasyonu konmuş, 18 yaş üstü kolonoskopi ile polipektomi işlemi uygulanmış hastalar çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan hastalar eksize edilmiş olan patoloji raporuna göre, polipin tipine göre 4, displazi derecesine göre 2 ayrı gruba ayrıldı. Oluşturulan gruplar Tablo 3.1 ve Tablo 3.2'de belirtilmiştir.

Tablo 3.1 Polip Tipine Göre Oluşturulan Gruplar

Polip Tipi
Hiperplastik polip
Tübüler adenom
Tübülovillöz adenom
Villöz adenom

Tablo 3.2 Displazi Derecesine Göre Oluşturulan Gruplar

Displazi Derecesi
Yüksek dereceli displazi
Düşük dereceli displazi

Hastalar çalışmaya alınırken tabloda belirtilen kriterler kullanıldı (Tablo 3.3).

Tablo 3.3 Çalışmaya Alınan Populasyonun Değerlendirme Kriterleri

Dahil Etme Kriterleri	Dışlama Kriterleri
1. 18 yaş üstü olmak	1. İşlem esnasında aktif enfeksiyon varlığı
2. Kolonoskopi işlemi esnasında polipektomi yapılmış olması	2. Otoimmün hastalık varlığı
	3. Son 6 ay içinde herhangi bir sebeple immunmodülatör ilaç kullanımı
	4. Kolon malign neoplazm varlığı

Çalışmaya katılmayı kabul eden hastalardan, yapılacak işlem hakkında düzenlenmiş bir aydınlatılmış onam formu ile imzaları alınarak, işlem ile eş zamanlı olarak, 5'er ml miktarında bir hemogram tüpü ve bir serum tüpüne periferik kan örnekleri alındı.

Alınan kan örneklerinden, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Organ Nakli Araştırma Laboratuvar'ında akış sitometri tekniği ile alınan periferik kan örneğinde bulunan T ve NK hücrelerinde yüzey antijenleri, VDR ekspresyon oranları ve MFI (mean florescence index) değerleri; ELISA yöntemi ile aktif ve inaktif vitamin D₃ düzeyleri tayin edildi. Akış sitometri tekniği ile CD3, CD4, CD8, CD14 ve CD56 ekspresyon tayini ile T ve NK hücreleri belirlendi, bu hücrelerde VDR (Vitamin D reseptörü) tayini ile ekspresyon oranları ve MFI değerleri tayin edildi. VDR tayini aşağıda belirtilen şekilde gerçekleştirildi.

1. 100 µl heparinize kanı temiz bir flow tubune yerleştirilir ve üzerine 1 ml, 1X lysing solusyonu (349202, BD Biosciences, San Jose USA) eklenir. Pipeti aşağı yukarı hakeret ettirerek yavaşça karıştırılır ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilir, bu işlem iki kez yapılır.
2. Hücreler 8000 rpmde santrifüj edilir ve süpernatant alınır.
3. 200 µl, Cytofix/CytoPerm [555028, BD Biosciences, San Diego USA] eklenir. +4°C de 20 dakika inkübe edilir.
4. Hücreler 2 kez 1000 µl 1X Perm/Wash Buffer [51-2091 KZ(554723), BD Biosciences, San Diego USA] ile yıkanır, her seferinde oda sıcaklığında 1 dakika 8000 rpm de santrifüj edilir
5. Hücreler 1000 µl 1X Perm/Wash Bufferda oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilir.
6. Hücreler 8000 rpmde döndürülür ve supernatant alınır.
7. Hücreler 100 µl 1X Perm/Wash Buffer dilüe edilir ve 2 µl fare mAB Vitamin D Reseptörüne eklenir [9A7 gammaE10.4] (abcam, ab54387). Işıktan uzakta oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilir.
8. Hücreler 2 kez 1000 µl 1X Perm/Wash Buffer ile yıkanır, her seferinde oda sıcaklığında 1 dakika 8000 rpm de santrifüj edilir.
9. Supernatant alınır ve hücreler 100 µl 1X Perm/Wash Bufferda çözülür.

10. 1 µl FITC- Conjugated Anti-Rat IgG secondary antibody (e-Bioscience, 11-4811-85) eklenir. Işıktan uzakta oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edilir.
11. Hücreler 2 kez 1000 µl 1X Perm/Wash Buffer ile yıkanır, her seferinde oda sıcaklığında 1 dakika 8000 rpm de santrifüj edilir.

3.2. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen bulguların istatistik analizleri için IBM-SPSS version 23 for Mac OS (IBM Corp. Released 2011) programı kullanıldı. Örneklemi tanımlamak için sürekli değişkenler ortalama±standart sapma belirtildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelendi. Polip tiplerinin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımlarının sağlandığı durumlarda ikiden fazla bağımsız grup ortalamalarının farkı “One Way ANOVA Analysis” ile, parametrik test varsayımlarının sağlanmadığı durumlarda ise bu testin parametrik olmayan alternatifi “Kruskal Wallis Test” ile incelendi. Displazi derecesinin değerlendirilmesinde ise iki bağımsız grup ortalamasının farkı “Mann Whitney U Testi” ile incelendi. Analizlerde farklılıkların belirlenmesi için $\alpha=0.05$ hata payı (ya da % 95 anlamlılık düzeyi) alındı.

4. BULGULAR

Çalışmaya planlandığı şekilde polip tipine göre 4 grup, displazi derecesine göre 2 grup olacak şekilde 45 hasta alındı. 45 hastanın, polip tiplerine göre gruplara ayırımı Tablo 4.1’de belirtilmiştir.

Tablo 4.1 Çalışmaya Alınan Hastaların Polip Tiplerine Göre Dağılımı

Polip türü	Hasta Sayısı
Hiperplastik Polip	8
Tübüler Adenom	15
Tübülovillöz Adenom	10
Villöz Adenom	12
Toplam	45

Çalışmaya alınan popülasyonun ve grupların kendi içlerinde yapılan değerlendirmede, alınan örneklerde bulunan T lenfosit, CD4+ T lenfosit, CD8+ T lenfosit ve NK hücre popülasyonlarının VDR boyanma (%) ve MFI değerleri, aktif ve inaktif vitamin D₃ düzeylerinin gruplara göre dağılımı Tablo 4.2’de belirtilmiştir.

Tablo 4.2 Çalışmaya Alınan Popülasyonun Polip Tipine Göre Analizinin Sonuçları

D Vitamini		Hiperplastik	Tübüler	Tübülovillöz	Villöz	p değeri
Reseptör Düzeyi		Polip	Adenom	Adenom	Adenom	
Toplam T lenfosit	Boyanma (%)	24,1±0,9	24,4±1,3	24,7±3	24±1,3	0,948
	MFI	39,3±0,7	39,6±0,9	40±1,6	39,7±1,7	0,835
CD8 (+) T lenfosit	Boyanma (%)	17,3±1,1	18,7±2	18,2±3,3	17,5±2,6	0,494
	MFI	43,9±2	43,9±1,2	44,6±2,7	44,6±2,9	0,788
CD4 (+) T lenfosit	Boyanma (%)	21,4±2,1	22±3,2	20,3±3,5	21,4±2,8	0,653
	MFI	41,5±2,3	40,4±1,2	41±1,5	41,2±3	0,662
NK hücre	Boyanma (%)	21,9±2,9	22,3±3,8	24,1±4,1	24,4±6,7	0,398
	MFI	40,5±1,4	41,1±1,5	43±2,9	41,5±2,7	0,151
Aktif Vitamin D ₃ Düzeyi	ng/ml	22,71±11,62	24,95±13,79	22,44±11,28	25,57±10,98	0,895
İnaktif Vitamin D ₃ Düzeyi	ng/ml	19,51±8,47	21,63±13,43	18,43±8,27	24,9±14,22	0,790

Verilerin değerlendirmesinde Kruskal-Wallis testi uygulanmış, analizlerde farklılıkların belirlenmesi için $\alpha=0.05$ hata payı (ya da % 95 anlamlılık düzeyi)

alınmıştır. Yapılan değerlendirmede anlamlı sonuç çıkmaması üzerine post-hoc analiz yapılmamıştır.

Hiperplastik polip grubu ele alındığında; VDR+ toplam T lenfosit popülasyonunun, toplam T lenfosit popülasyonuna oranı $24,1 \pm 0,9$; toplam T lenfosit grubunda VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri $39,3 \pm 0,7$ 'dir. Aynı grupta CD4+ VDR+ T lenfosit popülasyonunun, toplam CD4+ T lenfosit popülasyonuna oranı $21,4 \pm 2,1$; CD4+ T lenfosit grubunda VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri $41,5 \pm 2,3$ olarak bulunmuş olup CD8+ VDR+ toplam T lenfosit popülasyonunun toplam T lenfosit popülasyonuna oranı $17,3 \pm 1,1$ olarak bulunmuş; CD8+ T lenfosit grubunda VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri $43,9 \pm 2$ 'dir. Bu grupta bulunan VDR+ NK hücre popülasyonunun, toplam NK hücre popülasyonuna oranı $21,9 \pm 2,9$ olarak bulunmuş; NK hücre grubunda VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri $40,5 \pm 1,4$ 'tür. Aktif vitamin D₃ düzeylerinde ise, ortalama değer $22,71 \pm 11,62$; inaktif vitamin D₃ düzeylerinde ortalama değer $19,51 \pm 8,47$ olarak bulunmuştur.

Tübüler adenom grubunda ise VDR+ toplam T lenfosit popülasyonunun toplam T lenfosit popülasyonuna oranı $\%24,4 \pm 1,3$; toplam T lenfosit grubunda VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri $39,6 \pm 0,9$ 'dur. CD4+ VDR+ T lenfosit popülasyonunun toplam CD4+ T lenfosit popülasyonuna oranı $\%22 \pm 3,2$; CD4+ VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri $40,4 \pm 1,2$ olarak tespit edilmiştir. Aynı grupta CD8+ VDR+ toplam T lenfosit popülasyonunun toplam T lenfosit popülasyonuna oranı $\%18,7 \pm 2$; CD8+ T lenfosit grubunda VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri $43,9 \pm 1,2$ 'dir. VDR+ NK hücre popülasyonunun, toplam NK hücre popülasyonuna oranı $\%22,3 \pm 3,8$; NK hücre grubunda VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri $41,1 \pm 1,5$ 'tir. Aktif vitamin D₃ düzeyleri değer $24,95 \pm 13,79$ ng/ml; inaktif vitamin D₃ düzeyleri $21,63 \pm 13,43$ ng/ml olarak bulunmuştur.

Tübülovillöz adenom grubunda VDR+ toplam T lenfosit popülasyonunun toplam T lenfosit popülasyonuna oranı $\%24,7 \pm 3$; toplam T lenfosit grubunda VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri $40 \pm 1,6$; CD4+ VDR+ T lenfosit popülasyonunun toplam CD4+ T lenfosit popülasyonuna oranı

%20,3±3,5; CD4+ VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 41±1,5'tir. CD8+ VDR+ toplam T lenfosit popülasyonunun toplam T lenfosit popülasyonuna oranı %18,2±3,3; VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 44,6±2,7 olarak bulunmuştur. VDR+ NK hücre popülasyonunun, toplam NK hücre popülasyonuna oranı 24,1±4,1; VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 43,0±2,9'dur. Aktif vitamin D₃ düzeyi 22,3±11,28 ng/ml; inaktif vitamin D₃ düzeyi 18,43±8,27 ng/ml'dir.

