

**T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
İZMİR ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ**

**METASTATİK KOLOREKTAL KANSERLİ
HASTALARDA TANI ANINDA SERUM SUPAR, PAI-1
VE MMP-9 DÜZEYİNİN HASTALIĞIN PROGNOZUNU
İLE OLAN İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. M. Eren KALENDER**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ahmet ALACACIOĞLU**

Bu tez İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
2016-TDU-TIPF-0025 proje numarası ile desteklenmiştir.

**İZMİR
AĞUSTOS – 2017**

TEŞEKKÜR

Dört yıllık yoğun bir uzmanlık eğitiminin son ürünü olan uzmanlık tezinin hazırlanmasında ve eğitimimin her aşamada önemli katkıları ve desteği bulunan, her daim bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım sayın Doç. Dr. Ahmet ALACACIOĞLU'na,

Tez yapım sürecinde destekleri daim olan Biyokimya Uzm Dr. Leyla Demir ve Tıbbi Onkoloji Ass. Dr. Halil TAŞKAYNATAN'a

Asistanlık eğitimimde büyük emek ve katkıları olan, bunun sonucunda çok farklı bakış açıları kazandığım, öncelikle nasıl bir insan olunur, nasıl bir doktor, araştırmacı, eğitmen ve yönetici olunmalı sorularının yanıtlarını kendisinde bulduğum bana rehberlik edip yol gösteren değerli hocam Prof. Dr. Servet AKAR'a,

Uzmanlık eğitim sürecinde hastaları benimsemedeki, takip ve tedavilerindeki hassas noktaları ve klinisyen olma yolundaki incelikleri öğrendiğim; sonu olmayan bir araştırma ve gelişme sürecinde olma gerekliliğinin mecburiyetini başta kendisi yaparak bize öğreten değerli hocalarım en başta Doç. Dr. Dilek ERSİL SOYSAL'a ve Uzm. Dr. Mehmet SONBAHAR'a,

Tez yazım sürecinde her an desteklerini esirgemeyen Onkoloji Kliniğinde görev yapan değerli hocalarım Prof. Dr. Yüksel KÜÇÜKZEYBEK, Doç. Dr. Umut VAROL, Uzm Dr. Utku OFLAZOĞLU, Uzm. Dr. Yaşar YILDIZ'a ve bu sürecin başında sonuna kadar yanımda olup her daim destek olmaya çalışan Songül Hemşire Hanım'a

Romatoloji Kliniğindeki öğrenimlerim sırasında sonsuz desteği olan değerli hocam Doç. Dr. Dilek SOLMAZ'a ve güler yüz ve yardımlarını esirgemeyen Alev ve Nazmiye Hemşire Hanım'a,

Kendisinden çok şey öğrendiğim ve hayata karşı bakış açılarımı değiştiren değerli arkadaşım Dr. Burak DEMİREL'e ve dört sene boyunca günlerimin çoğunu beraber geçirdiğim, zorluklar karşısında birlik ve destek olan değerli arkadaşlarımdan başta Dr. Uğur B. KORKMAZ'a, Dr. Melek YILMAZ ve Dr. Ö. Zekiye ÇAKMAK'a ve tüm değerli asistan arkadaşlarıma,

İyi bir iç hastalıkları uzmanı olarak yetişmemde emek ve özverileri için tüm hocalarıma;

Her zaman en büyük destekçim olan aileme teşekkür ederim.

Dr. M. Eren KALENDER

Ağustos, 2017

İÇİNDEKİLER

Simgeler Dizini	V
Tablolar Dizini	VI
1.Giriş.....	1
2.Genel Bilgiler.....	4
2.1. Kolon Anatomisi	4
2.2. Kolorektal Kanseri Etiyolojisi, Risk Faktörleri ve Koruyucu Faktörler	5
2.2.1. Ailevi Kolorektal Kanseri	8
2.2.2. Familial Adenomatöz Polipozis (Fap).....	9
2.2.3. Hereditör Non Polipozis Kolorektal Kanseri (Hnpcc)	10
2.2.4. Diğer Familial Nedenler	11
2.3. Semptom ve Bulgular	11
2.4. Kolorektal Kanserde Evreleme	12
2.5. Kolorektal Kanserde Tedavi.....	15
2.5.1. Cerrahi Tedavi.....	15
2.5.2. Radyoterapi	15
2.5.3. Kemoterapi	15
2.6. Tümör Belirteçleri	18
2.6.1. Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (Pai-1)	18
2.6.2. Upa, Upar Ve Supar	19
2.6.3. Matriks Metalloproteinaz - 9 (Mmp-9; Jelatinaz B)	20
3.Gereç Ve Yöntem.....	22
3.1.Örneklerin Alınması Ve Saklanması.....	22
3.2. Örneklerin Çalışılması.....	22
3.3. Elisa Testleri.....	23

3.3.1.Soluable Urokinase Plasminogen Activator Receptor (Supar):	23
3.3.2.Plasminogen Activator Inhibitor-1 (Pai-1):	23
3.3.3.Matrix Metalloproteinase-9 (Mmp-9):	23
4.Bulgular.....	24
5.Tartışma.....	27
6. Sonuç Ve Öneriler.....	31
Özet	32
Abstract	34
Kaynaklar	35

SİMGELER ve KISALTMALAR

KRK	: Kolorektal kanser
ESM	: Ekstrasellüler Matriks
PAI-1	: Plazminojen Aktivatör İnhibitörü
SERPİN	: Serin Proteaz İnhibitörü
MMP-9	: Matriks Metalloproteinaz-9
uPA	: Ürokinaz Plazminojen Aktivatörü
tPA	: Doku Plazminojen Aktivatörü
uPAR	: Ürokinaz Plazminojen Aktivatörü Reseptörü
suPAR	: Serbest Ürokinaz Plazminojen Aktivatörü Reseptörü
VN	: Vitronektin
GPI	: Glikozil Fosfoinozitol
KT	: Kemoterapi
NSAİİ	: Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaç
VEGF	: Vasküler Endotelyal Growth Factor
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
AFAP	: Zayıflatılmış Familial Adenomatöz Polipozis
FAP	: Familial Adenomatöz Polipozis
HNPCC	: Herediter Non Polipozis Kolorektal Kanser
APC	: Adenomatöz Polipozis Koli
MAP	: MUTYH ilişkili Polipozis
ELİSA	: Enzyme Linked İmmunosorbent Assay
PFS	: Progresyonsuz Sağ Kalım
OS	: Genel Sağ Kalım

TABLolar

Tablo 1 : Ailevi kolorektal kanserler

Tablo 2 : Kolorektal kanser TNM sınıflaması

Tablo 3 : Metastatik ve non-metastatik hastaların demografik verileri

Tablo 4 : Metastatik grup ile non-metastatik grubun kemoterapi öncesi serum marker düzeylerinin karşılaştırılması

Tablo 5 : Tedavi öncesi olan metastatik grup ve tedavi sonrası kendisinin kontrol grubu olduğu grupta serum marker düzeylerinin karşılaştırılması



1.GİRİŞ

Kolon kanseri, kolon epitelinin kontrol dışı olarak çoğalmasdır. Bu çoğalma durumu çevresel ve genetik faktörler tarafınca kontrol edilir. Kolorektal kanser (KRK) dünya genelinde ve ülkemizde akciğer, meme ve prostat kanserlerinden sonra en sık görülen dördüncü kanser türü olup önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir (1,2). Her yıl dünya genelinde 1.3 milyondan daha fazla kişi KRK tanısı alır. Kansere bağlı ölüm nedenleri arasında akciğer ve meme kanserinden sonra üçüncü sırada yer almaktadır ve tüm kansere bağlı ölümlerin %10'undan sorumludur. Her yıl dünya genelinde yaklaşık 690.000 hasta KRK nedeniyle hayatını kaybetmektedir.

Plazminojen, hücre membranındaki plazminojen reseptörüne bağlanan, kanda serbest olarak dolaşan bir pro-enzimdir (3). Plazminojen plazmin sisteminde önemli bir role sahip olan ürokinaz plazminojen aktivatörü (uPA), bir pro-enzim olarak düşük bir intrensek aktivite ile sekrete edilir (4), hücre membranındaki yüksek affiniteki kendi reseptörü olan ürokinaz plazminojen aktivatörü reseptörü (uPAR)'a bağlanır, uPAR hücre içinde GPI kancası ile stabilize edilir (5). İki pro-enzim olan plazminojen ve uPA'nın bir araya gelmesi ile plazminojen plazmine dönüşür. Plazminin aktifleşmesi pozitif feedback olarak pro-uPA'nın uPA'ya dönüşmesini hızlandırarak daha hızlı bir şekilde plazmin oluşmasını sağlar (4,6). Ek olarak matrix metalloproteinazları ve latent growth hormonları aktifleştiren plazmin, invazyon ve metastazda rol oynar (7). Plazminojenden plazmin oluşumunu katalizleyen plazminojen aktivatörlerini (uPA/ tPA) ise plazminojen aktivatör inhibitörleri (PAI-1/2), a2 antiplazmin inhibe eder. uPA/ uPAR/ PAI-1 kompleksi hücre içine LDLR aracılıklı endositoz ile alınarak parçalanması sonrasında uPAR tekrardan hücre membranına yerleşmesi için sekrete edilir (3).

PAI-1, plazminojen/ plazmin sisteminin hızlı ve spesifik bir inhibitörü olmasıyla beraber in vivo şartlarda tümör gelişiminin etkin bir düzenleyicisidir. Yükselmiş PAI-1 değerleri KRK de içine alan bazı solid tümörlerde kötü prognoz açısından anlamlıdır (8). Ek olarak KRK, karaciğer metastazı ile korale plazma PAI-1 yüksek değerlere çıkabilmektedir. Karaciğer metastazının yanında, tümör büyüklüğü, differansiasyon derecesi, seroza infiltrasyonu, Duke evrelemesi ve lenfatik metastaz da yükselmiş plazma PAI-1 değerleri ile anlamlı bulunmuştur.

Bununla beraber PAI-1 siRNA üreten lentivirüs ile transfekte edilen kolorektal kanser hücrelerinde proliferasyon, invazyon ve migrasyonun azaldığı; PAI knockdown hücreleri ile aşılana deney farelerinde ise karaciğerde daha az metastatik nodül ve daha küçük boyutlu tümoral kitlenin saptanması kolorektal kanserli hastalarda PAI-1 düzeyi açısından anlamlı bulunmuştur (9).

Karaciğer metastazlı kolorektal kanseri hastalarında plazma uPA ve PAI-1 düzeyleri arasında henüz açıklanamayan nedenlere ikincil korale olmaması nedeniyle plazma uPA düzeyi anlamsız çıkabilmektedir (9).

uPA, plazminojen – plazmin sisteminin bir üyesi olup kanserli hücrelerin büyümesi, invazyonu ve metastazı ile ilişkili bulunmuştur (10). Hem proteolitik hem de antiproteolitik etkilerinin olması nedeniyle kanser malignensisinde birbirine zıt fonksiyonu mevcuttur. uPA'nın kanser invazyonunda ekstrasellüler matriks (ESM) proteinlerini yıkabiliyor olması anlaşılabilir; ancak PAI-1 ilişkili tümör progresyonu PAI-1 nin uPA üstündeki direkt inhibisyonuyla açıklanamaz. Çalışmalar göstermiştir ki uPA reseptörü uPAR integrin ilişkili hücre adezyonunda vitronectin ile iletişim kurmaktadır (11). PAI-1 matriks-vitronectin (VN) bağımlı aVb3 (12) ve uPAR (13) üstünden ayrılabilir. Böylece PAI-1 artışı hücrelerin ESM arasındaki adezyonunu azaltarak hücre invazyonunu ve migrasyonunu (14) arttırabilmektedir; çünkü uPA ve uPAR arasındaki bağlanma uPAR'ın VN bağlanma affinitesini arttırmaktadır (15).

Matriks Metalloproteinaz'lar (MMP) bir grup çinko bağımlı endopeptidazdır. Bu grup ESM'nin yıkımı, doku tamiri, invazyon, metastaz ve anjiyogenezle ilişkili bulunmuştur (16). MMP-9 üretimi (gelatinaz-B olarak da bilinir) MMP ailesinin bir üyesi olup malign tümörlerde tekrardan düzenlenmektedir (16–18) ve kanser hücrelerinin invazyonu ve metastazıyla ilişkili bulunmuştur (19). MMP-9 ekspresyonu KKK'lı hastalarda Duke evrelemesi ve uzak metastazla ilişkili olduğuna dair deliller mevcuttur (20).

Bazı çalışmalarda MMP-9, metastaz ve invazyonla ilgili olarak ilaç geliştirmek amaçlı hedef olarak kullanılmıştır, buna rağmen PAI-1 ile MMP-9 arasındaki ilişki hala net değildir. Bazı çalışmalarda KKK'lı ve karaciğer metastazlı hastalarda pozitif belirgin bir korelasyon olduğu, PAI-1 yüksek bulunan hastaların

MMP-9 düzeyinin de eş zamanlı yüksek olduğu, KRK hücrelerinde PAI-1'in sustutulması (silencing) sonrasında daha düşük MMP-9 düzeyleri görülmüş oluo mevcut durumun inflamasyon ile ilişkili bir bağlantısının olabileceği düşünülmüştür (9).

