



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KOLOREKTAL KARSİNOGENEZİSTE
MİKRO RNA'NİN ROLÜ**

Dr. Ferda KÖKSAL

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Hikmet AKKIZ**

ADANA-2011

TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmamın oluŐmasında ve yürütülmesinde her türlü desteği gösteren ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocam ve tez danıŐmanım Prof. Dr. Hikmet AKKIZ'a, tüm eğitim sürecimde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarıma teŐekkürlerimi sunuyorum.

Biyostatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. YaŐar SERTDEMİR'e, Gastroenteroloji lab. ÇalıŐanları Ersin AKGÖLLÜ, Aynur BEKAR ve Selçuk YILDIRIM'a, her zaman yanımda olan aileme sonsuz teŐekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	IV
ŞEKİL LİSTESİ	V
ÖZET ve ANAHTAR KELİMELER.....	VI
ABSTRACT and KEY WORDS	VII
KISALTMALAR LİSTESİ.....	VIII
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kolorektal Karsinom.....	3
2.1.1. Risk Faktörleri	4
2.1.2. Etyoloji.....	5
2.1.2.1. Diyete Bağlı Faktörler	5
2.1.2.2. Genetik Faktörler	6
2.1.2.3. Adenomlar	7
2.1.2.4. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları İle İlişkisi	7
2.1.2.5. Sigara İçimi	8
2.1.2.6. Diabetes Mellitus ve İnsülin Rezistansı.....	8
2.1.2.7. Kolesistektomi	8
2.1.2.8. Diğer Faktörler	8
2.1.3. Koruyucu Faktörler.....	9
2.1.4. Patogenez	10
2.1.4.1. Kromozomal İnstabilite.....	10
2.1.4.2. APC Gen	11
2.1.4.3. RAS Onkogen.....	11
2.1.4.4. Kromozom 18q (DCC: deleted in colorectal cancer).....	11
2.1.4.5. P53 Gen	12
2.1.4.6. Mikrosatellit İnstabilite	12
2.1.4.7. Metilasyon.....	12

2.1.4.8. MikroRNA	13
2.1.5. Tümör Lokalizasyonu.....	20
2.1.6. Klinik Özellikler.....	20
2.1.7. Tanı	20
2.1.8. Kolorektal Kanselerde Histopatoloji.....	23
2.1.9. Evreleme	25
2.1.10. Labaratuar	28
2.1.11. Tedavi.....	28
2.1.11.1. Kolon Kanseri Tedavisi.....	28
2.1.11.2. Rektum Kanseri Tedavisi.....	29
2.1.12. Prognoz	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	35
3.1. Hasta Seçimi	35
3.2. Çalışma Dışı Bırakma Kriteri.....	35
3.3. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler	35
3.4. Çalışmada Kullanılan Stok Solüsyonlarının Hazırlanması	37
3.5. DNA İzolasyon Yöntemi.....	39
3.6. PCR-RFLP Analizi	40
3.7. İstatiksel Analizler	40
4. BULGULAR.....	41
5. TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	60

TABLO LİSTESİ

Tablo No:

Sayfa No:

Tablo 1. Kolorektal Karsinomda MikroRNA'nın Değişen Ekspresyonu	19
Tablo 2. Kontrol ve Hasta Grubunun Cinsiyet Oranlarının Karşılaştırılması	41
Tablo 3. Yaş Açısından Grupların Karşılaştırılması	41
Tablo 4. Hasta Yaşı ve Lokalizasyon Karşılaştırılması	42
Tablo 5. MiRNA Polimorfizmi ve Hasta Gruplarının Karşılaştırılması.....	42
Tablo 6. MiRNA Gen Polimorfizmi ve Lokalizasyon Karşılaştırması	43
Tablo 7. Hastalık Evresi ve Lokalizasyon Karşılaştırması.....	43
Tablo 8. MiRNA Gen Polimorfizmi ve Hastalık Evresi Karşılaştırması	44
Tablo 9. MiRNA Gen Polimorfizmi ve Cinsiyet Karşılaştırması.....	45
Tablo 10. MiRNA196 ve Metastaz Varlığının Karşılaştırılması.....	45
Tablo 11. MiRNA Gen Polimorfizmi ve Vasküler İnvazyon Karşılaştırması.....	46
Tablo 12. MiRNA Gen Polimorfizmi ve Lenf Nodu Tutulumu Karşılaştırması	46
Tablo 13. MiRNA Polimorfizminin CA 19-9, CEA, BMI, tm Hacmi Karşılaştırması.....	47
Tablo 14. Tümör Boyutu, BMI, CEA, CA 19-9 Düzeyi ile Lokalizasyon Karşılaştırması	47

ŞEKİL LİSTESİ

Sekil No:

Sayfa No:

Şekil 1. 2001-05 arasında KKK tanısı alan ve KKK'ye bağlı ölen hastaların yaş aralıklarına göre dağılımı	4
Şekil 2. Polip ve kanser gelişimi.....	13
Şekil 3. MicroRNA'ların oluşumu	15

ÖZET

Kolorektal Karsinomda Mikro RNA'nın Rolü

Giriş ve Amaç: Kolorektal kanserler her iki cinste en sık görülen 3. kanser olup, tüm kansere bağlı ölümlerde akciğer kanserinden sonra en fazla öldüren kanser türüdür. Kolorektal karsinogeneziste protein kodlamayan, ancak protein kodlayan genlerin protein ifadelerini düzenleyen miRNA molekülünün rolü tanımlanmıştır. Bu çalışmada; MiRNA-196a-2 gen polimorfizminin kolorektal karsinogenezisteki rolü araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Çukurova Üniversitesi Tıp Fak'ne başvuran patolojik olarak kolorektal kanser teşhisi konmuş, kemoterapi veya radyoterapi naif 84 hasta çalışmaya alındı. Çalışmaya katılmayı kabul eden hastalardan bilgilendirici yazılı onam alındı. Hastaların; yaş, cinsiyet, sigara/ alkol içip içmedikleri, kanser evresi, lenf nodu tutulumu, vasküler invazyon, metastaz durumu, ailede Ca öyküsü, CEA, CA-19-9 düzeyleri kaydedildi. Alınan kan örneklerinden MiRNA-196a-2 gen polimorfizmleri çalışıldı. Kaydedilen parametreler ile gen polimorfizmlerinin karşılaştırılması için SPSS.20 istatistik programı kullanıldı.