Villöz adenom grubu değerlendirildiğinde VDR+ toplam T lenfosit popülasyonunun toplam T lenfosit popülasyonuna oranı %24±1,3; toplam T lenfosit grubunda VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 39,7±1,7'dir. CD4+ VDR+ T lenfosit popülasyonunun toplam CD4+ T lenfosit popülasyonuna oranı %21,4±2,8; VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 41,2±3'tür. CD8+ VDR+ T lenfosit popülasyonunun CD8+ T lenfosit popülasyonuna oranı 17,5±2,6; CD8+ T lenfosit grubunda VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 44,6±2,9'dur. VDR+ NK hücre popülasyonunun, toplam NK hücre popülasyonuna oranı 24,4±6,7; VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 41,5±2,7 olarak bulunmuştur. Aktif vitamin D₃ düzeyi 25,57±10,98 ng/ml; inaktif vitamin D₃ düzeyi 24,9±14,22 ng/ml'dir.

Polip tipine göre yapılan gruplandırma sonrası yapılan analizlerde, değerlendirilen parametreler ile polip tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlara ulaşılamamıştır.

Hastalar, ayrıca polip materyallerinde tespit edilen displazinin derecesine göre de değerlendirildi. Bu bağlamda displazi kriterlerini karşılamayan, patogenetik olarak diğer 3 gruptan (Tübüler, Tübülovillöz, Villöz) farklı özellikler gösteren, displastik lezyon kategorisine girmeyen hiperplastik polip grubu değerlendirme dışında bırakıldı. **(Bkz. Hiperplastik Polip)**

Tablo 4.3 Çalışmaya Alınan Popülasyonun Displazi Derecesine Göre Dağılımı

Displazi Derecesi	Hasta Sayısı
Düşük	29
Yüksek	8
Toplam	37

Tablo 4.4 Çalışmaya Alınan Popülasyonun Displazi Derecesine Göre Yapılan Analizinin Sonuçları

Vitamin D Reseptör Düzeyi	Birimi	Displazi Derecesi		p değeri
		Düşük (n=29)	Yüksek (n=8)	
Toplam T lenfosit	Boyanma (%)	24,53±1,96	23,70±1,42	0,438
	MFI	39,90±1,35	39,13±1,36	0,080
CD8+ T lenfosit	Boyanma (%)	18,72±2,44	16,30±2,20	0,018
	MFI	44,20±2,41	44,63±1,69	0,477
CD4+ T lenfosit	Boyanma (%)	21,80±3,38	19,80±1,31	0,083
	MFI	40,80±2,06	40,88±1,81	0,665
NK hücre	Boyanma (%)	22,91±3,77	25,44±7,95	0,810
	MFI	41,52±3,26	40,50±1,60	0,161
Aktif Vitamin D ₃ Düzeyi	ng/ml	24,19±12,52	25,70±10,77	0,543
İnaktif Vitamin D ₃ Düzeyi	ng/ml	20,50±11,05	26,91±16,72	0,351

Displazi yönünden yapılan bu değerlendirmede Mann Whitney U testi uygulandı.

Düşük dereceli displazi grubu değerlendirildiğinde VDR+ toplam T lenfosit popülasyonunun toplam T lenfosit popülasyonuna oranı %24,53±1,96; toplam T lenfosit grubunda VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 39,90±1,35'tir. CD4+ VDR+ T lenfosit popülasyonunun toplam CD4+ T lenfosit popülasyonuna oranı %21,80±3,38; VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 40,80±2,06'dır. CD8+ VDR+ T lenfosit popülasyonunun CD8+ T lenfosit popülasyonuna oranı %18,72±2,44; CD8+ T lenfosit grubunda VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 44,20±2,41'dir. VDR+ NK hücre popülasyonunun, toplam NK hücre popülasyonuna oranı %22,91±3,77; VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 41,52± 3,26 olarak bulunmuştur.

Yüksek dereceli displazi grubu değerlendirildiğinde VDR+ toplam T lenfosit popülasyonunun toplam T lenfosit popülasyonuna oranı %23,70±1,42; toplam T lenfosit grubunda VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 39,13±1,36'dır. CD4+ VDR+ T lenfosit popülasyonunun toplam CD4+ T lenfosit popülasyonuna oranı %19,80±1,31; VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 40,88±1,81'dir. CD8+ VDR+ T lenfosit popülasyonunun CD8+ T lenfosit popülasyonuna oranı %16,30±2,20; CD8+ T lenfosit grubunda VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 44,63±1,69'dur. VDR+ NK hücre popülasyonunun, toplam NK hücre popülasyonuna oranı %25,44±7,95; VDR+ olarak değerlendirilen popülasyonun MFI değeri 40,50±1,60 olarak bulunmuştur.

Her iki grup arasında yapılan karşılaştırma sonucunda, CD8+ VDR+ T lenfosit popülasyonunun CD8+ T lenfosit popülasyonuna oranların arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur. (p=0,018) Değerlendirilen diğer parametreler arasında, istatistiksel anlamda fark tespit edilmemiştir. (p>0,05)

Aktif vitamin D₃ düzeyi, düşük dereceli displazi grubunda, 24,19±12,52 ng/ml; yüksek dereceli displazi grubunda ise 25,70,±15,77 ng/ml olarak tespit edilmiş olup inaktif vitamin D₃ düzeyi, düşük dereceli displazi grubunda 20,50±11,05; yüksek dereceli displazi grubunda ise 26,91±16,72 ng/ml olarak saptanmıştır. Her iki parametre için yapılan değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamamıştır. (p>0,05)

5. TARTIŞMA

Kolon polipleri en basit şekilde, kolon veya rektum mukozasından köken almış, lümen içine büyüyen lezyonlar olarak tanımlanabilir. Displastisite gösteren, pre-malign karakterde lezyonlar olup literatürde hakkında yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur. Kolonda tespit edilmiş bir polipin boyutu, histopatolojik özellikleri, displastisite derecesi, bu lezyonların ilerleyen süreçte maligniteye transforme olma konusunda bize öngörü sağlamaktadır. **(Bkz. Kolon Poliplerinin Histolojik Özellikleri)** Polip gelişimi; hastanın yaşı, aile öyküsü, yaşı, cinsiyeti, vücut kitle indeksi, fiziksel aktivite düzeyi, diyet özellikleri ve sigara-alkol kullanımı ile ilişkili görülmektedir. **(Bkz. Adenomatöz Poliplerle İlişkili Faktörler)**

Yapılan çalışmalarda, kolon poliplerinin karsinomlara dönüşümünde çeşitli yollar tespit edilmiştir. Klasik kolon adenomlarında bu yollardan en iyi bilineni, APC mutasyonu sonucu aktif hale geçen Wnt/ β -katenin yolağıdır. Bu yolağa ek olarak K-RAS mutasyonları, serrata neoplazi yolağı da adenom-karsinom sekansında yer almaktadır. **(Bkz. Adenomların Patogenezi)**

Kolorektal kanser, D vitamini eksikliği ile ilişkilendirilen ilk kanser tipidir.(217-225) Kolon adenomu saptanan hastalara yapılan D vitamini replasmanı ile biyopsi materyallerinde APC ve E-cadherin düzeylerinde artış, β -katenin düzeylerinde azalma tespit edilmiştir.(226) Buna ek olarak, farmakolojik dozda verilen D vitamininin, sitokin ve kemokinler, kompleman sistemi, HLA, hücre siklus yollarında rol oynayan DNA polimeraz, CDK gibi immun ve inflamatuvar cevapta rol oynayan moleküllerin genlerinde up-regulasyon geliştiği de gösterilmiştir. İmmun sistemde rol alan T ve NK hücrelerini ise taşıdıkları VDR (Vitamin D reseptörü) üzerinden etki göstererek fonksiyonlarını modüle etmektedir.(227) Özellikle CD8+ T lenfositlerin anti-tümör aktivitesi ile D vitamini arasındaki ilişki baş-boyun kanseri hastaları ve “Lewis Lung Carcinoma” modeli üzerinde yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.(8,9) Bahsedilen çalışmalar malign tablolar üzerinde çalışılmış olup malign tablolarda vitamin D₃ ve VDR'nin CD8+ T lenfositlerin sitotoksik etkilerini arttırıcı yönde rol aldığı görülmektedir.

Çalışmamıza konu olan tabloda ise pre-malign lezyonlar söz konusudur. Bu lezyonlar ve bu lezyonlara sekonder olarak gelişen kolon karsinomu tablolarında ise altta yatan sebep kronik inflamatuvar zemindir.

Vitamin D reseptörü T lenfositlerinde özellikle stimülasyonu takiben çok miktarda eksprese edilmekte, inflamatuvar sitokinlerin üretimini suprese etmektedir. CD8+ T lenfositler üzerine yapılan çalışmalarda da IFN- γ üretiminde düşüşe neden olarak inflamatuvar yanıtı baskılayıcı rol oynamaktadır.(266) Yaptığımız bu çalışmada yüksek dereceli displastik kolon adenomu olan hastaların CD8+ T lenfositlerin VDR ekspresyonunun, düşük dereceli displastik lezyon taşıyan hastalardakine oranla daha düşük olması, dolaylı olarak D vitamininin anti-inflamatuvar etkinliğinin de bu hastalarda daha az düzeyde olmasına neden oluyor gibi görünmektedir. Kronik inflamasyonu azaltıcı etkenlerden birinin eksikliği, bu hastalarda saptanan adenomatöz lezyonların neden daha displastik olduğunu açıklamada yardımcı olabilir. Buna ek olarak, her ne kadar çalışmadaki örneklemin CD4+ T lenfositlerin VDR+'lık oranı istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, tespit edilen p değeri, (p=0,08) çalışmanın daha geniş örnekleme tekrarlanması halinde anlamlı sonuçlar elde edilebilir. D vitamini, CD4+ T lenfositlerde Th1 yönünde polarizasyonu baskılamakta, Th17 hücrelerinden IL-17 salınımı azaltmakta, TGF- β , CTLA-4, PD-1 gibi anti-inflamatuvar etkiye sahip ko-stimulan moleküllerin ekspresyonunu arttırmaktadır. Genel olarak değerlendirildiğinde CD4+ T lenfositlerin aktivasyonunu baskılayıcı, inflamasyonun inhibisyonu yönünde etki göstermektedir. Neo-plastik kolon lezyonları üzerinde yapılan bir çalışmada ise bütün adenomatöz kolon poliplerinde değişken derecelerde inflamasyonun varlığı gösterilmiştir.

Bu bağlamda D vitamininin, kolorektal kanserin gelişiminde; kolon mukoza epiteli üzerindeki etkileri, immun sistem modülasyonu ve T ve NK hücrelerinin fonksiyonlarının regülasyonunda rol alması nedeni ile bir çok mekanizma üzerinden kolorektal kanser gelişiminde koruyucu rol üstlendiği açıktır. Özellikle anti-inflamatuvar etkinlik ile, adenom üzerinde bulunan kronik inflamasyonu baskılayarak, süreç içerisinde, gelişmiş olan pre-malign lezyonların maligniteye transformasyonunu önleyici bir rol alıyor gibi görünmektedir.