Yaklaşık 30 yıldır yapılan çalışmalarda uPA, uPAR, PAI-1 düzeylerinin karsinogenezdeki ifadesi bulunmaya çalışılmış olup uPA'nın hem proteolitik hem de antiproteolitik etkilerinin olması nedeniyle temel etkisi net olarak ortaya koyulamamıştır. Buna rağmen yapılan pek çok çalışmada uPAR, PAI-1 düzeyleri metastatik olan bazı kanserlerde anlamlı olması nedeniyle biyobelirteç olarak kullanılabilceğine dair çalışmalar sürmektedir. Yapılan çalışmalarda PAI-1 ve MMP-9 arasında belirgin bir korelasyon mevcuttur. Literatürde kolorektal kanser hastalarında adjuvan kemoterapi (KT) ile plazma uPAR, PAI-1, MMP-9 düzeyini ortaya koyan bir çalışmanın olmadığı gibi tanı anında bu 3 biyobelirtecin de değerlendirildiği çalışma da yoktur. Bu bilgiler ışığında metastatik KRK'lı hastalarda tanı anında serum uPAR, PAI-1, MMP-9 düzeyinin hastalığın prognozunu ile olan ilişkisini ortaya koymayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Kolon Anatomisi

Kalın bağırsak, ileoçekal valv ile anüs arasında kalan yaklaşık 2 metre uzunluğundaki bölümü olup gastrointestinal sistem uzunluğunun yaklaşık olarak %20'sini oluşturur. Çekum, kolon, rektum ve anüs bölümlerinden meydana gelir. Kolon ise çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon ve sigmoid kolon gibi bölümlere ayrılır (21).

Çekum, sağ iliak fossada intraperitoneal olarak yer alır ve kalın barsağın ilk bölümüne denir. Uzunluğu 4-8 cm, çapı 7.5-8.5 cm olup kolonun en geniş yeridir. Kolon, sigmoid kolona doğru çapı azalır. Sigmoid kolon çapı 2.5 cm ile en dar kısmı oluşturur. Farklı lokalizasyonlarda farklı çaplardaki tümörler bu duruma göre semptom verebilmektedir. Bu nedenle distal obstruksiyon durumlarında çekumda perforasyon daha sık görülür (22). Çekum hareketli bir organ olup, tüm yüzeyleri peritonla kaplıdır. Çekumun iç yan, arka yüzünde; ileoçekal valvin 2 cm altında appendiks yer almaktadır.

Çıkan kolon çekum ile karaciğer sağ lobu arasındadır. Burada hepatik fleksura oluşur ve transvers kolon adı ile devam eder. Uzunluğu 20 cm; uzanımı ise aşağıdan yukarıya ve önden arkaya doğrudur. Ön ve yan yüzleri peritonla kaplıdır.

Transvers kolon hepatik ve splenik fleksuralar arasında olup 50 cm uzunluğundadır. Tüm yüzeyi periton ile kaplıdır. Transvers mezokolon, karın boşluğunu kolon üstü ve kolon altı olmak üzere iki bölüme ayırır. Bu anatomik yapı bölgeler arasında enfeksiyonun yayılmasını engelleyen doğal bir bariyerdir.

İnen kolon, splenik fleksuradan başlayıp pelvis girişinde sigmoid kolona kadar uzanır. 25 cm uzunluğunda olup yan ve ön yüzü periton ile kaplıdır ve retroperitoneal olarak seyreder.

Sigmoid kolon, kista iliaka hizasında psoas major kasının iç kenarından başlar ve üst rektumda sonlanır. 40 cm uzunluğundadır ve iç çapı ortalama 2.5 cm ile kolonun en dar kısmını oluşturur. Pelviste bulunan üst ve alt kenarları fikse, orta kısmı çok mobildir. Bu özelliğinden dolayı volvulus en sık sigmoid kolonda görülür. Tamamen periton ile sarılıdır.

Sindirim sisteminin son kısmı olan rektum, kalın bağırsağın genişlemesi sonucu oluşan son 15 cm'lik bölümüdür ve anüsle dışarı açılır (21). Rektumun üst 1/3 bölümü ön ve yan yüzeylerinde peritonla kaplıdır. Orta 1/3 bölümünün yalnızca önyüzü periton tarafından çevrilir ve alt 1/3 bölümü peritoneal izdüşümün altındadır.

Anal kanal pelvik diyaframdan başlar ve anal sınırdan biter. Yaklaşık olarak 4 cm uzunluğundadır. Anal kanal, birlikte anal sfinkter mekanizmasını oluşturdukları internal ve eksternal bir sfinkter tarafından çevrilmiştir. Internal sfinkter rektumun iç sirküler düz kasının devamından meydana gelmiştir. İstemsiz bir kastır ve istirahat halinde iken kasılı durumdadır. Eksternal sfinkter U şeklinde üç halkadan oluşan (subkutanöz, süperfisyal, derin) çizgili, istemli bir kastır (21,22).

2.2. Kolorektal Kanser Etyolojisi, Risk Faktörleri ve Koruyucu Faktörler

KRK'nın multifaktöriyel bir etyolojisi vardır; beslenme, yaş, genetik gibi durumlardan etkilenir. %70 vakanın sporadik olduğu görülmektedir. 50 yaşın üzerinde en yaygın görülen tür olup beslenme ile olan ilişkisi bazı gıdalarda ortaya konulmuştur.

Hastaların %10'dan daha azı herediter olarak görülmektedir ve bu vakalarda polipler özelliklerine göre sınıflandırılmışlardır. Herediter olarak poliplerin görüldüğü hastalıklar: Familial Adenomatöz Poliposis (FAP), MUTYH ilişkili polipozis (MAP) ve hamartomatöz polipozis sendromlarıdır. Herediter olarak poliplerin görülmediği hastalıklar ise herediter nonpolipozis kolorektal kanser sendromları (HNPCC) ve Lynch sendromu olarak sınıflandırılmışlardır (23).

Ailevi olan KRK türleri yaklaşık %25 oranında görülür. Vakaların ailelerinde KRK öyküsü vardır ancak mevcut durum herediter sendromlardan farklıdır. KRK gelişme riski artmıştır ancak bu artış herediter sendromlardaki kadar yüksek değildir. Aile bireyinin birinci dereceden olması genel popülasyonu göre riski 1.7 kat artırır. 55 yaşından önce tanı almış iki aile bireyi ise riski daha çok artırır.

Kolon kanseri, solda ve distalde daha sık görülse de; sağ taraf ve proksimal kolon kanser insidansı da giderek artmaktadır. Bu anatomik değişiklikler multifaktöriyel olup; artan yaşın süresi, kolon ve rektumun luminal prokarsinojen ve

karsinojenlere verdiği farklı cevap, proksimal kolonda mismatch tamir genlerindeki defekt sonucu gelişen mikrosatellit insitabilite ve sol kolon-rektum kanserinde kromozomal insitabilite yolakları gibi genetik faktörler burada rol oynamaktadır. Bu farklılıklar yapılacak taramanın koşullarını, tedavinin cevabını ve ortalama yaşam süresini etkileyebilir (24,25).

Ülseratif kolitin süresi ve şiddeti ile kolon kanseri arasındaki ilişki ortaya konulmuştur. Pankolitin olması genel popülasyona göre riski 5-15 kat arttırmaktadır. İzole sol kolonu tutan hastalıkta, risk 3 kat artmıştır. İzole proktit veya proktosigmoidit olan hastalarda ise risk artışı saptanmamıştır (26,27). Ülseratif kolitli vakalarda ilk 10-20 yılda insidans %0.5 iken sonraki yıllarda %1 olduğu görülmüştür (28). Bu hastalarda 5-ASA tedavisinin KRK açısından koruyucu olma durumu lokal inflamasyonun azaltması nedeniyle kanser gelişimini yavaşlattığı düşünülse de bu konuda yeterli çalışma yoktur. 2005 yılında yapılan bir meta-analizde 5-ASA kullanımının KRK gelişimini %50 oranında azalttığı gösterilmiştir (29).

Chron hastalığının kolondaki tutulum bulgularındaki risk de ülseratif kolit ile benzerdir (30). İsveç'te yapılan popülasyon tabanlı bir çalışmada Crohn hastalığında kolorektal kanser riski normal popülasyonu oranla 2.5 kat artmış olup, izole kolon tutulumu olanlarda risk 5.6 kat artmış olarak saptanmıştır. Tanı anında 30 yaş altında olanlarda risk daha da fazladır (28).

Çocukluk çağında kanser nedeniyle abdominal bölgede radyasyona maruziyet ilerleyen yaşlarda kanser riski arttırmaktadır. Bu hastalarda ise en çok kolon kanseri görülmektedir. Bu risk normal popülasyonu göre 11 kat artmıştır (31,32). Bu hastalarda KRK görece olarak daha erken yaşta ortaya çıkar (<50 yaş). Çocuk onkoloji grubu, çocukluk çağında 30 Gy'den daha fazla radyasyon almış hastalarda, 35 yaşından sonra veya radyasyon sonrası 10. yıldan itibaren her 5 yılda 1 kolonoskopik tarama önermektedir.

Akromegali hastalarda, kolonik adenom ve kolorektal kanser gelişimi riski artmıştır ve tedavi ile risk düşmektedir (33). Akromegali hastalarında multipl adenomatöz polip gelişim riski daha fazladır ve poliplere daha sık proksimal kolonda rastlanılır.

Diabetes Mellitus hastalarında kolon kanseri gelişim riski %38, rektal kanser gelişim riski %20 artmıştır. Bu risk artışı sigara, beslenme, obezite ve fiziksel aktiviteden bağımsız olarak ortaya çıkmakta olup hiperinsülinemi ile ilişkili olduğunu insülinin bir büyüme faktörü olması nedeniyle düşündürmektedir (34).

Alkol tüketimi ile artmış kolon kanser riski birkaç çalışmada gösterilmiştir. Bir meta-analizde hiç alkol kullanmayanlara göre ağır (günde >4 kadeh) ve orta düzey (günde 2-3 kadeh) içicilerde kolorektal kanser gelişim riski belirgin olarak artmıştır. Hafif içicilerde normal popülasyona göre fark saptanmamıştır (35).

İki büyük kohort çalışmasında obezlerde normal vücut ağırlığında olanlara göre KKK riskinin 1.5 kat arttığı görülmüş (36,37). 37.324 hastanın incelendiği bir sistemik incelemede, KKK gelişiminde vücut kitle indeksinde her 5 kg/m² artışta erkeklerde %24, kadınlarda %9 risk artışı saptanmıştır (38).

Büyük gözlemsel veriler, düzenli mesleki veya boş zaman aktivitesinin KKK'dan korunma ile ilişkili olduğu görüşündedir. 21 çalışmanın meta-analizinde az aktif kişilerle karşılaştırıldığında; çok aktif kişilerde proksimal kolon kanserinde %27, distal kolon kanserinde %26 oranında risk azalması saptanmıştır (39). Bu risk azalmasına neden olan mekanizma hala net değildir.

Birçok çalışmada diyetle yüksek oranda meyve ve sebze tüketiminin KKK gelişiminde risk azalması sağladığı gösterilmiştir. Bu oran tüketenlerde, tüketmeyenlere kıyasla %50 risk azalması olduğunu göstermektedir. Başka bir kohort çalışmasında; günlük 800 gr üzeri sebze tüketenlerde, günlük 200 gr sebze tüketenlere göre distal kolon kanserinde %36 oranında risk azalması saptanmış olup, proksimal kolon kanserinde herhangi bir risk azalması saptanmamıştır(40).

Folat, gıdada bulunan vitaminin doğal şeklidir ve folik asit, gıda takviyesi ve vitamin replasmanı için kullanılan sentetik formdur. Hayvan ve insan çalışmalarından elde edilen veriler, folatın kolon da dahil olmak üzere birçok dokuda kanser patogenezi inhibe ettiğini göstermiştir (41). Folat ve folik asidin KKK'nın aşamalarındaki etkisi net olmamakla beraber koruyucu etkisinin metilentetrahidrofolat redüktazın belirli genotipine bağlı olabileceği düşünülmüştür (42).

D vitamini ve metabolitleri, hem başlangıç hem de progresyonu etkileyerek KKK gelişimini engellemektedir. Düşük D vitamini düzeyinin pek çok kanserin gelişimiyle ilişkili olduğu gösterilmekle beraber Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafınca KKK en yüksek risk artışı olan kanser türünün olduğu gösterilmiştir. Bir meta-analizde D vitamini eksikliği olanlarda replasman sonrası D vitamini düzeyinde her 4 ng/ml artışın kolon kanseri riskini %6 azalttığı gösterilmiştir (43).

Gözlemsel ve girişimsel çalışma bulgularının önemli bir bölümü, aspirin ve diğer non-steroidal anti inflamatuvar ilaçların (NSAİİ) kolonik adenomların ve KKK'nın gelişimine karşı koruma sağladığını göstermektedir. Aspirin ve diğer NSAİİ'lerin düzenli kullanımı, ortalama risk altındaki bireylerde kolonik adenom ve KKK riskinde % 20-40 azaltım sağlamaktadır.

2.2.1. Ailevi kolorektal kanserler

Tablo 1: Ailevi kolorektal kanserler

1. AİLEVİ KOLOREKTAL KANSER NEDENLERİ:
APC Gen Mutasyonları (%1): FAP, Attenuated APC, Turcoth Sendromu
MMR Gen Mutasyonları (%3)
Hereditör Non Polipozis Kolorektal Kanser
Moir-Torre sendromu
Turcot Sendromu
Hamartamatöz Polip Sendromu(<%1)
Peutz-Jeghers Sendromu
Juvenil Polipozis
Mix Polipozis
Diğer Familyal Nedenler (%25)

2.2.2. Familial adenomatöz polipozis (FAP)

Familiyal Adenomatöz Polipozis (FAP) çoklu kolorektal adenomatöz poliplerin (tipik olarak 100 den fazla) varlığıyla karakterizedir. FAP 1/10.000-1/30.000 doğumda görülür ve kolorektal kanserlerin %1 ini oluşturur. Her iki cins de eşit etkilenir ve dünya çapında benzer dağılım gösterir. FAP ve onun varyantları, kromozom 5q21-q22 üzerinde bulunan adenomatöz polipozis koli (APC) tümör süpresör geninde germline mutasyonlarından kaynaklanır. APC geninin FAP ile ilişkili 1000'den fazla farklı mutasyonu tanımlanmıştır; bu mutasyonların çoğu çerçeve kaymalarına ve erken durdurma kodonlarına yol açmaktadır (44).