6. SONUÇ

Literatürde bu konuda yapılan çalışma bulunmamakta olup D vitamini, T ve NK hücreler ile ilişkinin araştırıldığı çalışmalar kolorektal kanser vakaları üzerinedir. Prospektif olarak yaptığımız bu çalışmada, pre-malign lezyonlar olarak kabul edilen kolon poliplerinin tiplerinin arasında hipotezimizi doğrulayacak kanıtlara ulaşmasak da hücresel düzeyde, özellikle hücresel immunitede rol alan sitotoksik T lenfositlerin vitamin D reseptörü ekspresyon oranı ile displazi derecesi arasında anlamlı sonuca ulaştık. Bu bağlamda pre-malign lezyonlara karşı gelişen immün yanıtta D vitamini ve reseptörünün de rol aldığı, bu lezyonların saptandığı hastalarda yapılacak D vitamini replasmanının, bu lezyonların maligniteye ilerlemesi konusunda önleyici nitelikte yeri olacağı söylenebilir.

Bu süreçte malign karakterdeki lezyonlar üzerinde de çalışma yapıldı ve anlamlı olarak değerlendirilmesi muhtemel sonuçlara da ulaşıldı. Fakat araştırmanın konusu pre-malign lezyonları kapsadığından ve araştırmanın kolon kanserinden korunma amacı güden bir araştırma olması nedeni ile bu sonuçlara yer verilmedi.

Araştırmayı kısıtlayan en büyük faktörün örneklemin küçük çaplı olmasının olduğunu, daha geniş örneklemeler üzerinde yapılacak olan çalışmaların, bu konuda daha net sonuçlar vereceğini, özellikle diğer T lenfosit alt tipleri ve NK hücrelerin reseptör ekspresyon oranlarında, daha büyük örneklemelerin varlığında, anlamlı sonuçlar elde edilebileceğini düşünmekteyiz.

7.ÖZET

T Lenfosit Ve NK Hücre Popülasyonundaki VDR (Vitamin D Reseptörü) Ekspresyonu İle Kolon Adenomlarında Differansiasyon Arasında İlişki, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Antalya, 2018

Kolon kanserleri, D vitamini eksikliği ile ilişkilendirilen ilk kanser türüdür. Yapılan çok sayıda çalışmada, kolon malign neoplazmalarının gelişim yollarının kontrol noktalarında D vitamininin rol sahibi olduğu, D vitamininin eksikliği tablosunda kontrol mekanizmalarında defektlerin meydana geldiği gösterilmiştir. Ayrıca immün sistemde rol alan T lenfosit ve NK hücrelerin fonksiyonlarının regülasyonunda da yer aldığını gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur.

Biz bu çalışmada pre-malign karakterdeki kolon lezyonlarının varlığı durumunda hastanın serumundaki aktif vitamin D₃ düzeyi ve periferik T ve NK hücrelerindeki VDR ekspresyonunun saptanan pre-malign lezyonun tipi ve displazi düzeyi ile ilişkili olup olmadığını tespit etmek ve vitamin D₃ replasmanının sağlayabileceği potansiyel yararı değerlendirmeyi amaçladık.

Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Gastroenteroloji Polikliniği'ne başvuran ve değişik nedenler ile kolonoskopi endikasyonu konmuş, 18 yaş üstü, kolonoskopi ile polipektomi işlemi uygulanmış hastalar çalışmaya alındı. İşlem esnasında aktif enfeksiyonu bulunan hastalar, otoimmün hastalığı olanlar, son 6 ay içinde herhangi bir sebeple immunomodülatör ilaç kullanan hastalar, kolon malign neoplasm öyküsü olanlar çalışmaya dahil edilmedi. Bu kriterler doğrultusunda çalışmaya toplam 45 hasta dahil edildi. Çalışmaya alınan hastalar eksize edilmiş olan polipin tipine göre 4, (hiperplastik, tübüler, tübülovillöz, villöz) displazi derecesine göre 2 (yüksek dereceli, düşük dereceli) gruba ayrıldı. Çalışmaya katılmayı kabul eden hastalardan, yapılacak işlem hakkında düzenlenmiş bir aydınlatılmış onam formu ile imzaları alınarak, işlem ile eş zamanlı olarak, 5'er ml miktarında bir hemogram tüpü ve bir serum tüpüne periferik kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi

Organ Nakli Araştırma Laboratuvar'ında akış sitometri tekniği ile alınan periferik kan örneğinde bulunan T ve NK hücrelerinde yüzey antijenleri, VDR ekspresyon oranları ve MFI (mean florescence intensity) değerleri; ELISA yöntemi ile aktif ve inaktif vitamin D₃ düzeyleri tayin edildi. Akış sitometri tekniği ile CD3, CD4, CD8, CD14 ve CD56 ekspresyon tayini ile T ve NK hücreleri belirlendi, bu hücrelerde VDR (Vitamin D reseptörü) tayini ile ekspresyon oranları ve MFI değerleri tayin edildi.

Çalışmaya dahil edilen 45 hasta polip tipine göre gruplandırıldığında 8'i hiperplastik polip, 15'i tübüler adenoma, 10'u tübülovillöz adenom ve 12'si villöz adenom grubundaydı. Displazi derecesi açısından yapılan değerlendirmede ise, hiperplastik poliplerin displastik lezyonlar olmaması nedeni ile bu grupta olan popülasyon bu değerlendirmeye alınmadı. Geriye kalan 37 örneğin 8'i yüksek dereceli, 29'u düşük dereceli displazi grubundaydı. Polip tipine göre yapılan gruplandırmada, bütün gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar sonucunda gruplar arasında T ve NK hücrelerin VDR ekspresyon oranı ve intensitesinde; aktif ve inaktif vitamin D₃ düzeyinde anlamlı bir sonuç elde edilmedi(p>0,05)

Displazi derecesine göre yapılan gruplandırmada yapılan değerlendirmede ise VDR+ CD8+ T lenfosit popülasyonunun CD8+ T lenfosit popülasyonuna oranı ise istatistiksel olarak anlamlı olarak sonuçlandı. (p=0,018) Değerlendirilen diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ortaya çıkmadı (p>0,05)

Displastik lezyonlar olan kolon poliplerinin, adenom-karsinom sekansının seyrinde bir çok faktör bulunmaktadır. Kolon malign neoplazmları üzerine yapılan çalışmalarda, D vitamini ve vitamin D reseptörünün rolü gösterilmiştir. Tümöre karşı immune yanıtta rol alan T ve NK hücrelerinin fonksiyonlarında da D vitamininin rolü mevcuttur. Biz bu çalışmamızda, adenom-karsinom sekansının seyrinde farklı noktalarda bulunan polip tipleri olan hiperplastik polip, tübüler adenom, tübülovillöz adenom ve villöz adenom lezyonları ve poliplerin displazi dereceleri ile; hastaların T ve NK hücrelerinin VDR içeriği ve intensitesi, aktif ve inaktif vitamin D₃ düzeyleri arasında bir ilişkinin varlığını araştırdık. Yaptığımız çalışmada sitotoksik T lenfositlerin vitamin D reseptörü ekspresyon oranı ile displazi derecesi arasında anlamlı sonuca ulaştık. Bu bağlamda pre-malign

lezyonlara karşı gelişen immün yanıtta D vitamini ve reseptörünün de rol aldığı, bu lezyonların saptandığı hastalarda yapılacak D vitamini replasmanı ile sağlanabilecek ek anti-inflamatuar etkinliğin bu lezyonların maligniteye ilerlemesi konusunda önleyici nitelikte yeri olacağı söylenebilir.

Özellikle örnek sayısının az olmasının çalışmamızı kısıtlayan en önemli faktör olduğunu, daha geniş örneklem üzerinde yapılacak çalışmaların bu konuda daha net bilgiler sağlayacağı düşüncesindeyiz.

Anahtar kelimeler: Vitamin D, 1,25(OH)D₃, Kolon adenomları, Kolon adenomu, Adenom, T lenfosit, NK hücre, Vitamin D reseptörü, VDR



8.ABSTRACT

RELATIONSHIP BETWEEN DIFFERENTIATION OF COLON POLYPS AND EXPRESSION OF VITAMIN D RECEPTOR (VDR) ON T LYMPHOCYTE AND NK CELLS

Colon cancers are the first type of cancers that are related to vitamin D deficiency. In previous studies, it has been shown that vitamin D has regulatory functions on the pathways of development of colon carcinoma, and there may be defects on these pathways when there is low levels of vitamin in patients. Besides that, there are studies which indicate that vitamin D is also a modulator for T lymphocyte and NK cell functions.

The aim of this study is determination of the relationship between serum levels of active and inactive vitamin D3 levels, expression rate and intensity of VDR on T lymphocytes and NK cells, and type and level of dysplasia of these pre-malignant lesions, and the potential benefits of vitamin D replacement therapy in these patients.

We included 45 patients into the study, with an age over 18 years, and in whom colonoscopy was indicated and had polypectomy. The procedure was performed at the endoscopy unit of the hospital of Akdeniz University, Faculty of Medicine. We excluded patients who had a history of colon cancer, who used any kind of immune-modulator therapy in the late 6 months, who had any auto-immune disease and had active infection at the time of the procedure.

Patients who were included into the study were divided into four groups according to their polyp type and two groups according to level of dysplasia which were reported by the same pathologist at the pathology department. We obtained informed consent forms from patients who accepted to participate in the study. Serum samples were evaluated for VDR expression rate and intensity of T and NK cells. Identification of T lymphocytes and NK cells, and their VDR expression rate(%) and intensity (MFI) were evaluated with flow cytometry at Hospital of Akdeniz University, Research Laboratory of Transplantation. CD3, CD4, CD8, CD14, CD 56 and VDR antibodies were used for this evaluation. We used ELISA technique for active and inactive vitamin D3 level detection.

In the 45 patients who were included into the study, 8 had hyperplastic polyp, 15 had tubulovillous adenoma, 10 had tubulovillous adenoma and 12 had villous adenoma. After all the analyses were performed, we reached the conclusion that when the groups were compared according to the type of polyps, there was not a significant difference in terms of the rate of expression and intensity of VDR on T and NK cells. ($p>0,05$) There wasn't a significant relation between groups for active and inactive vitamin D3 levels. ($p>0,05$)

In the evaluation according to the degree of dysplasia, it was found that there was a significant difference in the ratio of VDR+ CD8+ T lymphocyte to CD8+ T lymphocyte population ($p=0,018$) There wasn't a statistically significant difference between active and inactive vitamin D levels and level of dysplasia in between the groups.

There are a lot of factors which determine the fate of colon adenomas on the adenoma-carcinoma sequence. Previous studies revealed that vitamin D and vitamin D receptor are also considered among these factors. Vitamin D has also a modulator role on the functions of T lymphocytes and NK cells, which are part of the immune system and have anti-tumor activities. In this study, we aimed to find a relationship between adenoma differentiation and VDR expression rate and the intensity of VDR on T lymphocytes and NK cells, and also serum levels of active and inactive vitamin D₃. We didn't find any relationship between test parameters except the level of dysplasia and the ratio of VDR+ CD8+ T lymphocytes to total CD8+ T lymphocytes. We think that the main limiting factor in our study was the small number of samples. We believe that there maybe more significant results with a higher number of samples.

Keywords: Vitamin D, 1,25(OH)D₃, Polyps, Adenomas of colon, Adenoma, T lymphocyte, NK cell, Vitamin D receptor, VDR

KAYNAKÇA

1. Diamond SJ, Enestvedt BK, Jiang Z ve ark. Adenoma detection rate increases with each decade of life after 50 years of age. *Gastrointest Endosc* 2011;74:135–40.
2. Bertelson NL, Kalkbrenner KA, Merchea A ve ark. Colectomy for endoscopically unresectable polyps: how often is it cancer? *Dis Colon Rectum* 2012;55:1111–16.
3. Ahnen DJ. The American College of Gastroenterology Emily Couric Lecture – the adenoma-to-carcinoma sequence revisited: has the era of genetic tailoring finally arrived? *Am J Gastroenterol* 2011; 106:190–98.
4. Vitamin D and 1,25(OH)₂D Regulation of T cells Margherita T. Cantorna 1,2,* , Lindsay Snyder 1, Yang-Ding Lin 1 and Linlin Yang 1.
5. 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ plus gamma-interferon blocks lung tumor production of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and induction of immunosuppressor cells. Young MR1, Halpin J, Wang J, Wright MA, Matthews J, Pak AS.
6. WinawerSJ, ZauberAG, HoMN ve ark.Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med*1993;329:329.
7. ImperialeTF, WagnerDR, LinCY ve ark.Risk of advanced proximal neoplasms in asymptomatic adults according to the distal colorectal findings. *N Engl J Med*2000;343:169.
8. RickertRR, AuerbachO, GarfinkelL ve ark.Adenomatous lesions of the large bowel: an autopsy survey. *Cancer*1979;43:1847.
9. VillavicencioRT, RexDK. Colonic adenomas: prevalence and incidence rates, growth rates, and miss rates at colonoscopy. *Semin Gastrointest Dis*2000;11:185.
10. BurtRW. Screening of patients with a positive family history of colorectal cancer. *Gastrointest Endosc Clin N Am*1997;7:65.
11. LaiyemoAO, DoubeniC, BadurdeenDS ve ark..Obesity, weight change, and risk of adenoma recurrence: a prospective trial. *Endoscopy*2012;44:813.
12. LipkaS, ZhengXE, Hurtado-CordovaJ ve ark.Obesity, metabolic factors, and colorectal adenomas: a retrospective study in a racially diverse New York State Hospital. *J Gastrointest Cancer*2013;44:270.
13. BenQ, AnW, JiangY ve ark.Body mass index increases risk for colorectal adenomas based on meta-analysis. *Gastroenterology*2012;142:762. .
14. OkabayashiK, AshrafianH, HasegawaH ve ark.Body mass index category as a risk factor for colorectal adenomas: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*2012;107:1175. .

15. DominicOG, McGarrityT, DignanM ve ark.American College of Gastroenterology Guidelines for Colorectal Cancer Screening 2008. *Am J Gastroenterol*2009;104:2626.
16. EddiR, KarkiA, ShahA ve ark.Association of type 2 diabetes and colon adenomas. *J Gastrointest Cancer*2012;43:87.
17. SiddiquiAA, MaddurH, NaikS ve ark.The association of elevated HbA1c on the behavior of adenomatous polyps in patients with type-II diabetes mellitus. *Dig Dis Sci*2008;53:1042.
18. Le MarchandL, HankinJH, WilkensLR ve ark.Combined effects of well-done red meat, smoking, and rapid N-acetyltransferase 2 and CYP1A2 phenotypes in increasing colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*2001;10:1259.
19. GiovannucciE, StampferMJ, ColditzG ve ark.Relationship of diet to risk of colorectal adenoma in men. *J Natl Cancer Inst*1992;84:91. .
20. PetersU, SinhaR, ChatterjeeN ve ark.Dietary fibre and colorectal adenoma in a colorectal cancer early detection programme. *Lancet*2003;361:1491.
21. SchatzkinA, LanzaE, CorleD ve ark.Lack of effect of a low-fat, high-fiber diet on the recurrence of colorectal adenomas. Polyp Prevention Trial Study Group. *N Engl J Med*2000;342:1149. .
22. MartinezME, McPhersonRS, LevinB ve ark.A case-control study of dietary intake and other lifestyle risk factors for hyperplastic polyps. *Gastroenterology*1997;113:423.
23. RexDK, AhnenDJ, BaronJA ve ark.Serrated lesions of the colorectum: review and recommendations from an expert panel. *Am J Gastroenterol*2012;107:1315.
24. LashRH, GentaRM, SchulerCM. Sessile serrated adenomas: prevalence of dysplasia and carcinoma in 2139 patients. *J Clin Pathol*2010;63:681.
25. FuB, YachidaS, MorganR ve ark.Clinicopathologic and genetic characterization of traditional serrated adenomas of the colon. *Am J Clin Pathol*2012;138:356.
26. JassJR, BakerK, ZlobecI ve ark.Advanced colorectal polyps with the molecular and morphological features of serrated polyps and adenomas: concept of a “fusion” pathway to colorectal cancer. *Histopathology*2006;49:121.
27. SheridanTB, FentonH, LewinMR ve ark.Sessile serrated adenomas with low- and high-grade dysplasia and early carcinomas: an immunohistochemical study of serrated lesions “caught in the act”. *Am J Clin Pathol*2006;126:564.
28. van der FlierLG, CleversH. Stem cells, self-renewal, and differentiation in the intestinal epithelium. *Annu Rev Physiol*2009;71:241.
29. BarkerN, van EsJH, KuipersJ ve ark.Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. *Nature*2007;449:1003.
30. JungP, SatoT, Merlos-SuarezA ve ark.Isolation and in vitro expansion of human colonic stem cells. *Nat Med*2011;17:1225.
31. VogelsteinB, FearonER, HamiltonSR ve ark.Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med*1988;319:525.

32. ForbesSA, BindalN, BamfordS ve ark.COSMIC: mining complete cancer genomes in the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer. *Nucleic Acids Res*2011;39:D945.
33. YoungJ, BidenKG, SimmsLA ve ark.HPP1: a transmembrane protein-encoding gene commonly methylated in colorectal polyps and cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*2001;98:265.
34. OhK, RedstonM, OdzeRD. Support for hMLH1 and MGMT silencing as a mechanism of tumorigenesis in the hyperplastic-adenoma-carcinoma (serrated) carcinogenic pathway in the colon. *Hum Pathol*2005;36:101.
35. ShimaK, NoshokK, BabaY ve ark.Prognostic significance of CDKN2A (p16) promoter methylation and loss of expression in 902 colorectal cancers: cohort study and literature review. *Int J Cancer*2011;128:1080.
36. LiH, MyeroffL, SmiragliaD ve ark.SLC5A8, a sodium transporter, is a tumor suppressor gene silenced by methylation in human colon aberrant crypt foci and cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*2003;100:8412.
37. KonishiF, MorsonBC. Pathology of colorectal adenomas: a colonoscopic survey. *J Clin Pathol*1982;35:830.
38. MutoT, BusseyHJ, MorsonBC. The evolution of cancer of the colon and rectum. *Cancer*1975;36:2251. .
39. YangG, ZhengW, SunQR ve ark.Pathologic features of initial adenomas as predictors for metachronous adenomas of the rectum. *J Natl Cancer Inst*1998;90:1616.
40. TorlakovicE, SkovlundE, SnoverDC ve ark.Morphologic reappraisal of serrated colorectal polyps. *Am J Surg Pathol*2003;27:65.
41. WayeJD, LewisBS, FrankelA ve ark.Small colon polyps. *Am J Gastroenterol*1988;83:120.
42. HiraokaS, KatoJ, FujikiS ve ark.The presence of large serrated polyps increases risk for colorectal cancer. *Gastroenterology*2010;139:1503.
43. TorlakovicEE, GomezJD, DrimanDK ve ark.Sessile serrated adenoma (SSA) vs. traditional serrated adenoma (TSA). *Am J Surg Pathol*2008;32:21.
44. HaugU, HundtS, BrennerH. Quantitative immunochemical fecal occult blood testing for colorectal adenoma detection: evaluation in the target population of screening and comparison with qualitative tests. *Am J Gastroenterol*2010;105:682.
45. SobinLH. The histopathology of bleeding from polyps and carcinomas of the large intestine. *Cancer*1985;55:577.
46. HussienM, GardinerK. Benign neoplastic polyp of the caecum as a rare cause of intussusception in adults. *Ulster Med J*1999;68:108.
47. MorsonB. President's address. The polyp-cancer sequence in the large bowel. *Proc R Soc Med*1974;67:451.
48. HaoX, FraylingIM, WillcocksTC ve ark.Beta-catenin expression and allelic loss at APC in sporadic colorectal carcinogenesis. *Virchows Archiv*2002;440:362.
49. De BenedettiL, ScialleroS, GismondiV ve ark.Association of APC gene mutations and histological characteristics of colorectal adenomas. *Cancer Res*1994;54:3553.

50. Jen J, Powell SM, Papadopoulos N ve ark. Molecular determinants of dysplasia in colorectal lesions. *Cancer Res* 1994;54:5523.
51. Towler B, Irwig L, Glasziou P ve ark. A systematic review of the effects of screening for colorectal cancer using the faecal occult blood test, hemoccult. *BMJ* 1998;317:559.
52. Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH ve ark. Fecal DNA versus fecal occult blood for colorectal-cancer screening in an average-risk population. *N Engl J Med* 2004;351:2704.
53. Rex DK. Maximizing detection of adenomas and cancers during colonoscopy. *Am J Gastroenterol* 2006;101:2866.
54. Rex DK, Petrini JL, Baron TH ve ark. Quality indicators for colonoscopy. *Am J Gastroenterol* 2006;101:873.
55. Kaminski MF, Regula J, Kraszewska E ve ark. Quality indicators for colonoscopy and the risk of interval cancer. *N Engl J Med* 2010;362:1795.
56. Johnson CD, Dachman AH. CT colonography: the next colon screening examination? *Radiology* 2000;216:331.
57. van Dam J, Cotton P, Johnson CD ve ark. AGA future trends report: CT colonography. *Gastroenterology* 2004;127:970.
58. Halligan S, Altman DG, Taylor SA ve ark. CT colonography in the detection of colorectal polyps and cancer: systematic review, meta-analysis, and proposed minimum data set for study level reporting. *Radiology* 2005;237:893.
59. Winawer SJ, Zauber AG, Fletcher RH ve ark. Guidelines for colonoscopy surveillance after polypectomy: a consensus update by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer and the American Cancer Society. *CA Cancer J Clin* 2006;56:143.
60. Mongin C, Coulet F, Lefevre JH ve ark. Unexplained polyposis: a challenge for geneticists, pathologists and gastroenterologists. *Clin Genet* 2012;81:38.
61. Garcia KC, Teyton L, Wilson IA: Structural basis of T cell recognition. *Annu Rev Immunol* 17:369–397, 1999.
62. O'Brien RL, Born WK: $\gamma\delta$ T cell subsets: A link between TCR and function? *Semin Immunol* 22:193–198, 2010.
63. Chodaczek G, Papanna V, Zal MA, Zal T: Body-barrier surveillance by epidermal $\gamma\delta$ TCRs. *Nat Immunol* 13:272–282, 2012.
64. Ferreira LM: Gammadelta T cells: Innately adaptive immune cells? *Int Rev Immunol* 32:223–248, 2013.
65. Godfrey DI, Rossjohn J, McCluskey J: The fidelity, occasional promiscuity, and versatility of T cell receptor recognition. *Immunity* 28:304–314, 2008.
66. Macian F: NFAT proteins: Key regulators of T-cell development and function. *Nat Rev Immunol* 5:472–484, 2005.
67. McClanahan F., Gribben J. "Functions of T Lymphocytes: T-Cell Receptors for Antigen." *Williams Hematology*, by Kenneth Kaushansky, McGraw Hill, 2015.
68. Ashorn PA, Berger EA, Moss B: Human immunodeficiency virus envelope glycoprotein/CD4-mediated fusion of nonprimate cells with human cells. *J Virol* 64:2149–2156, 1990.