FAP otozomal dominant bir kalıtım gösterir. Fakat %25 vakada aile öyküsü bulunmamakta olup yeni veya de novo APC gen mutasyonu ile ilişkilidir (45).

FAP'lı hastalar; gastrointestinal kanama, karın ağrısı ve diyare gibi semptomları gösterebilir. Ancak KRK semptomları ortaya çıkıncaya kadar hastaların çoğunluğu asemptomatiktir. Klasik FAP genellikle yüzden fazla polip ile karakterizedir, tam gelişim olduğunda polip sayısı binlere ulaşabilir. Polipozis tipik olarak yaşamın ikinci veya üçüncü dekadında gelişir. Poliplerin ortaya çıkış yaş ortalaması 16 yaştır; ancak poliplerin başlangıç yaşı, 8 ila 34 yaş arasında bildirilmiştir (46). Hastalık tedavi edilmezse %100 oranında KRK'ya ilerler. Ortalama kanser tanı yaşı 45'tir.

Daha hafif veya zayıflatılmış bir FAP formu bilinmektedir. Zayıflatılmış FAP (AFAP) tanımı konusunda fikir birliği olmasa da, tipik olarak 10-20'den fazla 100'den daha az adenom ile karakterizedir. Adenomlar tipik olarak sağ kolona yerleşirler ve ortalama 44 yaşında tanı konur. AFAP'lı hastalar, muhtemelen % 80 gibi yüksek bir KRK riski taşırlar. Ancak bu hastalarda kanser, klasik FAP'a oranla daha ileri yaşta ortaya çıkar (ortalama 56 yaş) (47,48).

FAP hastalarının %30-100'ünde üst gastrointestinal kanalda polip meydana gelir. Fundik bez polipleri FAP hastalarının çoğunda bulunur. Bunlar küçüktür (<1 cm), midenin fundusunda veya gövdesinde yer alan sabit poliplerdir ve bazı hastalarda yüzlerce bulunur. Bu poliplerin yaklaşık yarısında displazi mevcuttur fakat nadiren kansere progrese olur (49). FAP hastalarında gastrik adenomlar fundik

bez poliplerine göre daha az yaygındır; tipik olarak izoledir, antrumda bulunurlar ve nispeten düşük bir kanser progresyon riski ile ilişkilendirilirler.

Duedonal polipler FAP tanılı hastaların %45-90'ında bulunur ve genellikle adenomatöz poliplerdir. Bu polipler kansere progrese olabilir.

Desmoid tümörler, sebace veya epidermoid kistler, lipomlar, osteomlar, fibromlar, supernumerer dişler, juvenil nazofaringeal anjiyofibromlar ve adrenal adenomlar da FAP ile ilişkilendirilmiştir. Retina pigment epitelyumunun konjenital hipertrofinin (CHRPE) çoklu ve bilateral yamaları FAP ile ilişkilendirilmiştir. FAP'li hastalar; foliküler veya papiller tiroid kanseri (yaşam boyu riski% 2-3), çocukluk çağı hepatoblastomu (yaşam boyu risk %1) ve merkezi sinir sistemi tümörleri (çoğunlukla medulloblastomalar) dahil olmak üzere çeşitli ekstraintestinal maligniteler (yaşam boyu risk <% 1) için risk altındadır (50).

Gardner sendromu birtakım ekstra kolonik bulguları olan kolon polipozisli aileleri tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Bu ekstraintestinal belirtiler; desmoid tümörler, sebace veya epidermoid kistler, lipomlar, osteomalar (özellikle mandibular), fibromalar, supernumerer dişler, mide fundik bezi polipleri, çocukluk çağı nazofarenjeal anjiyofibromlar ve CHRPE'dir. Gardner sendromu altta yatan APC mutasyonundan kaynaklandığı için, FAP ile Gardner sendromu arasındaki fark semantiktir ve Gardner sendromu FAP'ın bir alt kümesi olarak düşünülür (51).

Turcot sendromu ailesel kolon kanseri ile beyin tümörleri (öncelikle medulloblastomalar ve gliomalar) arasındaki ilişkiyi tanımlayan tarihi bir terimdir. FAP ile ilişkili beyin tümörlerinin çoğunluğu medulloblastomlar, Lynch sendromu gliomlarla daha sık ilişkilidir.

2.2.3. Herediter non polipozis kolorektal kanser (HNPCC)

Kalıtsal kolon kanseri duyarlılık sendromlarının en yaygın olanı, kalıtsal nonpolifozis kolorektal kanser (HNPCC) olarak da adlandırılan Lynch sendromudur. Lynch sendromu, birkaç DNA mismatch onarımı (MMR) genlerinden birinde germline mutasyonunun neden olduğu otozomal dominant bir hastalıktır. Tüm kolon kanseri vakalarının % 2-3'ünü oluşturur ve benzer şekilde endometriyal kanserlerin

yaklaşık % 2'sinden sorumludur. Lynch sendromlu hastalarda; overyan, üst ürolojik trakt, gastrik, ince bağırsak, safra-pankreas, deri(sebaseöz adenomlar ve keratoakantom) ve beyin kanseri dahil birçok kanser ile ilişkili risk artışı vardır. Lynch sendromunda yaşam boyu kolon kanseri riski yaklaşık %70'tir (52).

2.2.4. Diğer familyal nedenler

Bilinen sendromlardan bağımsız olarak, kolorektal kanserlerin yaklaşık %20-30'nun da kalıtsal yatkınlık nedeni ile oluştuğu düşünülmektedir. Bu diğer sorumlu genlerin belirlenmesi ile büyük bir klinik etki oluşacaktır (53).

2.3. Semptom ve Bulgular

KRK; rektal kanama, barsak alışkanlıklarında değişiklik, kilo kaybı, iştah azalması, halsizlik ve bazen de obstrüktif semptomlarla ortaya çıkabilir. Bu semptomlardan sadece obstrüksiyon semptomları hastalığın evresi ile ilişkilidir.

Fizik muayenede karın içi palpabl kitle, hematokezya, melana saptanabilir. Daha az derecedeki kanama ise gaitada gizli kan testi ile saptanabilir. Palpe edilen lenf bezleri, hepatomegali, sarılık veya pulmoner semptomlar metastatik hastalığa işaret edebilir. Obstrüksiyon genellikle sol kolonda ve sigmoidte meydana gelir ve abdominal distansiyon, konstipasyon ile belirti verir. Sağ kolon semptomları ise daha sinsi seyreder. KRK'ya bağlı komplikasyonlar; akut gastrointestinal kanama, akut obstrüksiyon, perforasyon ve metatazlara bağlı uzak organ fonksiyon bozukluğudur.

Laboratuvar değerlerinde demir eksikliği anemisi, elektrolit dengesizliği ve karaciğer fonksiyon testlerinde anormallik saptanabilir. Karsino Embriyonik Antijen (CEA) yükselmiş olabilir ve postoperatif monitörizasyonu hastalığın nüksünü takip etmede oldukça yararlı olduğu görülmüştür.

2.4. Kolorektal Kanserde Evreleme

1930 yılında İskoç patolojist Cuthbert Dukes tarafından rektal kanserin sınıflama şeması çalışılmış ve geliştirilen bu sistem onun adıyla anılmıştır. Bu sistem üzerinde hem Dukes hem de diğerleri tarafından modifikasyonlar yapılmıştır.

Güncel AJCC/UICC evreleme sistemi şu an kullanılan tek sistemdir ve TNM sistemi olarak adlandırılır. TNM sisteminde invazyon derecesi T, metastatik lokorejyonel lenf nodlarının sayısı N ve metastazların varlığı veya yokluğu M olarak tanımlanır (27).

İn situ adenokarsinom (Tis) glanduler bazal membran veya lamina propria ile sınırlı kanserleri içerir. Yüksek dereceli ve ciddi displazi in situ karsinom ile eş anlamlıdır ve Tis olarak sınıflandırılır. T1 tümör submukoza tutulumu ile sınırlıdır. T2 tümör muskularis propria tutulumu içerir ve T3 tümör subseroza tutulumunu veya nonperitoneal perikolik ve perirektal doku invazyonunu içerir. T4 tümör diğer organlara ve yapılara invazyonu (T4a) ve perfore visseral peritonyumu (T4b) içerir. Tümörün diğer kolorektal segmentlere seroza yoluyla invazyonu (çekum tümörünün sigmoide invazyonu gibi) T4a olarak evrenir. Tümör diğer organlara makroskopik olarak bitişik ise klinik T4a olarak sınıflandırılır ancak mikroskopik olarak saptanmazsa patolojik T3 olarak sınıflandırılır.

Tablo 2: Kolorektal kanser TNM sınıflaması

PRİMER TÜMÖR (T)
T0 Saptanabilen tümör yok
T1 Karsinoma insitu
T2 Submukoza tutulumu
T3 Subserozaya yayılım veya non peritoneal perikolik veya perirektal tutulum
T4a Diğer organ veya yapılara invazyon
T4b Viseral periton perforasyonu
BÖLGESEL LENF NODU (N)
N0 Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1a 1 bölgesel lenf nodu tutulumu
N1b 2-3 bölgesel lenf nodu tutulumu
N1c Bölgesel lenf nodu metastazı olmaksızın subserozada, mezenterde veya nonperitoneal perikolik veya perirektal dokularda tümör depozitleri
N2a 4-6 lenf nodu tutulumu
N2b 7 veya daha fazla bölgesel lenf nodu tutulumu
UZAK METASTAZ (M)
M1a Bir organ veya bölgeye sınırlı metastaz
M1b Birden fazla organ ve bölgeye veya peritona metastaz

Tablo 2: Kolorektal kanser TNM sınıflaması (devamı)

EVRE-1	T1N0M0	T2N0M0	
EVRE-2A	T3N0M0		
EVRE-2B	T4aN0M0		
EVRE-2C	T4bN0M0		
EVRE-3A	T1-T2, N1-N2a,M0		
EVRE-3B	T3-T4a,N1,M0	T2-T3,N2a,M0	T1-T2,N2b,M0
EVRE-3C	T4a,N2a,M0	T3-T4a,N2b,M0	T4b,N1-N2,M0
EVRE-4	M1		

Lenf nodu sayısının prognostik öneminden dolayı, güncel TNM sınıflamasında en az 12 lenf nodunun değerlendirilmiş olması ve hem değerlendirilen total lenf nodu sayısının hem de tümör saptanan lenf nodu sayısının belirtilmesi gerekmektedir. Lenf nodu değerlendirmesinde yetersiz bilgi varsa Nx, değerlendirilen bütün lenf nodlarında tümör saptanmamışsa N0, bölgesel bir lenf nodu tutulumu varsa N1a, 2-3 lenf nodu tutulumu varsa N1b, 4-6 lenf nodu tutulumu varsa N2a, 7 ve daha fazla lenf nodu tutulumu varsa N2b olarak tanımlanır. Perikolik, perirektal ve bitişik mezenterde rezidüel lenf nodu kanıtı yokken saptanan metastatik nodül ve fokuslar rejyonel lenf nodu metastazı gibi kabul edilmelidir.

Tümör tümüyle çıkarılmış ve cerrahi sınır mikroskopik olarak negatif ise Ro, tümör tam olarak çıkarılmış ama mikroskopik olarak pozitif ise R1, yetersiz rezeksiyon yapılmış ve makroskopik olarak tümör var ise R2 olarak sınıflanır. Ro, R1 ve R2 rezeksiyonların üçü de güçlü prognostik önem taşırlar.

2.5. Kolorektal Kanserde Tedavi

2.5.1. Cerrahi tedavi

KRK'da cerrahi prosedürün seçimi, tümörün lokalizasyonuna ve genişliğine dayanır. Emriyolojik planları takiben mezenter, lenf düğümleri, lenf damarları ve tümörü taşıyan segment, tümör olmayan en az 5 cm'lik bir marj ile rezeke edilir. İşlem açık cerrahi veya laparoskopik olarak da yapılabilir. Rezeke edilen lenf nodu miktarı tümörün doğru evrelendirilmesi ve adjuvan tedavi seçimi için çok önemli olup en az 12 adet lenf nodu çıkarılması gerekmektedir (54).

Karaciğer metastazı hastaların %25'inde tanı anında mevcut olup %25-35 hastada takip sırasında metastaz gelişmektedir. Küratif amaçlı radikal cerrahi rezeksiyon uygulanan lokalize karaciğer metastazı olan hastalarda 5 yıllık sağkalım oranı %45 saptanmıştır (55).

2.5.2. Radyoterapi

Radyoterapi rektal kanser tedavisinde merkezi bir rol alır. İleri kolon kanserinde radyoterapi palyatif tedavi amacıyla kullanılabilir. Birçok randomize çalışma preoperatif veya postoperatif radyoterapinin rektal kanserde lokal rekkürrens riskini azalttığını göstermiştir. Preoperatif radyokemoterapi, postoperatif radyoterapi ile kıyaslandığında daha düşük lokal rekürrens oranları, azalmış toksisite ve artmış sfinkter fonksiyonları ile ilişkilidir (56).

2.5.3. Kemoterapi

Kolon kanseri tanısı alan hastaların yaklaşık üçte biri cerrahi rezeksiyona uygun değildir. Cerrahi tedavi sonrası hastaların yarısında cerrahiye rağmen nüks meydana gelmektedir. Bu hastalarda etkin bir kemoterapi uygulanması gerekmektedir.