69. Singer A, Adoro S, Park J-H: Lineage fate and intense debate: Myths, models and mechanisms of CD4- versus CD8-lineage choice. *Nat Rev Immunol* 8:788–801, 2008.
70. Kidd P: Th1/Th2 balance: The hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern Med Rev* 8:223–246, 2003.
71. Zhu J, Paul WE: Peripheral CD4+ T-cell differentiation regulated by networks of cytokines and transcription factors. *Immunol Rev* 238:247–262, 2010.
72. D’Elios MM, Amedei A, Benaglio M, et al: Helicobacter pylori, T cells and cytokines: The “dangerous liaisons.” *FEMS Immunol Med Microbiol* 44:113–119, 2005.
73. Annunziato F, Cosmi L, Galli G, et al: Assessment of chemokine receptor expression by human Th1 and Th2 cells in vitro and in vivo. *J Leukoc Biol* 65:691–699, 1999.
74. Vignali DA, Collison LW, Workman CJ: How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol* 8:523–532, 2008.
75. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M: Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell* 133:775–787, 2008.
76. Rudensky AY: Regulatory T cells and Foxp3. *Immunol Rev* 241:260–268, 2011.
77. Fu W, Ergun A, Lu T, et al: A multiply redundant genetic switch “locks in” the transcriptional signature of regulatory T cells. *Nat Immunol* 13:972–980, 2012.
78. Fontenot JD, Rasmussen JP, Gavin MA, Rudensky AY: A function for interleukin 2 in Foxp3-expressing regulatory T cells. *Nat Immunol* 6:1142–1151, 2005.
79. Sakaguchi S, Miyara M, Costantino CM, Hafler DA: FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system. *Nat Rev Immunol* 10:490–500, 2010.
80. Garín MI, Chu C-C, Golshayan D, et al: Galectin-1: A key effector of regulation mediated by CD4+CD25+ T cells. *Blood* 109:2058–2065, 2007.
81. Liu H, Yang PS, Zhu T, et al: Characterization of fibrinogen-like protein 2 (FGL2): Monomeric FGL2 has enhanced immunosuppressive activity in comparison to oligomeric FGL2. *Int J Biochem Cell Biol* 45:408–418, 2013.
82. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK: IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol* 27:485–517, 2009.
83. McGeachy MJ, Chen Y, Tato CM, et al: The interleukin 23 receptor is essential for the terminal differentiation of interleukin 17-producing effector T helper cells in vivo. *Nat Immunol* 10:314–324, 2009.
84. Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y: The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. *Immunity* 28:454–467, 2008.
85. Iwakura Y, Nakae S, Saijo S, Ishigame H: The roles of IL-17A in inflammatory immune responses and host defense against pathogens. *Immunol Rev* 226:57–79, 2008.
86. Miossec P, Korn T, Kuchroo VK: Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *N Engl J Med* 361:888–898, 2009.

87. Crotty S: Follicular helper CD4 T cells (TFH). *Annu Rev Immunol* 29:621–663, 2011.
88. Jager A, Kuchroo VK: Effector and regulatory T-cell subsets in autoimmunity and tissue inflammation. *Scand J Immunol* 72:173–184, 2010.
89. Jones CP, Gregory LG, Causton B, et al: Activin A and TGF- β promote T(H)9 cell-mediated pulmonary allergic pathology. *J Allergy Clin Immunol* 129:1000–1010.e3, 2012.
90. Plebanski M, Saunders M, Burtles SS, et al: Primary and secondary human in vitro T-cell responses to soluble antigens are mediated by subsets bearing different CD45 isoforms. *Immunology* 75:86–91, 1992.
91. Spits H, Artis D, Colonna M, et al: Innate lymphoid cells—A proposal for uniform nomenclature. *Nat Rev Immunol* 13:145–149, 2013.
92. Chowdhury D, Lieberman J: Death by a thousand cuts: Granzyme pathways of programmed cell death. *Annu Rev Immunol* 26:389–420, 2008.
93. Vosshenrich CA, Di Santo JP: Developmental programming of natural killer and innate lymphoid cells. *Curr Opin Immunol* 25:130–138, 2013.
94. Perussia B, Acuto O, Terhorst C, et al: Human natural killer cells analyzed by B73.1, a monoclonal antibody blocking Fc receptor functions. II. Studies of B73.1 antibody-antigen interaction on the lymphocyte membrane. *J Immunol* 130:2142–2148, 1983. .
95. Caligiuri MA: Human natural killer cells. *Blood* 112:461–469, 2008.
96. Raulet DH, Gasser S, Gowen BG, et al: Regulation of ligands for the NKG2D activating receptor. *Annu Rev Immunol* 31:413–441, 2013.
97. Vivier E, Raulet DH, Moretta A, et al: Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science* 331:44–49, 2011.
98. Karre K, Ljunggren HG, Piontek G, et al: Selective rejection of H-2-deficient lymphoma variants suggests alternative immune defence strategy. *Nature* 319:675–678, 1986.
99. Hansen TH, Bouvier M: MHC class I antigen presentation: Learning from viral evasion strategies. *Nat Rev Immunol* 9:503–513, 2009.
100. Garcia-Lora A, Algarra I, Garrido F: MHC class I antigens, immune surveillance, and tumor immune escape. *J Cell Physiol* 195:346–355, 2003.
101. Santoli D, Trinchieri G, Koprowski H: Cell-mediated cytotoxicity in humans against virus-infected target cells. II. Interferon induction and activation of natural killer cells. *J Immunol* 121:532–538, 1978.
102. Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, et al: Natural killer cells in antiviral defense: Function and regulation by innate cytokines. *Annu Rev Immunol* 17:189–220, 1999.
103. Waggoner SN, Cornberg M, Selin LK, et al: Natural killer cells act as rheostats modulating antiviral T cells. *Nature* 481:394–398, 2011.
104. Trinchieri G: Biology of natural killer cells. *Adv Immunol* 47:187–376, 1989.
105. Gerosa F, Gobbi A, Zorzi P, et al: The reciprocal interaction of NK cells with plasmacytoid or myeloid dendritic cells profoundly affects innate resistance functions. *J Immunol* 174:727–734, 2005.

106. Hoenderop JGJ, Nilius B, Bindels RJM. Calcium absorption across epithelia. *Physiol Rev* 2005;85(1):373–422.
107. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology* 1998;139(3):1329–37. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Mochizuki SI, Yano K, Fujise N, Sato Y, Goto M, Yamaguchi K, Kuriyama M, Kanno T, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K.
108. Normocalcemia is maintained in mice under conditions of calcium malabsorption by vitamin D-induced inhibition of bone mineralization. *J Clin Invest* 2012;122(5):1803–15. Lieben L, Masuyama R, Torrekens S, Van Looveren R, Schrooten J, Baatsen P, Lafage-Proust MH, Dresselaers T, Feng JQ, Bonewald LF, Meyer MB, Pike JW, Bouillon R, Carmeliet G.
109. Johnson JA, Kumar R. Vitamin D and renal calcium transport. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1994;3:424–9.
110. A randomized clinical trial of the effects of supplemental calcium and vitamin D3 on the APC/ β -catenin pathway in the normal mucosa of colorectal adenoma patients Thomas U. Ahearn^{1,4}, Aa.
111. Alvarez-Díaz S, Valle N, García JM, Peña C, Freije JM, Quesada V, Astudillo A, Bonilla F, López-Otín C, Muñoz A. Cystatin D is a candidate tumor suppressor gene induced by vitamin D in human colon cancer cells. *J Clin Invest* 2009.
112. Wei M, Garland C, Gorham E, Mohr S, Giovannucci E. Vitamin D and prevention of colorectal adenoma: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17:2958–69.
113. 1-Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 684-700 .
114. Vitamin D(3) promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of beta-catenin signaling. *J Cell Biol* 2001; 154: 369-387 . Pálmer HG, González-Sancho JM, Espada J, Berciano MT, Puig I, Baulida J, Quintanilla M, Cano A, de Herreros AG, Lafarga M, Muñoz A.
115. Kumagai T, O'Kelly J, Said JW, Koeffler HP. Vitamin D2 analog 19-nor-1,25-dihydroxyvitamin D2: antitumor activity against leukemia, myeloma, and colon cancer cells. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 896-905 .
116. The transcription factor SNAIL represses vitamin D receptor expression and responsiveness in human colon cancer. *Nat Med* 2004; 10: 917-919 . Pálmer HG, Larriba MJ, García JM, Ordóñez-Morán P, Peña C, Peiró S, Puig I, Rodríguez R, de la Fuente R, Bernad A, Pollán M, Bonilla F, Gamallo C, de Herreros AG, Muñoz A.
117. Nürnberg B, Gräber S, Gärtner B, Geisel J, Pföhler C, Schadendorf D, Tilgen W, Reichrath J. Reduced serum 25-hydroxyvitamin D levels in stage IV melanoma patients. *Anticancer Res* 2009; 29: 3669-3674 .
118. Feldman D, Krishnan AV, Swami S, Giovannucci E, Feldman BJ. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nat Rev Cancer* 2014; 14: 342-357 .

119. Villena-Heinsen C, Meyberg R, Axt-Fliedner R, Reitnauer K, Reichrath J, Friedrich M. Immunohistochemical analysis of 1,25-dihydroxyvitamin-D₃-receptors, estrogen and progesterone receptors and Ki-67 in ovarian carcinoma. *Anticancer Res* 2002;22:2261–7.
120. Vitamin D receptor expression and associated gene signature in tumour stromal fibroblasts predict clinical outcome in colorectal cancer. *Gut* 2016. Ferrer-Mayorga G, Gomez-Lopez G, Barbachano A, FernandezBarral A, Pena C, Pisano DG, Cantero R, Rojo F, Munoz A, Larriba MJ.
121. O'Dwyer PJ, Liddle C, Tuveson DA, Downes M, Evans RM. Vitamin D receptor-mediated stromal reprogramming suppresses pancreatitis and enhances pancreatic cancer therapy. *Cell* 2014;159:80–93. Sherman MH, Yu RT, Engle DD, Ding N, Atkins AR, Tiriach H, Collisson EA, Connor F, Van Dyke T, Kozlov S, Martin P, Tseng TW, Dawson DW, Donahue TR, Masamune A, Shimosegawa T, Apte MV, Wilson JS, Ng B, Lau SL, Gunton JE, Wahl GM, Hunter T, Drebin JA,.
122. Duran A, Hernandez ED, Reina-Campos M, Castilla EA, Subramaniam S, Raghunandan S, Roberts LR, Kisseleva T, Karin M, Diaz-Meco MT, Moscat J. p62/SQSTM1 by binding to vitamin D receptor inhibits hepatic stellate cell activity, fibrosis, and liver cancer. *Vols. Cancer Cell* 2016;30:595–609.
123. Randomized clinical trial of vitamin D₃ doses on prostatic vitamin D metabolite levels and ki67 labeling in prostate cancer patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;1498–507. . Wagner DTD, Van der Kwast T, Nonn L, Giangreco AA, Li D, Dias A, Cardoza M, Laszlo S, Hersey K, Klotz L, Finelli A, Fleshner N, Vieth R.
124. Qi X, Pramanik R, Wang J, Schultz RM, Maitra RK, Han J, DeLuca HF, Chen G. The p38 and JNK pathways cooperate to trans-activate vitamin D receptor via c-Jun/AP-1 and sensitize human breast cancer cells to vitamin D(3)-induced growth inhibition. *Vols. J Biol Chem* 2002:25884–92. .
125. Bi XSQ, Zhang H, Bao Y, Hu D, Pohl N, Fang W, Dong H, Xia X, Fan D, Yang W. c-Jun NH₂-terminal kinase 1 interacts with vitamin D receptor and affects vitamin D-mediated inhibition of cancer cell proliferation. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2016:164–72.
126. Ma Y, Johnson CS, Trump DL. Mechanistic insights of vitamin D anticancer effects. *Vitam Horm* 2016;100:395–431.
127. Shokravi MT, Marcus DM, Alroy J, Egan K, Saornil MA, Albert DM. Vitamin D inhibits angiogenesis in transgenic murine retinoblastoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:83–7.
128. Hansen CM, Frandsen TL, Brunner N, Binderup L. 1 alpha,25-Dihydroxyvitamin D₃ inhibits the invasive potential of human breast cancer cells in vitro. *Clin Exp Metastasis* 1994;12:195–202.
129. Wilmanski T, Barnard A, Parikh MR, Kirshner J, Buhman K, Burgess J, Teegarden D. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D inhibits the metastatic capability of MCF10CA1a and MDA-MB-231 cells in an in vitro model of breast to bone metastasis. *Nutr Cancer* 2016:1202–9. .