Kemoterapi cerrahi tedavi öncesi (neoadjuvan), cerrahi tedavi sonrası (adjuvan) veya palyatif amaçlı sistemik ve intraperitoneal olarak uygulanabilir.

Erken evre KRK'da cerrahi tedavi genellikle yeterli olmakla birlikte, cerrahi rezeksiyonun mümkün olduğu daha ileri evredeki hastalara adjuvan tedavinin eklenmesiyle birlikte hastaliksız sağkalım ve genel sağkalımda iyileşme sağlanmıştır. Randomize klinik çalışmalarda, adjuvan kemoterapinin Evre III kolorektal kanserde hastalık nüksü ve hastalığa bağlı ölüm riskinde sırasıyla %40, %33 oranında azalma sağladığı gösterilmiştir (57).

Evre II KRK'da adjuvan tedavi uygulanması halen tartışmalıdır. Fakat T4, akut operasyon ve az sayıda lenf nodu analizi yapılmış olması gibi yüksek rekürrens riski olan hastalarda adjuvan kemoterapi önerilmektedir.

KRK'nın kemoterapi tarihi neredeyse tamamen 5-Fluorouracil(5-FU) kullanımı etrafında dönmektedir. Heidleberger tarafından 1957 yılında geliştirilmiştir ve KRK'da kemoterapötik yaklaşımların çoğunun çekirdeğini oluşturmuştur (58). Leukovorin (LV) timidilat sentetaz enzimi ile bir kompleks oluşturarak 5-FU'nun bu enzimi inhibisyonunu uzatır. Böylece tek başına bolus 5-FU ile elde edilebilecek yanıtlar, leukovorin kullanımıyla yaklaşık 2 katına ulaşır. 5-FU oral kullanımı karaciğerden ilk geçişi sırasında fluorouracilin katabolizmasında hız kısıtlayıcı basamak olan DPD'nin değişken etkilerinin olmasından dolayı kararsız bir biyoyararlanıma sahiptir.

3 yıllık hastaliksız sağkalımın değerlendirildiği non-inferiority çalışmasında; opere evre-3 kolon kanserli 1004 hastaya adjuvan kapesitabin, 983 hastaya Mayo Clinic bolus 5-FU/ leucovorin tedavisi uygulanmıştır. Hastaliksız sağkalım kapesitabin kolunda, en az diğer gruba eşit olarak saptanmıştır (non-inferiority sınırı 1.2; $p<0.001$). Toksikite anlamlı olarak daha az görülmüştür ($p<0.001$). Bu çalışmayla kapesitabin, kolon kanserinin adjuvan tedavisinde intravenöz tedaviye alternatif, güvenilir bir oral tedavi seçeneği haline gelmiştir (59).

Irinotekan, topoisomerez 1 (topo-1) inhibitörüdür. Topo-1 bir nükleer enzimdir ve DNA'nın replikasyon için çözülmesine ve transkripsiyonuna yardımcı olur. Topo-1 DNA'ya bağlandığında, DNA tek zincir reversible kırıklarına neden olur. Sağlam zincir kırık zincirler arasından geçerek çözülmüş heliksi gevşetir ve sonra kırıklar tekrar kapanır. Nötropeni ve diare en sık karşılaşılan toksisitedir. Diare klinik kullanımı kısıtlayacak ciddiyette görülebilmektedir. Çok merkezli ve çok

uluslu bir faz-3 çalışmasında, Mayo Kliniğın 5-FU/leucovorin şeması ile karşılaştırıldığında irinotakan + 5-FU/leucovorin (IFL) tedavisi ile daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. IFL şeması Mayo klinik şemasından daha üstün olsa da günümüzde bu iki şema da önerilmemektedir. Özellikle kombinasyon rejimlerinde infüzyonel 5-FU şemaları etkinlik ve güvenilirlik açısından daha üstündür (60).

Oxaliptatin (OXAL), diaminocyclohexane (DACH) ailesinden üçüncü jenerasyon bir platin bileşimidir. Platin bileşiğı olmasına rağmen anlamlı nefrotoksik yan etkisi saptanmamıştır. En dikkate değer yan etkisi nörotoksisitedir. Bu nörotoksisite ellerde, ayaklarda, perioral bölgede ve boğazda parestezi ve dizestezi şeklinde ortaya çıkmaktadır.

Bevacizumab IgG1 yapısında rekombinant humanize bir monokonal antikordur. Vasküler endotelyal growth faktör (VEGF)'nin tüm izoformlarını tanıma yeteneğine sahiptir. Uygulandıktan sonraki yarı ömrü ortalama 20 gün (11-50 gün) süresindedir. Dolaşımdaki VEGF'i bağlayarak (ligand miktarını önemli oranda azaltarak reseptör aktivasyonunu engeller) endotel proliferasyonunu ve yeni damar oluşumunu engeller (61). Aynı zamanda endotel hücrelerinde apoptozisi uyararak var olan damarlarda da regresyon sağlar. Tümör dokusunda artmış intertisyel basınç, yapısal bozukluğu olan tortiyöz tümör damarlarının kollapsına ve tümör içi kan akımının bozuk olmasına yol açar. Bevacizumab doku içindeki basıncı düşürerek, tümör dokusundaki kan akımının normalizasyonunu ve böylece kemoterapi ilaçlarının tümörlü dokuya daha iyi penetre olmasını sağlar (62).

Tüm monoklonal antikorlarda olduğu gibi aşırı duyarlılık reaksiyonlarına yol açabilen bevacizumabın klinikte ilk uygulamasında 90 dakika yavaş infüzyon önerilmektedir. Reaksiyon gözlenmemesi halinde infüzyon süresi 60 dakika ve sonra 30 dakikaya kadar düşürülebilir.

Bevacizumab tedavisi altında bildirilmiş en ciddi yan etkiler; gastrointestinal perforasyon ve kanama, pulmoner tromboemboli, yara iyileşmesinde gecikme, hipertansif kriz, nefrotik sendrom ve konjestif kalp yetmezliğidir. Arteryel ve venöz trombotik olaylar görülebilen yan etkilerdendir. Bevacizumab tedavisi sırasında en sık gelişen yan etkiler ise; grade 3-4 asteni, ağrı, hipertansiyon, diyare, epistaksis ve

proteinüridir. Nadiren, geri dönüşümlü posterior lökoensefalopati vakaları bildirilmiştir.

Yara iyileşmesi aktif yeni damar oluşumu gerektiren fizyolojik bir süreç olduğundan, bevacizumab uygulaması bu süreçle etkileşerek yara iyileşmesini geciktirebilmektedir. Ortalama yarı ömrü 20 gün olan bevacizumabın cerrahi öncesi ve sonrası en az 28 gün (tercihen 60 gün) uygulanmamasında, yara iyileşmesini kontrol altına almak açısından fayda vardır.

Cetuximab (c-mab) kimerik IgG1 olan monoklonal bir antikordur. EGFR'nin ekstraselüler kısmına bağlanır. Panitumumab (p-mab) tamamen insan IgG2 yapısında monoklonal bir antikordur ve EGFR'yi hedefler. Anti-tümör etki mekanizması cetuximab ile aynıdır. Ancak tamamen insan antikoru olduğu için daha az antijenik uyarıya neden olur. Anti-EGFR ajanlarının kullanıldığı son yıllarda belki de en önemli gelişme, bu ajanların potansiyel yararlarının sadece K-RAS geninde mutasyon olmayanlarda (wild tip) ortaya çıkmasıdır.

2.6. Tümör Belirteçleri

Biyobelirteç bir organizmanın patolojik olan bir duruma verdiği tepki ya da patolojik durumunun ortaya koyduğu etki olarak kabul edilmektedir. Genetik altyapıdan, üretilmiş olan ürüne kadar geniş bir yelpazeyi içerir. Tümöral dokunun gelişim aşamaları ilgili ürünün kantitasyonu ile takip edilebilir (63). İlgili ürün nükleik asitler, proteinler, karbonhidratlar, lipidler, metabolitler gibi bir çeşitliliğe sahiptir (64). Kaliteli bir belirteçte aranan özellikler tümör küçükken pozitif sonuç vermesi, yalancı pozitiflik oranının düşük olması, maliyetinin düşük olması, hızlı sonuç vermesi, tekrarlanabilir ve sürdürülebilir olmasıdır (65).

2.6.1. Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1)

PAI-1 serin proteinaz inhibitör (SERPIN) ailesinden olup doku tipi plazminojen aktivatörün (t-PA)'nın temel inhibitörü olup aynı zamanda uPA'nın da inhibitörüdür (66)(67). t-PA plazma konsantrasyonu PAI-1 ile korelasyon göstermektedir (68). En çok endotelden sentez edilmekle beraber hormonal,

metabolik ve inflamatuvar bir durum olmaksızın da çok miktarda üretilebilmektedir (69,70). VN'ye bağlanarak stabilize olur ve subendotelde çok miktarda bulunan VN nedeniyle oluşan VN-PAI-1 kompleksi ile aktivitesi azaltılır (71). VN'nin NH-terminal somatomedin B (SMB) bölgeleri, PAI-1 ve uPAR için farklı yüksek afiniteli bağlanma bölgeleri içerir (72). VN için kompetitif bir durum söz konusudur ve uPAR'ın affinitesi görece daha düşüktür (66). VN-PAI-1 kompleksi, integrin aracılı hücre adezyonunu inhibe eder (72). Tümöral dokudan üretilen PAI-1 ise hiperkoagulabilite ve tromboz ile ilişkilidir (73).

2.6.2. uPA, uPAR ve suPAR

Plazminojenin plazmine dönüşümü açısından tPA ve uPA aracılığıyla olan dönüşümü koagulasyonda ana basamaktır. uPA'nın neden olduğu lokal proteoliz ve fibrinoliz süreci, endotel, aktif T hücre, granülosit, makrofajlar tarafınca üretilen uPAR'a bağlanarak ortaya çıkar. uPAR'ın hücre yüzeyinden proteolitik yolla ayrılmasıyla kemotaktik ve aktif bir formu olan soluble ürokinaz-tip plazminojen aktivatör reseptörü (suPAR) meydana gelmektedir (74). Bir hücre membran proteini olan uPAR, glikosil fosfatidilinositol (GPI) kancası ile hücre yüzeyine tutunur. uPAR'a uPA'nın bağlanması ile uPAR'ın mobilizasyonu kolaylaşır. suPAR (CD87) ise kanda mobil olarak dolaşan bir proteindir (75).

uPA/ uPAR kombinasyonunun gerçek biyolojik fonksiyonunun tam olarak bilinmesine rağmen suPAR'ın iltihap sürecindeki fonksiyonunun önemi uPA/ uPAR üzerine kemotaktik bir düzenleyici olduğu ve kanıtlanmıştır (75). uPA, inflamatuvar ve immünolojik yanıtlarda yer aldığı gibi; hücre migrasyonunu, adezyonunu ve proliferasyonunu da düzenlemektedir (74). Kanserli hücrelerin invazyon ve yayılımında tPA, uPA ve uPAR ile ilgili pek çok araştırma yapılmış olup uPA ve uPAR tümör hücrelerinden yoğun bir şekilde salındığının gösterilmiş olması nedeniyle tPA'ya kıyasla daha anlamlı bulunmuştur (73).

Plazma suPAR seviyesi, bağışıklığın düzeyini yansıtmakta olup ağır enfeksiyonlarda artar. Artmış inflamasyon, hastalık progresyonu ve mortalite ile ilişkili olarak bulunmuştur (75). İmmünojenik bir hücre-hücre interaksiyonunda uPAR upregulasyonu kontrol etmekte olup, normal düzeye inmesi tedavinin etkinliği

ve hastalığın prognozunu göstermesi nedeniyle belirteç olarak kullanılabilmesi öne sürülmektedir. Prognostik değeri over ve kolorektal kanserlerde sağkalım ile ilişkili olabileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (76).

uPA'nın etkin olduğu bir diğer durum da ESM'nin düzenlenmesidir. uPA aracılı aktivasyon kaskadında bir MMP'nin aktive olması diğer bir MMP'yi aktive etmektedir. Plazmin, pro-MMP-1/ pro-MMP-3/ pro-MMP-9'u aktive eder. MMP-3 ise pro-MMP-1'i aktive edebilir. MMP-1 ise pro-MMP-9'u aktive edebilir. Kaskad içinde aktive olan MMP'ler pro-MMP-2'yi aktive ederler. ESM'nin degradasyonundan asıl sorumlu olan ise MMP-2 ve MMP-9'dur. Tüm bu aktivasyonlar inflame dokudaki makrofajlar tarafından üretilen serbest oksijen radikalleri ile de bu kaskaddan bağımsız olarak da kendiliğinden olabilmektedir (77).

2.6.3. Matriks metalloproteinaz - 9 (MMP-9; Jelatinaz B)

MMP-9 ve MMP-2 işlevi nedeniyle jelatinaz olarak kabul edilmekte olup MMP-2, Jelatinaz A ve MMP-9 ise Jelatinaz B olarak adlandırılır. MMP-9 proteini, tip IV bazal membran kollajenini ve jelatini spesifik olarak parçalamakta olup; bağ dokusundaki tip III ve tip V kollajeni, elastini (78,79) ve fibronektini de parçalayabilmektedir (80).

İn situ bir karsinomun metastatik özellik kazanması için ilk önce bazal membranı aşması gerekmektedir. Bu süreç sırasında ESM degradasyonuna uğramaktadır (81). Yapılan çalışmalarda dokudaki ve dolaşımda serbest olarak dolaşan kanser hücrelerinde, dokudaki yangısal hücrelerin dahil olduğu durumlarda stromal ve yangısal hücrelerin içinde ya da serumdaki serbest MMP düzeylerindeki artış tümoral hücre metastazı, anjiogenezi ve proliferasyonu ile ilişkilendirilmektedir (82).