130. Young MR, Ihm J, Lozano Y, Wright MA, Prechel MM. Treating tumor-bearing mice with vitamin D3 diminishes tumor-induced myelopoiesis and associated immunosuppression, and reduces tumor metastasis and recurrence. *Cancer Immunol Immunother* 1995;41:37–45.
131. Handel AE, Sandve GK, Disanto G, Berlanga-Taylor AJ, Gallone G, Hanwell H, Drabløs F, Giovannoni G, Ebers GC, Ramagopalan SV. Vitamin D receptor ChIP-seq in primary CD4+ cells: relationship to serum 25-hydroxyvitamin D levels and autoimmune disease. *BMC Med* 2013;11:163.
132. von Essen MR, Kongsbak M, Schjerling P, Olgaard K, Odum N, Geisler C. Vitamin D controls T cell antigen receptor signaling and activation of human T cells. *Nat Immunol* 2010;11:344–9.
133. Boonstra A, Barrat FJ, Crain C, Heath VL, Savelkoul HF, O'Garra A. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin d3 has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol* 2001 and 167:4974–80.
134. Pichler J, Gerstmayr M, Szepfalusi Z, Urbanek R, Peterlik M, Willheim M. 1 α ,25(OH)2D3 inhibits not only Th1 but also Th2 differentiation in human cord blood T cells. *Pediatr Res* 2002 and 52:12–8.
135. Lloyd CM, Hessel EM. Functions of T cells in asthma: more than just T(H)2 cells. *Nat Rev Immunol* 2010;10:838–48.
136. Lysandropoulos AP, Jaquiere E, Jilek S, Pantaleo G, Schlupe M, Du Pasquier RA. Vitamin D has a direct immunomodulatory effect on CD8+ T cells of patients with early multiple sclerosis and healthy control subjects. *J Neuroimmunol* 2011;233:240–4.
137. 1,25D3 prevents CD8(+)Tc2 skewing and asthma development through VDR binding changes to the Cyp11a1 promoter. *Nat Commun* 2016;7:10213. Schedel M, Jia Y, Michel S, Takeda K, Domenico J, Joetham A, Ning F, Strand M, Han J, Wang M, Lucas JJ, Vogelberg C, Kabesch M, O'Connor BP, Gelfand EW.
138. Dyring-Andersen B, Bonefeld CM, Bzorek M, Lovendorf MB, Lauritsen JP, Skov L, Geisler C. The vitamin D analogue calcipotriol reduces the frequency of CD8+ IL-17+ T cells in psoriasis lesions. *Scand J Immunol* 2015;82:84–91.
139. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 plus γ -Interferon Blocks Lung Tumor Production of Granulocyte-Macrophage Colony-stimulating Factor and Induction of Immunosuppressor Cells. *Cancer research*. 53. 6006-10. R. I. Young, M & Halpin, J & Wang, J & A Wright, M & Matthews, J & S Pak, A.
140. Chen L, Cencioni MT, Angelini DF, Borsellino G, Battistini L, Brosnan CF. Transcriptional profiling of T cells identifies a role for vitamin D in the immunoregulation of the V 9V 2 response to phosphate-containing ligands. *J Immunol* 2005 and 174:6144–52.
141. Lloyd CM, Hawrylowicz CM. Regulatory T cells in asthma. *Immunity* 2009;31:438–49.
142. Chambers ES, Hawrylowicz CM. The impact of vitamin D on regulatory T cells. *Curr Allergy Asthma Rep* 2011;11:29–36.
143. T-regulatory cells shift from a protective anti-inflammatory to a cancer-promoting proinflammatory phenotype in polyposis. Gounaris, E, Blatner, NR,

- Dennis, K, Magnusson, F, Gurish, MF, Strom, TB, Beckhove, P, Gounari, F & Khazaie, K 2009. s.l. : Cancer Research, vol. 69, no. 13, pp. 5490-5497.
144. Mann EH, Chambers ES, Chen YH, Richards DF, Hawrylowicz CM. 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 acts via TGFbeta to upregulate expression of immunosuppressive CD73 on human CD4+Foxp3negative T cells. *Immunology* 2015.
145. Urry Z, Xystrakis E, Richards DF, McDonald J, Sattar Z, Cousins DJ, Corrigan CJ, Hickman E, Brown Z, Hawrylowicz CM. Ligation of TLR9 induced on human IL-10-secreting Tregs by 1alpha,25dihydroxyvitamin D3 abrogates regulatory function. *Vols. J Clin Invest* 2009;119:387–98.
146. LiebermanDA, WeissDG, BondJH ve ark.Use of colonoscopy to screen asymptomatic adults for colorectal cancer. Veterans Affairs Cooperative Study Group 380. *N Engl J Med*2000;343:162.
147. PickhardtPJ, ChoiJR, HwangI ve ark.Computed tomographic virtual colonoscopy to screen for colorectal neoplasia in asymptomatic adults. *N Engl J Med*2003;349:2191.
148. HoffG, FoersterA, VatnMH ve ark.Epidemiology of polyps in the rectum and colon. Recovery and evaluation of unresected polyps 2 years after detection. *Scand J Gastroenterol*1986;21:853.
149. BonelliL, MartinesH, ConioM ve ark.Family history of colorectal cancer as a risk factor for benign and malignant tumours of the large bowel. A case-control study. *Int J Cancer*1988;41:513. .
150. Cannon-AlbrightLA, SkolnickMH, BishopDT ve ark.Common inheritance of susceptibility to colonic adenomatous polyps and associated colorectal cancers. *N Engl J Med*1988;319:533.
151. GuillemJG, FordeKA, TreatMR ve ark.Colonoscopy screening for neoplasms in asymptomatic first-degree relatives of colon cancer patients. A controlled, prospective study. *Dis Colon Rectum*1992;35:523.
152. MaireP, Morichau-BeauchantM, DruckerJ ve ark.[Familial occurrence of cancer of the colon and the rectum: results of a 3-year case-control survey]. *Gastroenterol Clin Biol*1984;8:22.
153. KayeGI, FenoglioCM, PascalRR ve ark.Comparative electron microscopic features of normal, hyperplastic, and adenomatous human colonic epithelium. Variations in cellular structure relative to the process of epithelial differentiation. *Gastroenterology*1973;6.
154. MaskensAP. Histogenesis of adenomatous polyps in the human large intestine. *Gastroenterology*1979;77:1245.
155. EkelundG, LindstromC. Histopathological analysis of benign polyps in patients with carcinoma of the colon and rectum. *Gut*1974;15:654.
156. KonishiF, MorsonBC. Pathology of colorectal adenomas: a colonoscopic survey. *J Clin Pathol*1982;35:830. .
157. PretlowTP. Aberrant crypt foci and K-ras mutations: earliest recognized players or innocent bystanders in colon carcinogenesis?*Gastroenterology*1995;108:600.

158. VogelsteinB, KinzlerKW. The Genetic Basis of Human Cancer. New York: McGraw-Hill, 2002.
159. ThibodeauSN, BrenG, SchaidD. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science*1993;260:816.
160. IonovY, PeinadoMA, MalkhosyanS ve ark.Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature*1993;363:558.
161. AaltonenLA, PeltomakiP, LeachFS ve ark.Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science*1993;260:812.
162. PapadopoulosN, NicolaidesNC, WeiYF ve ark.Mutation of a mutL homolog in hereditary colon cancer. *Science*1994;263:1625.
163. BronnerCE, BakerSM, MorrisonPT ve ark.Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH1 is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. *Nature*1994;368:258.
164. LeachFS, NicolaidesNC, PapadopoulosN ve ark.Mutations of a mutS homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cell*1993;75:1215.
165. FishelR, LescoeMK, RaoMR ve ark.The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell*1993;75:1027.
166. AbeY, MasudaH. Genetic alterations of sporadic colorectal cancer with microsatellite instability, especially characteristics of primary multiple colorectal cancers. *J Surg Oncol*2000;74:249.
167. DuvalA, HamelinR. Mutations at coding repeat sequences in mismatch repair-deficient human cancers: toward a new concept of target genes for instability. *Cancer Res*2002;62:2447.
168. IssaJP. CpG island methylator phenotype in cancer. *Nat Rev Cancer*2004;4:988.
169. OginoS, CantorM, KawasakiT ve ark.CpG island methylator phenotype (CIMP) of colorectal cancer is best characterised by quantitative DNA methylation analysis and prospective cohort studies. *Gut*2006;55:1000. .
170. ToyotaM, AhujaN, Ohe-ToyotaM ve ark.CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*1999;96:8681.
171. ColditzGA, CannuscioCC, FrazierAL. Physical activity and reduced risk of colon cancer: implications for prevention. *Cancer Causes Control*1997;8:649. .
172. FordES. Body mass index and colon cancer in a national sample of adult US men and women. *Am J Epidemiol*1999;150:390. .
173. MaJ, PollakMN, GiovannucciE ve ark.Prospective study of colorectal cancer risk in men and plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3. *J Natl Cancer Inst*1999;91:620.
174. SandhuMS, DungerDB, GiovannucciEL. Insulin, insulin-like growth factor-I (IGF-I), IGF binding proteins, their biologic interactions, and colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst*2002;94:972. .
175. GiovannucciE. Epidemiologic studies of folate and colorectal neoplasia: a review. *J Nutr*2002;132(8 Suppl):2350S.

176. ZismanAL, NickolovA, BrandRE ve ark.Associations between the age at diagnosis and location of colorectal cancer and the use of alcohol and tobacco: implications for screening. *Arch Intern Med*2006;166:629.
177. MartinezME, McPhersonRS, AnnegersJF ve ark.Cigarette smoking and alcohol consumption as risk factors for colorectal adenomatous polyps. *J Natl Cancer Inst*1995;87:274.
178. BianchiniF, KaaksR, VainioH. Weight control and physical activity in cancer prevention. *Obes Rev*2002;3:5.
179. BotteriE, IodiceS, BagnardiV ve ark.Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA*2008;300:2765.
180. BotteriE, IodiceS, RaimondiS ve ark.Cigarette smoking and adenomatous polyps: a meta-analysis. *Gastroenterology*2008;134:388.
181. SlatteryML, CurtinK, MaK ve ark.Diet activity, and lifestyle associations with p53 mutations in colon tumors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*2002;11:541.
182. VogelsteinB, PapadopoulosN, VelculescuVE ve ark.Cancer genome landscapes. *Science*2013;339:1546.
183. SlatteryML, SorensonAW, MahoneyAW ve ark.Diet and colon cancer: assessment of risk by fiber type and food source. *J Natl Cancer Inst*1988;80:1474.
184. AlmendingenK, TryggK, LarsenS ve ark.Dietary factors and colorectal polyps: a case-control study. *Eur J Cancer Prev*1995;4:239.
185. MacLennanR, MacraeF, BainC ve ark.Randomized trial of intake of fat, fiber, and beta carotene to prevent colorectal adenomas. *J Natl Cancer Inst*1995;87:1760. .
186. DeCosseJJ, MillerHH, LesserML. Effect of wheat fiber and vitamins C and E on rectal polyps in patients with familial adenomatous polyposis. *J Natl Cancer Inst*1989;81:1290. .
187. RexDK, GoldblumJR. Pro: villous elements and high-grade dysplasia help guide post-polypectomy colonoscopic surveillance. *Am J Gastroenterol*2008;103:1327.
188. AppelmanHD. Con: high-grade dysplasia and villous features should not be part of the routine diagnosis of colorectal adenomas. *Am J Gastroenterol*2008;103:1329. .
189. BlumensteinI, TackeW, BockH ve ark.Prevalence of colorectal cancer and its precursor lesions in symptomatic and asymptomatic patients undergoing total colonoscopy: results of a large prospective, multicenter, controlled endoscopy study. *Eur J Gastroentero.*
190. RexDK, LehmanGA, UlbrightTM ve ark.Colonic neoplasia in asymptomatic persons with negative fecal occult blood tests: influence of age, gender, and family history. *Am J Gastroenterol*1993;88:825.
191. KoningGG, RensmaPL, van Milligen de WitAW ve ark.In-one-continuity rectal excision and anal mucosectomy of a giant villous adenoma: an alternative surgical approach. *Case Rep Gastroenterol*2008;2:175.
192. TutaLA, BosoteanuM, DeacuM ve ark.McKittrick-Wheelock syndrome: a rare etiology of acute renal failure associated to well-differentiated

- adenocarcinoma (G1) arising within a villous adenoma. *Rom J Morphol Embryol*2011;52(3 Suppl):1153.
193. KnoernschildHE. Growth rate and malignant potential of colonic polyps: early results. *Surg Forum*1963;14:137.
194. KozukaS, NogakiM, OzekiT ve ark.Premalignancy of the mucosal polyp in the large intestine: II. Estimation of the periods required for malignant transformation of mucosal polyps. *Dis Colon Rectum*1975;18:494.
195. FearonER, HamiltonSR, VogelsteinB. Clonal analysis of human colorectal tumors. *Science*1987;238:193.
196. HamiltonSR. The molecular genetics of colorectal neoplasia. *Gastroenterology*1993;105:3.
197. FarrarWD, SawhneyMS, NelsonDB ve ark.Colorectal cancers found after a complete colonoscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol*2006;4:1259.
198. GiarettiW, VenesioT, PrevostoC ve ark.Chromosomal instability and APC gene mutations in human sporadic colorectal adenomas. *J Pathol*2004;204:193.
199. SmithAJ, SternHS, PennerM ve ark.Somatic APC and K-ras codon 12 mutations in aberrant crypt foci from human colons. *Cancer Res*1994;54:5527.
200. MandelJS, BondJH, ChurchTR ve ark.Reducing mortality from colorectal cancer by screening for fecal occult blood. Minnesota Colon Cancer Control Study. *N Engl J Med*1993;328:1365.
201. KronborgO, FengerC, OlsenJ ve ark.Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test. *Lancet*1996;348:1467.
202. HardcastleJD, ChamberlainJO, RobinsonMH ve ark.Randomised controlled trial of faecal-occult-blood screening for colorectal cancer. *Lancet*1996;348:1472.
203. Canadian Task Force on Preventive Health Care. Colorectal Cancer Screening. Recommendation statement from the Canadian Task Force on Preventive Health Care. *CMAJ*2001;165:206.
204. van RossumLG, van RijnAF, LaheijRJ ve ark.Random comparison of guaiac and immunochemical fecal occult blood tests for colorectal cancer in a screening population. *Gastroenterology*2008;135:82.
205. HolL, WilschutJA, van BallegooijenM ve ark.Screening for colorectal cancer: random comparison of guaiac and immunochemical faecal occult blood testing at different cut-off levels. *Br J Cancer*2009;100:1103.
206. WayeJD, LewisBS, YessayanS. Colonoscopy: a prospective report of complications. *J Clin Gastroenterol*1992;15:347.
207. MacraeFA, TanKG, WilliamsCB. Towards safer colonoscopy: a report on the complications of 5000 diagnostic or therapeutic colonoscopies. *Gut*1983;24:376.
208. RexDK, CutlerCS, LemmelGT ve ark.Colonoscopy miss rates of adenomas determined by back-to-back colonoscopies. *Gastroenterology*1997;112:24.
209. HixsonLJ, FennertyMB, SamplinerRE ve ark.Prospective blinded trial of the colonoscopic miss-rate of large colorectal polyps. *Gastrointest Endosc*1991;37:125.

210. Van Gelder RE, Nio CY, Florie J ve ark. Computed tomographic colonography compared with colonoscopy in patients at increased risk for colorectal cancer. *Gastroenterology* 2004;127:41.
211. Pickhardt PJ, Nugent PA, Mysliwiec PA ve ark. Location of adenomas missed by optical colonoscopy. *Ann Intern Med* 2004;141:352.
212. Bressler B, Paszat LF, Chen Z ve ark. Rates of new or missed colorectal cancers after colonoscopy and their risk factors: a population-based analysis. *Gastroenterology* 2007;132:96.
213. Bressler B, Paszat LF, Vinden C ve ark. Colonoscopic miss rates for right-sided colon cancer: a population-based analysis. *Gastroenterology* 2004;127:452.
214. Carr NJ, Mahajan H, Tan KL ve ark. Serrated and non-serrated polyps of the colorectum: their prevalence in an unselected case series and correlation of BRAF mutation analysis with the diagnosis of sessile serrated adenoma. *J Clin Pathol* 2009;62:516. .
215. Higuchi T, Sugihara K, Jass JR. Demographic and pathological characteristics of serrated polyps of colorectum. *Histopathology* 2005;47:32. .
216. Lu FI, van Niekerk de W, Owen D ve ark. Longitudinal outcome study of sessile serrated adenomas of the colorectum: an increased risk for subsequent right-sided colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2010;34:927.
217. Lane N, Kaplan H, Pascal RR. Minute adenomatous and hyperplastic polyps of the colon: divergent patterns of epithelial growth with specific associated mesenchymal changes. Contrasting roles in the pathogenesis of carcinoma. *Gastroenterology* 1971;60:537.
218. East JE, Saunders BP, Jass JR. Sporadic and syndromic hyperplastic polyps and serrated adenomas of the colon: classification, molecular genetics, natural history, and clinical management. *Gastroenterol Clin North Am* 2008;37:25.
219. Noffsinger AE, Hart J. Serrated adenoma: a distinct form of non-polypoid colorectal neoplasia? *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2010;20:543.
220. Owens SR, Chiosea SI, Kuan SF. Selective expression of gastric mucin MUC6 in colonic sessile serrated adenoma but not in hyperplastic polyp aids in morphological diagnosis of serrated polyps. *Mod Pathol* 2008;21:660.
221. Chlumská A, Boudová L, Zamečník M. Sessile serrated adenomas of the large bowel. Clinicopathologic and immunohistochemical study including comparison with common hyperplastic polyps and adenomas. *Cesk Patol* 2006;42:133.
222. Zinkernagel RM, Doherty PC: Immunological surveillance against altered self components by sensitised T lymphocytes in lymphocytic choriomeningitis. *Nature* 251: 547–548, 1974.
223. Zinkernagel RM, Doherty PC: Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. *Nature* 248:701–702, 1974.
224. Barral DC, Brenner MB: CD1 antigen presentation: How it works. *Nat Rev Immunol* 7:929–941, 2007.
225. Cohen NR, Garg S, Brenner MB: Antigen presentation by CD1: Lipids, T Cells, and NKT cells in microbial immunity, in *Advances in Immunology*, edited by Frederick WA, pp 1–94.: Academic Press, 102:1–94, 2009.

226. Furst DE, Emery P: Rheumatoid arthritis pathophysiology: Update on emerging cytokine and cytokine-associated cell targets. *Rheumatology* 53:1560–1569, 2014.
227. Martin JC, Baeten DL, Josien R: Emerging role of IL-17 and Th17 cells in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol* 154:1–12, 2014.
228. Sie C, Korn T, Mitsdoerffer M: Th17 cells in central nervous system autoimmunity. *Exp Neurol* 262 Pt A:18–27, 2014.
229. Troncone E, Marafini I, Pallone F, Monteleone G: Th17 cytokines in inflammatory bowel diseases: Discerning the good from the bad. *Int Rev Immunol* 32:526–533, 2013.
230. Newcomb DC, Peebles RS Jr: Th17-mediated inflammation in asthma. *Curr Opin Immunol* 25:755–760, 2013.
231. Elloso MM, Gomez-Angelats M, Fourie AM: Targeting the Th17 pathway in psoriasis. *J Leukoc Biol* 92:1187–1197, 2012.
232. Purwar R, Schlapbach C, Xiao S, et al: Robust tumor immunity to melanoma mediated by interleukin-9-producing T cells. *Nat Med* 18:1248–1253, 2012.
233. Lu Y, Hong S, Li H, et al: Th9 cells promote antitumor immune responses in vivo. *J Clin Invest* 122:4160–4171, 2012.
234. Williams MA, Bevan MJ: Effector and memory CTL differentiation. *Annu Rev Immunol* 25:171–192, 2007.
235. Lees JR, Farber DL: Generation, persistence and plasticity of CD4 T-cell memories. *Immunology* 130:463–470, 2010.
236. Murali-Krishna K, Lau LL, Sambhara S, et al: Persistence of memory CD8 T cells in MHC class I-deficient mice. *Science* 286:1377–1381, 1999.
237. van Leeuwen EMM, Sprent J, Surh CD: Generation and maintenance of memory CD4+ T Cells. *Curr Opin Immunol* 21:167–172, 2009.
238. Takasugi M, Mickey MR, Terasaki PI: Reactivity of lymphocytes from normal persons on cultured tumor cells. *Cancer Res* 33:2898–2902, 1973.
239. Jamieson AM, Isnard P, Dorfman JR, et al: Turnover and proliferation of NK cells in steady state and lymphopenic conditions. *J Immunol* 172:864–870, 2004.
240. Sun JC, Beilke JN, Lanier LL: Adaptive immune features of natural killer cells. *Nature* 457:557–561, 2009.
241. Omdahl JL. Interaction of the parathyroid and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the control of renal 25-hydroxyvitamin D3 metabolism. *J Biol Chem* 1978;253(23):8474–8.
242. Martin A, David V, Quarles LD. Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways. *Physiol Rev* 2012;92(1):131–55.
243. DeLuca HF, Krisinger J, Darwish H. The vitamin D system: 1990. *Kidney Int Suppl* 1990;(29):S2–8.
244. Garland CF, Comstock GW, Garland FC, Helsing KJ, Shaw EK, Gorham ED. Serum 25-hydroxyvitamin D and colon cancer: eightyear prospective study. *Lancet* 1989;2:1176–8.
245. Tangrea J, Helzlsouer K, Pietinen P, Taylor P, Hollis B, Virtamo J, Albanes D. Serum levels of vitamin D metabolites and the subsequent risk of colon and rectal cancer in Finnish men. *Cancer Causes Control* 1997;8:615–25.