Tip IV kollojenin degradasyonu sırasında MMP-9, anjiogenezi tetiklemektedir (83). ESM'nin yıkımının sırasında VEGF'nin açığa çıkması ile de MMP-9 artışı nedeniyle anjiogenez tetiklenmektedir ve vasküler oluşum açısından bir şalter olarak adlandırılmaktadır. Tümör büyümesi açısından ise membrana bağlı sinyal mekanizmaları ile yıkım yoluyla ilişki kurarak hücre içine mitotik sinyallerin devamlı olarak iletilmesinde rol oynar (84).

Serum MMP-9 düzeyinin yüksekliği, metastaza yatkınlık ve kısalrııı survival ile ilişkili bulunmuştur (85). MMP-9 düzeyinin malignite sũrecinde yũkseldiđinin gũsterildiđi gibi inaktif formunun aktif formuna oranının tũmũr gelişimi ile arttığı gũsterilmiřtir (86). Dolaşımdaki MMP dũzeylerinin kanser takibinde faydalı olabileceği dũřũnũlmektedir (82).

Literatũrde MMP'ler iãinde en çok MMP-2 (Jelatinaz A) ve MMP-9 (Jelatinaz B) ile ilgili araştırma yapılmış olup pankreas, mesane, meme, prostat ve akciğerim kanserli dokularında; kondrosarkom, melanom ve gliomda; gastrointestinal sistemin (ũzafagus, mide, kolon) kanserli dokularında dũzeyinin arttığı gũsterilmiřtir (87)(88).



3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Örneklerin Alınması ve Saklanması

Çalışmaya toplam 35-40 hasta alınması planlandı. Mart-Eylül 2016 tarihleri arasında metastatik kolorektal kanseri tanısı olan ve adjuvan kemoterapi alması planlanan hastaların tedavi öncesi ve sonrasında onkoloji polikliniğinden kontrol kanları alınırken extra olarak 1 adet jelli tüpe 8-12 saat açlığı takiben sabah 8:00-9:00'da oturur pozisyonda , koldan , venöz damardan, kolun ön yüzünün%70'lik alkol (izopropil alkol, etanol) veya %10'luk povidon iyot ile sterilize edilmesi sonrası 21-yeşil uçlu veya 22-siyah uçlu iğne ile iğne giriş yerinden 10-15 cm üzerinden turnike uygulayarak toplamda 1 dakika içinde alınması, alındıktan sonra yarım saat bekletilerek 2000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmesi; sonrasında örneklerin kapaklı eppendorf tüplerine porsiyonize edilerek -20 °C'de testler çalışılana kadar saklanması planlandı.

Kontrol grubu olarak ise non-metastatik olarak kabul edilen 23 vakanın tedavi öncesi alınıp ve santrifüj edilerek serumlarının eppendorf tüplerine alınıp -20 °C'de muafaza edilmiş olan kanları kullanıldı.

3.2. Örneklerin Çalışılması

KRK'lı hastalarda prospektif olarak adjuvan KT'sinin serum suPAR, PAI-1 ve MMP-9 düzeylerinin hastalığın prognozu ile olan ilişkisini araştırmak amacıyla hastaların bazal ve adjuvan KT sonrası kanları alınarak ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi ile incelenecektir. Hastalardan bir adet jelli tüpe venöz kan alınan örnekler yarım saat bekletildikten sonra 3000 rpm de 10 dk santrifüj edilerek eppendorf tüplere porsiyonlanarak -20°C'de örnekler çalışılana kadar saklanacaktır. Belirlenen ELISA kitleriyle serum suPAR, PAI-1 ve MMP-9 düzeyi değerlendirilecektir.

3.3. ELISA Testleri

3.3.1.Soluable urokinase plasminogen activator receptor (suPAR):

Elde edilen serum örneklerinden Soluable Urokinase Plasminogen Activator Receptor (sUPAR) düzeyi ELISA kit ile sandwich enzyme- linked immunosorbent assay tekniği ile çalışılacak. Çalışılan Kit: Boster marka, Human upar, code:EK0536

3.3.2.Plasminogen activator inhibitor–1 (PAI-1):

Elde edilen serum örneklerinden Plasminogen Activator Inhibitor–1 (PAI-1) düzeyi ELISA kit ile sandwich enzyme-linked immunosorbent assay tekniği ile çalışılacak. Çalışılan Kit: Boster marka, Human pai-1, code:EK0859

3.3.3.Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9):

Elde edilen serum örneklerinden Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) düzeyi ELISA kit ile sandwich enzyme- linked immunosorbent assay tekniği ile çalışılacak. Çalışılan Kit: Boster marka, Human mmp-9, code:EK0465

4.BULGULAR

İKÇÜ/ AEAH'de hasta sayısında yeterliliğe ulaşamaması nedeniyle vaka toplama süresi mart 2016 – haziran 2017 tarihleri arasında Tıbbi Onkoloji Polikliniğine başvuran ya da konsulte edilen hastaları kapsadı. Başvuran metastatik kolorektal kanser hastalığı olan 33 vakadan kemoterapi öncesinde kan örneği alındı. Kontrol grubu olarak ise non-metastatik olarak kabul edilen 23 vakanın tedavi öncesi alınıp ve santrifüj edilerek serumlarının ependorf tüplerine alınıp -20 °C'de muafaza edilmiş olan kanları kullanıldı.

Metastatik olan 33 hastanın 10'u kadın ve 23'ü erkekti. Yaşları 34-80 arasındaydı ve yaş ortalaması 59,37 olarak hesaplandı. Tümöral oluşum 14 hastada rektumda iken 19 hastada rektosigmoid/ kolonda idi. Takiplerinde 8 hastanın ex olduğu, 11 hastanın da progrse olduğu görüldü.

Non-metastatik olan 23 hastanın 7'si kadın ve 16'sı erkekti. Yaşları 32-78 arasındaydı ve yaş ortalaması 57,45 olarak hesaplandı. Tümöral oluşum 10 hastada rektumda iken 13 hastada rektosigmoid/ kolonda idi. Takiplerinde 3 hastanın ex olduğu, 5 hastanın da progrse olduğu görüldü.

Hastaların domografik verileri detaylı olarak Tablo: 3'de belirtilmiştir.

Tablo 3: Metastatik ve non-metastatik hastaların demografik verileri

	Metastatik Grup (n: 33)	Non-metastatik Grup (n:23)
Yaş	min:32 max:78 Mean:57,45±12,47	min:34 max:80 Mean:59,39±12,79
Cinsiyet	23E (%69,7), 10K (%30,3)	16E (%69,6) 7K (%30,4)
Lokalizasyon	Rektum:14 (%42,4), Rektosigmoid ve Kolon:19 (%57,6)	Rektum:10 (%43,5) Rektosigmoid, Kolon:13 (%56,5)
CA19-9	Min:4,0 Max:31951,0 Mean:3142,78±7140,94	Min:1,0 Max:82,0 Mean:18,04±20,1
CEA	Min:0,3 Max:11564,7 Mean:845,98±2502,81	Min:0,1 Max:61,6 Mean:6,14±14,6

Tedavi öncesinde, metastatik grup ile non-metastatik grup kıyaslandığında pai-1 (p değeri: 0.030) istatistiksel düzeyde *anlamlı*; supar (p değeri: 0.009) ve mmp-9'da (p değeri: 0.003) ise *yüksek düzeyde anlamlı* olarak bulunmuştur.

Parametreler detaylı bir şekilde Tablo: 4'de değerlendirilmiştir.

Tablo 4: Metastatik grup ile non-metastatik grubunkemoterapi öncesi serum marker düzeylerinin karşılaştırılması

	Metastatik grup (n: 33)	Non-metastatik grup (n:23)	p değeri
pai-1 (ng/ml)	76,46 ± 11,41	69,39 ± 12,10	0,030
supar (ng/ml)	3,90 ± 3,41	1,93 ± 0,66	0,009
mmp-9 (ng/ml)	2455,97 ± 2879,93	803,23 ± 504,99	0,003

Tedavi öncesi olan metastatik grup ve tedavi sonrası kendisinin kontrol grubu olduğu grupta serum marker düzeylerinin kıyaslandığında tedavi sonrasında pai-1 (p değeri: 0.003), supar (p değeri: 0.007), mmp-9 (p değeri: 0.001) değerlerindeki farklılık istatistiksel düzeyde yüksek derecede anlamlı olarak bulunmuştur.

Parametreler detaylı bir şekilde Tablo: 5’de değerlendirilmiştir.

Tablo 5: Tedavi öncesi olan metastatik grup ve tedavi sonrası kendisinin kontrol grubu olduğu grupta serum marker düzeylerinin karşılaştırılması

	Tedavi öncesi (n:33)	Tedavi sonrası (n:22)	p değeri
pai-1 (ng/ml)	76,46 ± 11,41	66,56 ± 12,23	0,003
supar (ng/ml)	3,90 ± 3,41	1,83 ± 0,63	0,007
mmp-9 (ng/ml)	2455,97 ± 2879,93	624,50 ± 526,62	0,001

Değerlendirilen pai 1, supar ve mmp-9’un tedavi öncesi değerleri kullanılarak ROC yapıldı, cut off değerleri belirlendi (pai: 78,3; supar:2.74; mmp:1086). Kaplan-Meier yöntemi kullanılarak metastatik ve non-metastatik gruplarda progresyonsuz sağ kalım (PFS) ve genel sağ kalımı (OS) marker’ların cut off’larına göre değerlendirildi; ancak hem metastatik hem de non-metastatik grupta PFS ve OS açısından anlamlı bir fark bulunamadı.

Bivariate correlations ile 3 marker da PFS açısından değerlendirildi; ancak herhangi bir korelasyon yoktu.

Repeated measures ve independent samples test analizlerinde cea ve ca19-9 kendi içinde pozitif olarak korale (p değeri: 0.000); supar ise hem ca199 ile pozitif korale (p değeri 0.000) hem de cea ile pozitif olarak korale ve istatistiksel düzeyde anlamlı olarak değerlendirildi (p değeri 0.044). pai-1 ise mmp-9 ile pozitif korale olarak değerlendirildi (p değeri: 0.053).

5.TARTIŞMA

Kolorektal kanserli metastatik hastalarda PAI-1, suPAR ve MMP-9'un üçünün bir arada tedavi sonrası değerlerinin karşılaştırılmasının ilk kez yapılması açısından diğer çalışmalara öncülük etmektedir. Literatürde yapılmış olan diğer çalışmalar değerlendirildiğinde tümör yükünü göstermesi açısından takip veya prognozu ortaya koyma amaçlı kullanılabileceği konusunda öngörüler mevcuttur.

PAI-1 düzeyindeki artış pek çok solid tümörde de doğrulanmış olup bazı kanser türlerinde kötü prognozla ilişkili bulunmuştur, bu gruba KRK da dahildir (8,89–92). Chen ve arkadaşların yaptığı bir çalışmada; plasma PAI-1 düzeyleri karaciğer metastazı olan KRK'lı hastalarda yüksek olarak seyretmekte olup tümör boyutu, farklılaşma derecesi, seroza infiltrasyonu, lenf metastazı ve Duke evrelemesi ile de koreledir. KRK'lı hücrelerin proliferasyon, invazyon, migrasyon yeteneğinin PAI-1 siRNA ile ve farelerde PAI-1 knockdown hücrelerinde ekspresyonunun engellenmesiyle bu yeteneklerin azaldığı, karaciğerde daha az ve boyut olarak küçük metastatik nodüllerin olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada PAI-1 siRNA kullanılması sonrasında MMP-9 da PAI-1 gibi serum düzeyi düşük olarak bulunmuştur (9). Mevcut durum çalışmamızdaki PAI-1'in MMP-9 ile olan pozitif korelasyonu ile uyumludur.

Yapılan bazı çalışmalarda KRK'da pre-op yüksek plasma suPAR düzeylerine sahip hastalarda genel sağkalım azalmakta olup artan suPAR düzeylerinin mortalite riski ile korele olduğu gösterilmiştir. Multivariate analizler ile sağkalımda plazma suPAR düzeyindeki yüksekliğin Duke evrelemesinden, serum CEA düzeyinden bağımsız olarak kayda değer bir şekilde prognozu gösterdiğini ortaya koymuştur (93–95). KRK hastalarını da içeren geniş çaplı bazı çalışmalarda ise tümöral doku düzeyindeki uPA, uPAR ve PAI-1 düzeyleri kısa sağkalım ile ilişkili olarak bulunmuştur (96–98).

Nijziel ve arkadaşları tarafınca yapılan ve meme kanseri olan hastaları içeren bir çalışmada plazma PAI-1 ve uPA düzeylerinde metastatik, nonmetastatik grupta ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Metastazlı hastalarda da uPA, uPAR ve PAI-1 arasındaki korelasyon bulunmamıştır. suPAR düzeyleri genel sağkalım ile korele bulunamamıştır; ancak eski yapılmış çalışmalar

tümöral dokuda çalışılan uPAR düzeylerinde, nod pozitif olan post menapozal meme kanserli hastaların hastalısız sağkalımının ve genel sağkalımının kısaldığını göstermiştir (98,99).

Fernebro ve ark. ile Sier ve ark. yaptıkları çalışma ile KKK'lı hastalarda yüksek suPAR düzeylerinin kısalmış sağkalım ile ilgili olduğunu göstermiştir (100,101). Nørgaard-Pedersen B ve Nielsen HJ yaptıkları bir çalışmada serum Tetranectin ve plasma suPAR düzeylerinin hastaların sağkalımında bağımsız bir prognostik değere sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada düşük serum Tetranectin ve yüksek plasma suPAR düzeylerine sahip olan hastaların median Tetranectin ve suPAR düzeyine sahip olan hastalara göre risk artışının 2.43 olduğunu istatistiksel açıdan anlamlı olduğunu göstermiştir (102).

Serum MMP-9 düzeyinin yüksekliği, metastaza yatkınlık ve kısalmış sağkalım ile ilişkili olduğu bulunmuştur (85). Dolaşımdaki MMP düzeylerinin kanser takibinde faydalı olabileceği düşünülmektedir (82). Rašić ve ark. yaptığı bir çalışmada serum MMP-9 düzeyinin kontrol grubuna kıyasla yüksek olarak seyrettiğini ve hastalık progresyonu ile korele olarak metastatik hastalığa doğru serum değerinin arttığı gösterilmiştir (103). Biasi ve ark. yaptığı bir çalışmada evre 2-3 KKK'lı hastalarda MMP-9 serum düzeyinin kaydadeğer bir şekilde yüksek olduğu tesbit edilmiştir (104). Hurst ve ark. ve Wilson ve ark. çalışmalarında KKK'lı hastalarda MMP-9 düzeyinin yüksek olduğunu göstermiştir (105,106). Jonsson ve ark. ise plazma ve serum MMP-9 düzeylerini karşılaştırmış ve serum düzeylerinin plazma düzeylerine göre daha yüksek olduğunu göstermiştir (107).

Çalışmamızda metastatik ve non-metastatik grubun tedavi öncesi aldığımız kan örneklerinde PAI-1, suPAR, MMP-9 düzeylerinin hastalığın prognozu ile olan ilişkisini ortaya koymayı amaçlamıştık. Her üç biyobelirtecin tedavi öncesi değerleri kullanılarak ROC yapıldı, cut off değerleri belirlendi ve sağkalım analizleri için Kaplan-Meier yöntemi kullanıldı; ancak hem metastatik hem de non-metastatik grupta PFS ve OS açısından anlamlı bir fark bulunamadı. Geniş çaplı ve homojen hasta gruplarında PFS ve OS daha doğru bir şekilde ortaya konulabileceğini düşünüyoruz.

Literatürde tümoral dokuda ve dolaşımında plazmada serbest olarak değerlendirilen uPA, uPAR, suPAR, PAI-1 biyobelirteçleri ile yapılan pek çok çalışmada sağkalım analizlerinde bazen korelasyon ortaya konulabilirken bazen de ortaya konulamamaktadır. Mevcut durum farklı organlardaki farklı tümoral grupların hem doku hem hastalık hem de hasta düzeyinde lokal ve sistemik etkinliklerinin farklılığı ile açıklanabilir. Çalışmamızda doku düzeyindeki etkinlik değerlendirilmediğinden ve sadece serumdaki etkinliğine göre sağkalım analizlerimiz anlamlı sonuç vermemiş olabilir. Bu nedenle sağkalımın ortaya konulması amaçlı hem doku hem de serum etkinliğinin değerlendirilebileceği çalışma grupları daha sağlıklı sonuçlar verebilecektir.

Tedavi öncesi hastaların evrelendirilmesinin kusursuz olarak yapılmış olması metastatik-nonmetastatik hasta ayrımı açısından tedaviyi ve bunun sonucunda da hastaların sağkalımını etkilemesi nedeniyle önemlidir. Günümüzde yapılan evreleme sürecinde görüntüleme ve cerrahi patolojik inceleme temel olarak kullanılmaktadır; ancak metastatik durum ya da artmış tümör yükünün gösterilmesi, hastanın takibi ve alacağı tedavi rejimi açısından önemlidir. Metastatik ve nonmetastatik hastalık ayrımında veya başta nonmetastatik olup takiplerinde metastatik hastalığa progrese olan vakalarda ya da metastatik olup da sadece serumdan alınan bir örnek ile tedavi etkinliğinin değerlendirilebileceği vakalar açısından PAI-1, suPAR ve MMP-9 biyobelirteçleri umut vaad etmektedir.

PAI-1-VN kompleksinin, integrin aracılı hücre adezyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (72). PAI-1 ilişkili anjiogenez ise fare deneylerinde (108) ve farklı çalışmalarda anjiostatin, dolaşan antianjiogenetik faktör ve anjiostatin ile tedavi edilen metastatik hastalarda ortaya konulmuştur (109). Aşırı uPA ekspresyonu ise VN'ye bağlanamayan PAI-1 üstünden hücre migrasyonu ve doku remodellingi olabilmektedir (110). uPAR molekülü, VN üstünden integrin ilişkili hücre adezyonunda yer almaktadır (11).

Yapılan araştırmalarda ise dokuda ya da serumda bakılan marker düzeyleri korelasyon ve sağkalım analizlerinde birbirine karşıt farklılıklar ortaya çıkmaktadır. PAI-1'nin stabilize olmak amaçlı VN'yi kullanması (71), uPA'nın reseptör olarak uPAR'ı kullanması ve uPA ekspresyonunun fazlalığının uPAR'ın VN'ye

bağlanmasını arttırması (15), uPA-uPAR kompleksinin oluşması sonrasında membrana bağlı uPAR'ın GPI kancasının kopması ile dolaşıma dahil olması ile suPAR kavramının oluşması sonucu subendotelyal matriks düzeyinde uPAR konsantrasyonunun azalması ile PAI-1 affinitesinin ön plana çıkması (75), subendotelyal matriks düzeyinde PAI-1 ve uPA arasında sürekli bir rekabetin var olması (72), uPA'nın MMP kaskadının aktivasyonunda da yer alması (77), MMP-9 ve PAI-1'in bazı süreçlerde beraber rol alabilmesi (109,111) ve tip IV kollojenin yıkımı sırasında MMP-9'un VEGF üzerinden (84) ve farklı yollar üzerinden anjiogenezi tetkiklemesi (83), MMP-9 ve PAI-1 düzeyleri birbiri ile korele durumlarda yer alması gibi pek çok neden metastatik olan ve olmayan farklı kanser türlerinde ölçülen doku, serum ve plazma PAI-1, suPAR ve MMP-9 düzeylerindeki farklılıkların korelasyon ve sağkalım analizleri açısından neden farklı sonuçlar doğurduğunu açıklayabilir.

Literatürde plasma ve lokal olarak dokudan yapılan çalışmalar olmasına rağmen serum, plasma ve doku arasındaki ilişkiyi açıklayan geniş çaplı çalışmaların olmaması nedeniyle serum çalışmalarının yaygın olmasından dolayı çalışmamızda hastaların serumları kullanıldı. Daha geniş çaplı ve homojen grupları içeren bir çalışmada incelenecek olan biyobelirteçlerin serum ve lokal ekspresyonun, özellikle de genetik düzeyde değerlendirilebilmesinin maliyet koşullarının fazla olması ve homojen grupları oluşturmanın zorluğu en başta gelen kısıtlayıcı nedenlerdi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Metastatik KRK hastalarında PAI-1, suPAR, MMP-9 düzeyleri nonmetastatik hastalara kıyasla istatistiksel düzeyde anlam ifade edecek şekilde yükselmektedir.
- Metastatik KRK hastalarında tedavi sonrasında PAI-1, suPAR, MMP-9 düzeyleri tedavi öncesine kıyasla istatistiksel düzeyde anlam ifade edecek şekilde düşmektedir.
- Metastatik kolorektal kanserli hastalarda uPA ve PAI-1 ilişkisi net olarak bilinmemektedir. Bu ilişkiye etkiyen bilinen etmenlerde suPAR, VN ve PAI-1 kilit rol oynamakta olup suPAR'ın sistemik dolaşıma geçerken tümöral kitlede lokal olarak yarattığı olumlu ya da olumsuz bir etki henüz net olarak bilinmemektedir. Tümöral süreçlerin aydınlatılması için koagülasyon ve inflamasyon yanıtlarının invazyon, anjiogenez ve migrasyon basamaklarının gerçekleştiği mikroçevrede daha ayrıntılı şekilde değerlendirilmesi bize istatistiksel açıdan daha anlamlı sonuçlara ulaşmamızda yardımcı olabilir.
- Çalışmamızdaki PAI-1 ve MMP-9 düzeylerindeki pozitif korelasyonun ve diğer çalışmalarla da benzer şekilde çıkan korelasyonun nedeni net olarak bilinmemektedir.
- KRK hastalarının metastatik ve nonmetastatik hastalık ayırımında, mevcut hastalığın metastatik hastalığa progrese olduğunu göstermek amaçlı tarafımızca çalışılan biyobelirteçler kullanılabilir ve metastatik hastalığın tedavisinin etkinliği tedavi öncesinde alınan değerler ile kıyaslanarak değerlendirilebilir. Ancak biyobelirteçlerin progresyonu göstermesi açısından yapılacak çalışmalarda daha çok hastanın komorbid hastalıklar, sepsis ve ciddi sistemik inflamatuvar durumların olmadığı homojen gruplar halinde değerlendirilerek belirli cut off düzeylerinin ortaya konulması gerekmektedir. Böylece hastaların PFS ve OS'ye olan etkileri de net olarak değerlendirilebilir.
- Literatürde yapılan çalışmaların plazma, serum ve doku ekspresyonu temelli olması; aralarındaki ilişkinin geniş ölçekli çalışmalarla ortaya konamaması nedeniyle değerlendirilen biyobelirteçlerin sistemik ve doku ekspresyonlarının beraber değerlendirilmesi daha doğru bir seçenek olabilir.

ÖZET

Metastatik Kolorektal Kanserli Hastalarda Tanı Anında Serum suPAR, PAI-1 ve MMP-9 Düzeyinin Hastalığın Prognozunu İle Olan İlişkisi

Giriş: Serum suPAR, PAI-1 ve MMP-9 biyobelirteçleri KRK de dahil olmak üzere pek çok kanserde hastalığın progresyonu ile ilişkili bulunmuştur. Evreleme, tedavi, prognozu göstermeye yönelik biyolojik belirteç arayışı yoğun bir şekilde sürmektedir.

Amaç: Bu çalışmada metastatik kolorektal kanserli hastalarda tanı anında serum suPAR, PAI-1 ve MMP-9 düzeyinin hastalığın prognozunu ile olan ilişkisin ortaya koyulması amaçlandı.

Materyal-Metod: İKÇÜAEAH'de onkoloji polikliniğine başvuran henüz tedavi almamış nonmetastatik KRK hastaları ile metastatik KRK hastalarından tedavi öncesi ve tedavi sonrası kan örnekleri alındı, elde edilen serumları muhafaza edildi. ELISA yöntemi ile PAI-1, suPAR ve MMP-9 düzeyleri çalışıldı. Sonuçları prognoz ile ilişkisinin ortaya konulması amaçlı kullanıldı.

Bulgular: Tedavi öncesinde, metastatik grup ile non-metastatik grup kıyaslandığında pai-1 (p değeri: 0.030) istatistiksel düzeyde *anlamlı*; supar (p değeri: 0.009) ve mmp-9'da (p değeri: 0.003) ise *yüksek düzeyde anlamlı* olarak bulunmuştur. Tedavi öncesi olan metastatik grup ve tedavi sonrası kendisinin kontrol grubu olduğu grupta serum marker düzeylerinin kıyaslandığında tedavi sonrasında pai-1 (p değeri: 0.003), supar (p değeri: 0.007), mmp-9 (p değeri: 0.001) değerlerindeki farklılık istatistiksel düzeyde *yüksek derecede anlamlı* olarak bulunmuştur. Değerlendirilen pai 1, supar ve mmp-9'un tedavi öncesi değerleri kullanılarak ROC yapıldı, cut off değerleri belirlendi. Kaplan-Meier yöntemi kullanılarak metastatik ve non-metastatik gruplarda progresyonsuz sağ kalım (PFS) ve genel sağ kalımı (OS) marker'ların cut off'larına göre değerlendirildi; ancak hem metastatik hem de non-metastatik grupta PFS ve OS açısından anlamlı bir fark bulunamadı. Bivariate correlations ile her üç marker da PFS açısından değerlendirildi; ancak herhangi bir korelasyon yoktu. Repeated measures ve independent samples test analizlerinde cea ve ca19-9 kendi içinde pozitif olarak korale (p değeri: 0.000); supar ise hem ca199 ile pozitif korale (p değeri 0.000) hem de cea ile pozitif olarak korale ve istatistiksel düzeyde anlamlı

olarak değerlendirildi (p değeri 0.044). pai-1 ise mmp-9 ile pozitif korale olarak değerlendirildi (p değeri: 0.053).

Sonuç: Serum PAI-1, suPAR ve MMP-9 değerlerinin metastatik KKK hastalardaki prognozu gösterme durumu ortaya konulamadı; ancak metastatik-nonmetastatik hasta ayırımında ve tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi açısından gelecek vaad edebileceği kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: PAI-1, suPAR ve MMP-9, biyobelirte, metastatik kolon kanseri



ABSTRACT

Relevancy of Serum suPAR, PAI-1, MMP-9 Level And Prognosis Of Metastatic Colorectal Cancer During Diagnosis

Introduction: Serum suPAR, PAI-1 and MMP-9 biomarkers have been associated with progression of the disease in many cancers, including the CRC. The search for these biomarkers for staging, treatment, and prognosis continue intensely.

Objectives: In this study, it was aimed to determine the relation of serum suPAR, PAI-1 and MMP-9 levels with the prognosis of the disease in patients with metastatic colorectal cancer.