246. Feskanich D, Ma J, Fuchs CS, Kirkner GJ, Hankinson SE, Hollis BW, Giovannucci E. Plasma vitamin D metabolites and risk of colorectal cancer in women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:1502–8.
247. Levine AJ, Harper JM, Ervin CM, Chen YH, Harmon E, Xue S, Lee ER, Frankel HD, Haile RW. Serum 25-hydroxyvitamin D, dietary calcium intake, and distal colorectal adenoma risk. *Nutr Cancer* 2001;39:35–41.
248. Peters U, McGlynn KA, Chatterjee N, Gunter E, Garcia-Closas M, Rothman N, Sinha R. Vitamin D, calcium, and vitamin D receptor polymorphism in colorectal adenomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:1267–74.
249. Platz EA, Hankinson SE, Hollis BW, Colditz GA, Hunter DJ, Speizer FE, Giovannucci E. Plasma 1,25-dihydroxy- and 25-hydroxyvitamin D and adenomatous polyps of the distal colorectum. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9:1059–65.
250. Grau MV, Baron JA, Sandler RS, Haile RW, Beach ML, Church TR, Heber D. Vitamin D, calcium supplementation, and colorectal adenomas: results of a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1765–71.
251. Braun MM, Helzlsouer KJ, Hollis BW, Comstock GW. Prostate cancer and prediagnostic levels of serum vitamin D metabolites (Maryland, United States). *Cancer Causes Control* 1995;6:235–9.
252. Beresford SA, Black HR, Bonds DE, Brzyski RG, Caan B, Chlebowski RT, Cochrane B, Garland C, Gass M, Hays J, Heiss G, Hendrix SL, Howard BV, Hsia J, Hubbell FA, Jackson RD, Johnson KC, Judd H, Kooperberg CL, Kuller LH, LaCroix AZ, Lane DS, Langer RD, Wactawski-Wende J, Kotchen JM, Anderson GL, Assaf AR, Brunner RL, O’Sullivan MJ, Margolis KL, Ockene JK, Phillips L, Pottern L, Prentice RL, Robbins J, Rohan TE, Sarto GE, Sharma S, Stefanick ML, Van Horn L, Wallace RB, Whitlock E, Bassford T, Lasser NL, Lewis CE, Limacher MC, Manson JE. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2006;354:684–96. : s.n.
253. Pena C, Garcia JM, Silva J, Garcia V, Rodriguez R, Alonso I, Millan I, Salas C, de Herreros AG, Munoz A, Bonilla F. E-cadherin and vitamin D receptor regulation by SNAIL and ZEB1 in colon cancer: clinicopathological correlations. *Hum Mol Genet* 2005;14:3361–70.
254. Evans SR, Nolla J, Hanfelt J, Shabahang M, Nauta RJ, Shchepotin IB. Vitamin D receptor expression as a predictive marker of biological behavior in human colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 1998;4:1591–5.
255. Kongsbak M, von Essen MR, Levring TB, Schjerling P, Woetmann A, Ødum N, Bonfeld CM, Geisler C. Vitamin D-binding protein controls T cell responses to vitamin D. *BMC Immunol* 2014;15:35.
256. Ooi JH, McDaniel KL, Weaver V, Cantorna MT. Murine CD8+ T cells but not macrophages express the vitamin D 1 α -hydroxylase. *J Nutr Biochem* 2014;25:58–65.
257. Jeffery LE, Wood AM, Qureshi OS, Hou TZ, Gardner D, Briggs Z, Kaur S, Raza K, Sansom DM. Availability of 25-hydroxyvitamin D(3) to APCs controls the balance between regulatory and inflammatory T cell responses. *J Immunol* 2012;189:5155–64.

258. Enhanced production of IL-17A in patients with severe asthma is inhibited by 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 in a glucocorticoid-independent fashion. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:297–304. e293. Nanzer AM, Chambers ES, Ryanna K, Richards DF, Black C, Timms PM, Martineau AR, Griffiths CJ, Corrigan CJ, Hawrylowicz CM.
259. Enhanced production of IL-17A in patients with severe asthma is inhibited by 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 in a glucocorticoid-independent fashion. *J Allergy Clin Immunol* 2013 and e293., 132:297–304.
260. Vitamin D is required for IFN-gamma-mediated antimicrobial activity of human macrophages. *Sci Transl Med* 2011;3:104ra102. . Fabri M, Stenger S, Shin DM, Yuk JM, Liu PT, Realegeno S, Lee HM, Krutzik SR, Schenk M, Sieling PA, Teles R, Montoya D, Iyer SS, Bruns H, Lewinsohn DM, Hollis BW, Hewison M, Adams JS, Steinmeyer A, Zugel U, Cheng G, Jo EK, Bloom BR, Modlin RL.
261. Edfeldt K, Liu PT, Chun R, Fabri M, Schenk M, Wheelwright M, Keegan C, Krutzik SR, Adams JS, Hewison M, Modlin RL. T-cell cytokines differentially control human monocyte antimicrobial responses by regulating vitamin D metabolism. *PNAS* 2010 and 107:22593–8.
262. Thien R, Baier K, Pietschmann P, Peterlik M, Willheim M. Interactions of 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 with IL-12 and IL-4 on cytokine expression of human T lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol* 2005 and 116:683–9.
263. Jirapongsananuruk O, Melamed I, Leung DY. Additive immunosuppressive effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and corticosteroids on TH1, but not TH2, responses. *J Allergy Clin Immunol* 2000 and 106:981–5.
264. Lange NE, Litonjua A, Hawrylowicz CM, Weiss S. Vitamin D, the immune system and asthma. *Expert Rev Clin Immunol* 2009 and 5:693–702.
265. Joshi S, Pantalena LC, Liu XK, Gaffen SL, Liu H, Rohowsky-Kochan C, Ichiyama K, Yoshimura A, Steinman L, Christakos S, Youssef S. 1,25-dihydroxyvitamin D(3) ameliorates Th17 autoimmunity via transcriptional modulation of interleukin-17A. *Vols. Mol Cell Biol* 2011;31:3653–69.
266. Drozdenko G, Heine G, Worm M. Oral vitamin D increases the frequencies of CD38+ human B cells and ameliorates IL-17-producing T cells. *Exp Dermatol* 2014;23:107–12.
267. The role of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and cytokines in the promotion of distinct Foxp3(+) and IL-10(+) CD4(+) T cells. *Eur J Immunol* 2012. Urry Z, Chambers ES, Xystrakis E, Dimeloe S, Richards DF, Gabrysova L, Christensen J, Gupta A, Saglani S, Bush A, O’Garra A, Brown Z, Hawrylowicz CM.
268. ms PM, Martineau AR, Griffiths CJ, Corrigan CJ, Hawrylowicz CM. Serum 25-dihydroxyvitamin D levels correlate with CD4(+) Foxp3(+) T-cell numbers in moderate/severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:542–4. Chambers ES, Nanzer AM, Richards DF, Ryanna K, Freeman AT, Timms PM, Martineau AR, Griffiths CJ, Corrigan CJ, Hawrylowicz CM.
269. Gupta A, Dimeloe S, Richards DF, Chambers ES, Black C, Urry Z, Ryanna K, Xystrakis E, Bush A, Saglani S, Hawrylowicz CM. Defective IL-10 expression and in vitro steroid-induced IL-17A in paediatric severe therapy-resistant asthma. *Thorax* 2014 and 508–15., 69:.

270. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells expressing CTLA-4 and FoxP3. *J Immunol* 2009;183:5458–67. Jeffery LE, Burke F, Mura M, Zheng Y, Qureshi OS, Hewison M, Walker LS, Lammas DA, Raza K, Sansom DM.
271. Dimeloe S, Richards D, Urry Z, Gupta A, Stratigou V, Farooque S, Saglani S, Bush A, Hawrylowicz C. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ promotes CD200 expression by human peripheral and airway-resident T cells. *Thorax* 2012;67:574–81.
272. Snelgrove RJ, Goulding J, Didierlaurent AM, Lyonga D, Vekaria S, Edwards L, Gwyer E, Sedgwick JD, Barclay AN, Hussell T. A critical function for CD200 in lung immune homeostasis and the severity of influenza infection. *Nat Immunol* 2008;9:1074–83.
273. Chambers ES, Suwannasaen D, Mann EH, Urry Z, Richards DF, Lertmemongkolchai G, Hawrylowicz CM. 1 α ,25-dihydroxyvitaminD₃ in combination with TGF β increases the frequency of Foxp3⁺ Tregs through preferential expansion and usage of IL-2. *Immunology* 2014.
274. Burnett-Hartman AN, Passarelli MN, Adams SV ve ark. Differences in epidemiologic risk factors for colorectal adenomas and serrated polyps by lesion severity and anatomical site. *Am J Epidemiol* 2013;177:625–37.
275. Fu Z, Shrubsole MJ, Smalley WE ve ark. Lifestyle factors and their combined impact on the risk of colorectal polyps. *Am J Epidemiol* 2012;176:766–76.
276. Okabayashi K, Ashrafian H, Hasegawa H ve ark. Body mass index category as a risk factor for colorectal adenomas: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012;107:1175–85.
277. Broughton T, Sington J and Beales IL. Statin use is associated with a reduced incidence of colorectal adenomatous polyps. *Int J Colorectal Dis* 2013, Apr;28(4):469–76.
278. Lemire JM, Archer DC, Beck L, Spiegelberg HL. Immunosuppressive actions of 1,25-dihydroxyvitamin D₃: preferential inhibition of Th1 functions. *J Nutr* 1995;125:1704S–8S.
279. Palmer MT, Lee YK, Maynard CL ve ark. Lineage-specific effects of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) on the development of effector CD4 T cells. *J Biol Chem* 2011;286:997–1004.
280. Joshi S, Pantalena LC, Liu XK ve ark. 1,25-dihydroxyvitamin D(3) ameliorates Th17 autoimmunity via transcriptional modulation of interleukin-17A. *Mol Cell Biol* 2011;31:3653–69.
281. Staeva-Vieira TP, Freedman LP. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits IFN- γ and IL-4 levels during in vitro polarization of primary murine CD4⁺ T cells. *J Immunol* 2002;168:1181–9.
282. Boonstra A, Barrat FJ, Crain C ve ark. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin d₃ has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol* 2001;167:4974–80.

283. Bilinski, C., Burleson, J., & Forouhar, F. (2012). Inflammation associated with neoplastic colonic polyps. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 42(3), 266-270.