Materials and Methods: When the metastatic group and non-metastatic group were compared before treatment for biomarkers; PAI-1 (p value: 0.030) was statistically significant; suPAR (p value: 0.009) and MMP-9 (p value: 0.003) were found to be highly significant. The difference in the values of PAI-1 (p value: 0.003), suPAR (p value: 0.007) and MMP-9 (p value: 0.001) in the pretreatment metastatic group and in the control group after the treatment were statistically significant. ROC was performed using pretreatment values of PAI-1, suPAR, and MMP-9 evaluated and cut-off values were determined. PFS and OS were evaluated using the Kaplan-Meier method; but there was no significant difference between PFS and OS in both metastatic and non-metastatic groups. Nevertheless bivariate correlations were evaluated for all three biomarkers about PFS; but there was no correlation. In the analysis of repeated measures and independent samples, CEA and CA19-9 were positively correlated with each other (p value: 0.000); suPAR was significantly correlated with both positive with CA19-9 (p value 0.000) and CEA (p value 0.044). PAI-1 was positive correlated with MMP-9 (p value: 0.053).

Results: Serum PAI-1, suPAR and MMP-9 levels did not reveal the prognosis of patients with metastatic CRC; in according to our opinion it may promise to distinguish between metastatic and nonmetastatic patients and to evaluate treatment efficacy.

Key words: PAI-1, suPAR and MMP-9, biomarker, metastatic colorectal cancer

KAYNAKLAR

1. Eser S. Türkiye’de kanser insidansı. Ankara, TC Sağlık Bakanl Kanser Savaş Daresi Başkanlığı Yayınları. 2007;17–45.
2. Ferlay J, Soerjomataram I I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* [Internet]. 2014;136(5):E359-86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25220842>
3. Andreasen PA, Kjøller L, Christensen L, Duffy MJ. The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis: a review. *Int J cancer*. 1997 Jul 3;72(1):1–22.
4. Petersen LC, Lund LR, Nielsen LS, Danø K, Skriver L. One-chain urokinase-type plasminogen activator from human sarcoma cells is a proenzyme with little or no intrinsic activity. *J Biol Chem* [Internet]. 1988 Aug 15 [cited 2017 Jun 9];263(23):11189–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2969891>
5. Ploug M, Rønne E, Behrendt N, Jensen AL, Blasi F, Danø K. Cellular receptor for urokinase plasminogen activator. Carboxyl-terminal processing and membrane anchoring by glycosyl-phosphatidylinositol. *J Biol Chem* [Internet]. 1991 Jan 25 [cited 2017 Jun 9];266(3):1926–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1846368>
6. Ellis V, Scully MF, Kakkar V V. Plasminogen activation initiated by single-chain urokinase-type plasminogen activator. Potentiation by U937 monocytes. *J Biol Chem* [Internet]. 1989 Feb 5 [cited 2017 Jun 9];264(4):2185–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2521625>
7. McMahon BJ, Kwaan HC. Components of the Plasminogen-Plasmin System as Biologic Markers for Cancer. In: *Advances in experimental medicine and biology* [Internet]. 2015 [cited 2017 Jun 9]. p. 145–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26530365>

8. Andreasen PA. PAI-1 - a potential therapeutic target in cancer. *Curr Drug Targets* [Internet]. 2007 Sep [cited 2017 Jun 9];8(9):1030–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17896954>
9. Chen H, Peng H, Liu W, Sun Y, Su N, Tang W, et al. Silencing of plasminogen activator inhibitor-1 suppresses colorectal cancer progression and liver metastasis. *Surgery* [Internet]. 2015 Dec [cited 2017 Jun 9];158(6):1704–13. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039606015005383>
10. Tang L, Han X. The urokinase plasminogen activator system in breast cancer invasion and metastasis. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2013 Mar [cited 2017 Jun 9];67(2):179–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23201006>
11. Wei Y, Lukashev M, Simon DI, Bodary SC, Rosenberg S, Doyle M V, et al. Regulation of integrin function by the urokinase receptor. *Science* [Internet]. 1996 Sep 13 [cited 2017 Jun 9];273(5281):1551–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8703217>
12. Stefansson S, Lawrence DA. The serpin PAI-1 inhibits cell migration by blocking integrin alpha V beta 3 binding to vitronectin. *Nature* [Internet]. 1996 Oct 3 [cited 2017 Jun 9];383(6599):441–3. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/383441a0>
13. Deng G, Curriden SA, Wang S, Rosenberg S, Loskutoff DJ. Is plasminogen activator inhibitor-1 the molecular switch that governs urokinase receptor-mediated cell adhesion and release? *J Cell Biol* [Internet]. 1996 Sep [cited 2017 Jun 9];134(6):1563–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8830783>
14. Abe J, Urano T, Konno H, Erhan Y, Tanaka T, Nishino N, et al. Larger and more invasive colorectal carcinoma contains larger amounts of plasminogen activator inhibitor type 1 and its relative ratio over urokinase receptor correlates well with tumor size. *Cancer* [Internet]. 1999 Dec 15 [cited 2017 Jun 9];86(12):2602–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10594855>

15. Kanse SM, Kost C, Wilhelm OG, Andreasen PA, Preissner KT. The urokinase receptor is a major vitronectin-binding protein on endothelial cells. *Exp Cell Res* [Internet]. 1996 May 1 [cited 2017 Jun 9];224(2):344–53. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014482796901445>
16. Vihinen P, Kähäri V-M. Matrix metalloproteinases in cancer: Prognostic markers and therapeutic targets. *Int J Cancer* [Internet]. 2002 May 10 [cited 2017 Jun 9];99(2):157–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11979428>
17. Sato H, Takino T, Miyamori H. Roles of membrane-type matrix metalloproteinase-1 in tumor invasion and metastasis. *Cancer Sci* [Internet]. 2005 Apr [cited 2017 Jun 9];96(4):212–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15819718>
18. Johnsen M, Lund LR, Rømer J, Almholt K, Danø K. Cancer invasion and tissue remodeling: common themes in proteolytic matrix degradation. *Curr Opin Cell Biol* [Internet]. 1998 Oct [cited 2017 Jun 9];10(5):667–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9818179>
19. Liabakk NB, Talbot I, Smith RA, Wilkinson K, Balkwill F. Matrix metalloprotease 2 (MMP-2) and matrix metalloprotease 9 (MMP-9) type IV collagenases in colorectal cancer. *Cancer Res* [Internet]. 1996 Jan 1 [cited 2017 Jun 9];56(1):190–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8548762>
20. Zeng ZS, Huang Y, Cohen AM, Guillem JG. Prediction of colorectal cancer relapse and survival via tissue RNA levels of matrix metalloproteinase-9. *J Clin Oncol* [Internet]. 1996 Dec [cited 2017 Jun 9];14(12):3133–40. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.1996.14.12.3133>
21. Buğra D. Kolon, Rektum, Anal Bölge Anatomisi. *Türkiye Klin J Surg*. 2004;9(1):1–9.
22. Kaptan B. Çukurova Bölgesinde Kolorektal Kanserli Hastalarda Kras Mutasyonu Görülme Sıklığına Bakılarak Tedavide Kullanılan İlaçlara Yönelik Prediktif Biyomarkerlerinin Tespitinin Önemi. Çukurova Üniversitesi; 2010.

23. Wirtzfeld D a, Petrelli NJ, Rodriguez-Bigas M a. Hamartomatous polyposis syndromes: molecular genetics, neoplastic risk, and surveillance recommendations. *Ann Surg Oncol*. 2001;8(4):319–27.
24. Nelson RL, Dollear T, Freels S, Persky V. The relation of age, race, and gender to the subsite location of colorectal carcinoma. *Cancer* [Internet]. 1997;80(2):193–7. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9217029
25. Obrand DI, Gordon PH. Continued change in the distribution of colorectal carcinoma. *Br J Surg*. 1998;85(2):246–8.
26. Colman RJ, Rubin DT. Histological inflammation increases the risk of colorectal neoplasia in ulcerative colitis: a systematic review. *Intest Res* [Internet]. 2016;14(3):202–10. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4945523&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>
27. Chen R, Lai LA, Brentnall TA, Pan S. Biomarkers for colitis-associated colorectal cancer. Vol. 22, *World Journal of Gastroenterology*. 2016. p. 7882–91.
28. Ekobom A, Helmick C, Zack M, Adami HO. Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med* [Internet]. 1990;323(18):1228–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2215606>
29. Velayos FS, Terdiman JP, Walsh JM. Effect of 5-aminosalicylate use on colorectal cancer and dysplasia risk: a systematic review and metaanalysis of observational studies. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2005;100(6):1345–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15929768>
30. Weedon DD, Shorter RG, Ilstrup DM, Huizenga KA, Taylor WF. Crohn's Disease and Cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 1973;289(21):1099–103. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM197311222892101%5Cnpapers2://publication/doi/10.1056/NEJM197311222892101>

31. Henderson TO, Oeffinger KC, Whitton J, Leisenring W, Neglia J, Meadows A, et al. Secondary gastrointestinal cancer in childhood cancer survivors: A cohort study. *Ann Intern Med.* 2012;156(11):757–66.
32. Nottage K, McFarlane J, Krasin MJ, Li C, Srivastava D, Robison LL, et al. Secondary colorectal carcinoma after childhood cancer. *J Clin Oncol.* 2012;30(20):2552–8.
33. Delhougne B, Deneux C, Abs R, Chanson P, Fierens H, Laurent-Puig P, et al. The prevalence of colonic polyps in acromegaly: A colonoscopic and pathological study in 103 patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(11):3223–6.
34. Giovannucci E. Insulin and colon cancer. Vol. 6, *Cancer Causes and Control.* 1995. p. 164–79.
35. Fedirko V, Tramacere I, Bagnardi V, Rota M, Scotti L, Islami F, et al. Alcohol drinking and colorectal cancer risk: An overall and dose-Response meta-analysis of published studies. Vol. 22, *Annals of Oncology.* 2011. p. 1958–72.
36. Martinez ME, Giovannucci E, Spiegelman D, Hunter DJ, Willett WC, Colditz GA. Leisure-time physical activity, body size, and colon cancer in women. Nurses'Health Study Research Group. *J Natl Cancer Inst [Internet].* 1997;89(13):948–55. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9214674
37. Giovannucci E, Ascherio a, Rimm EB, Colditz G a, Stampfer MJ, Willett WC. Physical activity, obesity, and risk for colon cancer and adenoma in men. Vol. 122, *Annals of internal medicine.* 1995. p. 327–34.
38. Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet [Internet].* 2008;371(November):569–78. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014067360860269X>

39. Boyle T, Keegel T, Bull F, Heyworth J, Fritschi L. Physical activity and risks of proximal and distal colon cancers: A systematic review and meta-analysis. Vol. 104, *Journal of the National Cancer Institute*. 2012. p. 1548–61.
40. Koushik A, Hunter DJ, Spiegelman D, Beeson WL, Van Den Brandt PA, Buring JE, et al. Fruits, vegetables, and colon cancer risk in a pooled analysis of 14 cohort studies. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99(19):1471–83.
41. Choi SW, Mason JB. Folate and carcinogenesis: an integrated scheme. *J Nutr* [Internet]. 2000;130(2):129–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10720158>
42. Ulvik A, Evensen ET, Lien EA, Hoff G, Vollset SE, Majak BM, et al. Smoking, folate and methylenetetrahydrofolate reductase status as interactive determinants of adenomatous and hyperplastic polyps of colorectum. *Am J Med Genet*. 2001;101(3):246–54.
43. Chung M, Lee J, Terasawa T, Lau J, Trikalinos TA. Vitamin D with or without calcium supplementation for prevention of cancer and fractures: An updated meta-analysis for the U.S. preventive services task force. Vol. 155, *Annals of Internal Medicine*. 2011. p. 827–38.
44. Burt RW, DiSario J a, Cannon-Albright L. Genetics of colon cancer: impact of inheritance on colon cancer risk. *Annu Rev Med*. 1995;46:371–9.
45. Bisgaard ML, Fenger K, B??low S, Niebuhr E, Mohr J. Familial adenomatous polyposis (FAP): Frequency, penetrance, and mutation rate. *Hum Mutat*. 1994;3(2):121–5.
46. Petersen GM, Slack J, Nakamura Y. Screening guidelines and premorbid diagnosis of familial adenomatous polyposis using linkage. *Gastroenterology*. 1991;100(6):1658–64.
47. Lynch HT, Smyrk T, McGinn T, Lanspa S, Cavalieri J, Lynch J, et al. Attenuated familial adenomatous polyposis (AFAP) a phenotypically and genotypically distinctive variant of FAP. *Cancer*. 1995;76(12):2427–33.

48. Sieber OM, Segditsas S, Knudsen a L, Zhang J, Luz J, Rowan a J, et al. Disease severity and genetic pathways in attenuated familial adenomatous polyposis vary greatly but depend on the site of the germline mutation. *Gut* [Internet]. 2006;55(10):1440–8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1856441&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>
49. Bianchi LK, Burke CA, Bennett AE, Lopez R, Hasson H, Church JM. Fundic Gland Polyp Dysplasia Is Common in Familial Adenomatous Polyposis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008;6(2):180–5.
50. Vasen HFA, Möslin G, Alonso A, Aretz S, Bernstein I, Bertario L, et al. Guidelines for the clinical management of familial adenomatous polyposis (FAP). *Gut*. 2008;57(5):704–13.
51. Bisgaard ML, Bülow S. Familial adenomatous polyposis (FAP): Genotype correlation to FAP phenotype with osteomas and sebaceous cysts. *Am J Med Genet*. 2006;140 A(3):200–4.
52. Quehenberger F, Vasen HFA, van Houwelingen HC. Risk of colorectal and endometrial cancer for carriers of mutations of the hMLH1 and hMSH2 gene: correction for ascertainment. *J Med Genet* [Internet]. 2005;42(6):491–6. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1736072&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>
53. Burt RW. Familial risk and colorectal cancer. Vol. 25, *Gastroenterology Clinics of North America*. 1996. p. 793–803.
54. Slanetz C a, Grimson R. Effect of high and intermediate ligation on survival and recurrence rates following curative resection of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 1997;40(10):1205-1218-1219.
55. Figueras J, Torras J, Valls C, Llado L, Ramos E, Marti-Ragu?? J, et al. Surgical resection of colorectal liver metastases in patients with expanded indications: A single-center experience with 501 patients. *Dis Colon Rectum*. 2007;50(4):478–88.

56. Trial SRC. Improved Survival with Preoperative Radiotherapy in Resectable Rectal Cancer. *N Engl J Med*. 1997;336:980–7.
57. Compton CC. Colorectal carcinoma: diagnostic, prognostic, and molecular features. *Mod Pathol* [Internet]. 2003;16(4):376–88. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12692203>
58. Heidelberger C, Chanakari NK, Danenberg PV et al. Fluorinated pyrimidines: a new class of tumor inhibitory compounds. *Nature*. 1957;179:663.
59. Twelves C, Wong A, Nowacki MP, Abt M, Burris H 3rd, Carrato A, et al. Capecitabine as adjuvant treatment for stage III colon cancer. *N Engl J Med*. 2005;352(26):2696–704.
60. Saltz LB, Cox J V, Blanke C, Rosen LS, Fehrenbacher L, Moore MJ, et al. Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan Study Group. *N Engl J Med*. 2000;343(13):905–14.
61. Ferrara N, Hillan KJ, Gerber H-P, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2004;3:391–400.
62. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: Basic science and clinical progress. Vol. 25, *Endocrine Reviews*. 2004. p. 581–611.
63. Srivastava S, Wagner PD. Risk-based and diagnostics-linked personalized medicine for cancer. *Per Med* [Internet]. 2007;4(1):33–43. Available from: <http://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/17410541.4.1.33>
64. Nass SJ, Moses HL. Cancer Biomarkers: The Promises and Challenges of Improving Detection and Treatment. *Cancer Biomarkers*. 2007.
65. Pepe MS, Etzioni R, Feng Z, Potter JD, Thompson ML, Thornquist M, et al. Phases of biomarker development for early detection of cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93(14):1054–61.
66. Czekay RP, Aertgeerts K, Curriden SA, Loskutoff DJ. Plasminogen activator inhibitor-1 detaches cells from extracellular matrices by inactivating integrins. *J Cell Biol*. 2003;160(5):781–91.

67. The fibrinolysis system: regulation of activity and physiologic functions of its main components. - PubMed - NCBI [Internet]. [cited 2017 Jun 15]. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=The+fibrinolysis+system%3A+regulation+of+activity+and+phsiologic+functions+of+its+main+components>
68. Rott D, Leibowitz D, Finci-Yeheskel Z, Barak V, Chajek-Shaul T, Weiss T, et al. The Relationship of Plasminogen Activator Inhibitor-1 Levels to the ST Deviation Pattern of Acute Myocardial Infarction. *Cardiology* [Internet]. 2009 [cited 2017 Jun 15];112(1):56–9. Available from:
<http://www.karger.com/doi/10.1159/000137700>
69. Vaughan DE. PAI-1 and atherothrombosis. In: *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2005. p. 1879–83.
70. Lijnen HR, Collen D. Endothelium in hemostasis and thrombosis. *Prog Cardiovasc Dis*. 1997;39(4):343–50.
71. Keijer J, Ehrlich HJ, Linders M, Preissner KT, Pannekoek H. Vitronectin governs the interaction between plasminogen activator inhibitor 1 and tissue-type plasminogen activator. *J Biol Chem*. 1991;266(16).
72. Okumura Y, Kamikubo Y, Curriden SA, Wang J, Kiwada T, Futaki S, et al. Kinetic analysis of the interaction between vitronectin and the urokinase receptor. *JBiolChem*. 2002;277(0021–9258 (Print)):9395–404.
73. Gouin-Thibault I, Achkar A, Samama MM. The thrombophilic state in cancer patients. Vol. 106, *Acta Haematologica*. 2001. p. 33–42.
74. Ara M, Projes T, Okulu E, Ak M. YENİDOĞAN SEPSİSİNDE SOLUBLE ÜROKİNAZ PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR RESEPTÖR (suPAR) DÜZEYLERİNİN İNCELEMESİ. 2012;
75. Rabna P, Andersen A, Wejse C, Oliveira I, Gomes VF, Haaland MB, et al. Utility of the Plasma Level of suPAR in Monitoring Risk of Mortality during TB Treatment. *PLoS One*. 2012;7(8).

76. Oliveira I, Andersen A, Furtado A, Medina C, da Silva D, da Silva ZJ, et al. Assessment of simple risk markers for early mortality among HIV-infected patients in Guinea-Bissau: a cohort study. *BMJ Open* [Internet]. 2012;2(6):e001587. Available from: <http://bmjopen.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmjopen-2012-001587>
77. Beaudoux JL, Giral P, Bruckert E, Foglietti MJ, Chapman MJ. Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2004;42(2):121–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15061349>
78. Ennis BW, Matrisian LM. Matrix degrading metalloproteinases. *J Neurooncol*. 1993;18(2):105–9.
79. Evans JD, Ghaneh P, Kawesha A, Neoptolemos JP. Role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in pancreatic cancer. *Digestion* [Internet]. 1997;58(6):520–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9438596>
80. Sethi CS, Bailey TA, Luthert PJ, Chong NH. Matrix metalloproteinase biology applied to vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol* [Internet]. 2000 Jun [cited 2017 Jun 15];84(6):654–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10837397>
81. Engbring JA, Kleinman HK. The basement membrane matrix in malignancy. Vol. 200, *Journal of Pathology*. 2003. p. 465–70.
82. Zucker S, Cao J. Measurement of matrix metalloproteinases in serum of patients with melanoma: snarled in technical pitfalls. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2005 Jul 15 [cited 2017 Jun 15];11(14):5069–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16033818>
83. Gueders MM, Foidart JM, Noel A, Cataldo DD. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in the respiratory tract: Potential implications in asthma and other lung diseases. Vol. 533, *European Journal of Pharmacology*. 2006. p. 133–44.

84. Christiansen JJ, Rajasekaran AK. Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis. *Cancer Res* [Internet]. 2006 Sep 1 [cited 2017 Jun 15];66(17):8319–26. Available from: <http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/0008-5472.CAN-06-0410>
85. Nikkola J, Vihinen P, Vuoristo M-S, Kellokumpu-Lehtinen P, Kähäri V-M, Pyrhönen S. High serum levels of matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase-1 are associated with rapid progression in patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2005;11(14):5158–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16033831>
86. Matsuyama A, Sakai N, Ishigami M, Hiraoka H, Kashine S, Hirata A, et al. Matrix metalloproteinases as novel disease markers in Takayasu arteritis. *Circulation*. 2003;108(12):1469–73.
87. Duffy MJ, McGowan PM, Gallagher WM. Cancer invasion and metastasis: changing views. [Internet]. Vol. 214, *The Journal of pathology*. 2008. p. 283–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18095256>
88. John a, Tuszynski G. The role of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis and tumor metastasis. *Pathol Oncol Res* [Internet]. 2001;7(1):14–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11349215>
89. Stefansson S, McMahon G a, Petittclerc E, Lawrence D a. Plasminogen activator inhibitor-1 in tumor growth, angiogenesis and vascular remodeling. *Curr Pharm Des* [Internet]. 2003;9(19):1545–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12871067>
90. Angenete E, Langenskiöld M, Palmgren I, Falk P, Öresland T, Ivarsson ML. uPA and PAI-1 in Rectal Cancer-Relationship to Radiotherapy and Clinical Outcome. *J Surg Res*. 2009;153(1):46–53.
91. Langenskiöld M, Holmdahl L, Angenete E, Falk P, Nordgren S, Ivarsson ML. Differential prognostic impact of UPA and pai-1 in colon and rectal cancer. *Tumor Biol*. 2009;30(4):210–20.

92. Sier CFM, Vloedgraven HJM, Ganesh S, Griffioen G, Quax PHA, Verheijen JH, et al. Inactive urokinase and increased levels of its inhibitor type 1 in colorectal cancer liver metastasis. *Gastroenterology*. 1994;107(5):1449–56.
93. Minton JP, Hoehn JL, Gerber DM, Horsley JS, Connolly DP, Salwan F, et al. Results of a 400-patient carcinoembryonic antigen second-look colorectal cancer study. *Cancer*. 1985;55(6):1284–90.
94. Moertel CG, O’Fallon JR, Go VL, O’Connell MJ, Thynne GS. The preoperative carcinoembryonic antigen test in the diagnosis, staging, and prognosis of colorectal cancer. *Cancer* [Internet]. 1986;58(3):603–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3731019>
95. Kos J, Nielsen HJ, Krasovec M, Christensen IJ, Cimerman N, Stephens RW, et al. Prognostic values of cathepsin B and carcinoembryonic antigen in sera of patients with colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 1998;4(6):1511–6.
96. Pedersen H, Brüner N, Francis D, Osterlind K, Rønne E, Hansen HH, et al. Prognostic impact of urokinase, urokinase receptor, and type 1 plasminogen activator inhibitor in squamous and large cell lung cancer tissue. *Cancer Res* [Internet]. 1994;54(17):4671–5. Available from: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=8062262&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers2://publication/uuid/76F25495-171E-4A47-B6D8-3E136E7921B8>
97. Ganesh S, Sier CF, Heerding MM, Griffioen G, Lamers CB, Verspaget HW. Urokinase receptor and colorectal cancer survival. *Lancet* (London, England) [Internet]. 1994 Aug 6 [cited 2017 Jul 26];344(8919):401–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7914317>
98. Grøndahl-Hansen J, Peters HA, van Putten WL, Look MP, Pappot H, Rønne E, et al. Prognostic significance of the receptor for urokinase plasminogen activator in breast cancer. *Clin Cancer Res*. 1995;1(10):1079–87.

99. Duggan C, Maguire T, McDermott E, O'Higgins N, Fennelly JJ, Duffy MJ. Urokinase plasminogen activator and urokinase plasminogen activator receptor in breast cancer. *Int J Cancer* [Internet]. 1995;61(5):597–600. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7768629>
100. Sier CFM, Stephens R, Bizik J, Mariani A, Bassan M, Pedersen N, et al. The Level of Urokinase-type Plasminogen Activator Receptor Is Increased in Serum of Ovarian Cancer Patients¹. *CANCER Res* [Internet]. 1998;58:1843–9. Available from: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/canres/58/9/1843.full.pdf>
101. Fernebro E, Madsen RR, Fernö M, Brünner N, Bendahl P, Christensen IJ, et al. Prognostic importance of the soluble plasminogen activator receptor, suPAR, in plasma from rectal cancer patients. *Eur J Cancer* [Internet]. 2001 Mar [cited 2017 Jul 27];37(4):486–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11267858>
102. Høgdaal CK, Christensen IJ, Stephens RW, Sørensen S, Nørgaard-Pedersen B, Nielsen HJ. Serum tetranectin is an independent prognostic marker in colorectal cancer and weakly correlated with plasma suPAR, plasma PAI-1 and serum CEA. *APMIS* [Internet]. 2002 Sep [cited 2017 Jul 27];110(9):630–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12529016>
103. Rašić I, Rašić A, Akšamija G, Radović S, Šehović N. The association between the serum levels of matrix metalloproteinase 9 and colorectal cancer. *Med Glas (Zenica)* [Internet]. 2017 Aug 1 [cited 2017 Jul 27];14(2). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28644426>
104. Biasi F, Guina T, Maina M, Nano M, Falcone A, Aroasio E, et al. Progressive increase of matrix metalloprotease-9 and interleukin-8 serum levels during carcinogenic process in human colorectal tract. Monleon D, editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 Jul 25 [cited 2017 Jul 27];7(7):e41839. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0041839>

105. Hurst NG, Stocken DD, Wilson S, Keh C, Wakelam MJO, Ismail T. Elevated serum matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) concentration predicts the presence of colorectal neoplasia in symptomatic patients. *Br J Cancer* [Internet]. 2007 Oct 8 [cited 2017 Jul 27];97(7):971–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17912241>
106. Wilson S, Damery S, Stocken DD, Dowswell G, Holder R, Ward ST, et al. Serum matrix metalloproteinase 9 and colorectal neoplasia: a community-based evaluation of a potential diagnostic test. *Br J Cancer* [Internet]. 2012 Apr 10 [cited 2017 Jul 27];106(8):1431–8. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/bjc.2012.93>
107. Jonsson A, Hjalmarsson C, Falk P, Ivarsson M-L. Levels of matrix metalloproteinases differ in plasma and serum - aspects regarding analysis of biological markers in cancer. *Br J Cancer* [Internet]. 2016 Sep 6 [cited 2017 Jul 27];115(6):703–6. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/bjc.2016.127>
108. Bajou K, Noël A, Gerard RD, Masson V, Brunner N, Holst-Hansen C, et al. Absence of host plasminogen activator inhibitor 1 prevents cancer invasion and vascularization. *Nat Med* [Internet]. 1998;4(8):923–8. Available from: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cmedm&AN=9701244&site=ehost-live>
109. Aggarwal BB, Shishodia S, Sandur SK, Pandey MK, Sethi G. Inflammation and cancer: How hot is the link? *Biochem Pharmacol*. 2006;72(11):1605–21.
110. Chavakis T, Kanse SM, Yutzy B, Lijnen HR, Preissner KT. Vitronectin concentrates proteolytic activity on the cell surface and extracellular matrix by trapping soluble urokinase receptor-urokinase complexes. *Blood* [Internet]. 1998;91(7):2305–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9516128>
111. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* [Internet]. 2002;420(6917):860–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12490959>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC2803035>
<http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nature01322>