Bulgular: MiRNA-196a-2 gen polimorfizmleri ile hastalık evresi, lenf nodu tutulumu, vasküler invazyon, CEA, CA 19-9 düzeyi, BMI, tümör boyutu, metastaz durumu, cinsiyet karşılaştırıldığı zaman istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Hasta ve kontrol grubu olarak ayrıldığı zaman ise gen polimorfizmi ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcut idi. (p: 0,001)

Sonuç: MiRNA-196a-2 gen polimorfizminin CC genotip homozigot formunun kolorektal kanser risk artışı ile ilişkisi bulunmamaktadır. Çalışmaya alınan hasta sayısının az olması ve daha erken evrelerdeki hastalardan örnek alınmış olması çalışmamızın sonuçlarını olumsuz etkilemiş olabilir.

Anahtar Sözcükler: Kolorektal kanser, mikro RNA, polimorfizm

ABSTRACT

Micro RNA's Role In Colorectal Carcinoma

Background and Aims: In both sexes colorectal cancer is the third most common cancer and after lung cancer is the second leading cause of cancer related deaths overall. In this study we investigated the role of microRNA gen polymorphism in colorectal carcinogenesis.

Methods: In this study 84 patients with pathologically proven colorectal cancer who did not receive chemotherapy or radiotherapy were enrolled. Written informed consent was received from the patients in the beginning of study. Patients age, sex, smoking/alcohol drinking status, lymph node involvement, vascular invasion, metastatic status, family history of colorectal cancer, CEA, CA 19-9 levels recorded. In blood samples miRNA-196a-2 gene polymorphism were studied by using PCR-RFLP method. The parameters recorded for comparison with the gene polymorphisms SPSS.20 statistical program was used.

Results: When MiRNA polymorphism and disease stage, lymph node involvement, vascular invasion, CEA, CA 19-9 level, BMI, tumor size and sex compared a statistically significant difference was not found. When stratified into the patient and control group showed a statistically significant association with polymorphisms of the gene was present. (p: 0.001)

Conclusion: There is no association between MiRNA-196a-2 gene polymorphism CC genotype homozygous form and an increased risk of colorectal cancer. The small number of patients and patients with earlier stages taken in the sample may have negatively affected the results of our study.

Key Words: Colorectal cancer, micro RNA, polymorphism

KISALTMALAR LİSTESİ

CEA	: Karsinoembriyonik Antijen
DCC	: Deleted in colorectal cancer
DM	: Diabetes Mellitus
DGKT	: Dışkıda Gizli Kan Testi
FAP	: Familyal Adenomatöz Polipozis
HNPCC	: Herediter Nonpolipozis Kolorektal Kanser
IGF-1	: İnsülin-Like Growth Faktör
KRK	: Kolorektal karsinom
MMR	: Mismatch Repair Genler
MSI	: Mikrosatellit İnstabilite
NSAİD	: Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar
OD	: Otozomal Dominant
RISC	: RNA-induced silencing complex
TAG	: Tümörle ilişkili glikoprotein
TME	: Total Mezorektal Eksizyon
APC	: Adenomatöz Polipozis Koli
COX	: Siklooksijenaz
LOH	: Loss of Heterozigot
KLL	: Kronik Lenfositik Lösemi
HCC	: Hepatosellüler Kanser
KRAS	: Kirsten ras
NRAS	: Nöroblastom ras
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
RT	: Radyoterapi
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kolorektal kanser erişkinlerde tüm kanserlerin yaklaşık %10'nunu oluşturmaktadır. Hem erkeklerde hem de kadınlarda tüm kanserler arasında üçüncü sıklıkta görülen kanserdir. Erkeklerde akciğer ve prostat kanserinden sonra, kadınlarda ise akciğer ve meme kanserinden sonra kansere bağlı ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada yer almaktadır. Erkeklerde ve kadınlarda eşit sıklıkta gözlenmektedir.

Kolorektal kanser gelişimi açısından çevresel ve genetik faktörler gelişme riskini arttırmaktadır. Ortalama görülme yaşı 60-65 olup, 45 yaşından sonra her 10 yılda ikiye katlanarak, 75 yaş civarında en yüksek düzeyine ulaşır. Risk faktörleri arasında diyet, genetik faktörler, inflamatuvar barsak hastalığı, sigara, diabetes mellitus gibi faktörler bulunmaktadır.

Kolorektal karsinogenezde 2 moleküler yolak rol almaktadır; a) Kromozomal instabilite, b) Mikrosatellit instabilite. Kanser moleküler patogenezinin aydınlatılmasında protein kodlamayan, ancak protein kodlayan genlerin ekspresyonunu negatif olarak düzenleyen miRNA molekülü tanımlanmıştır.

MiRNA'nın hücrede birçok biyolojik sürece; hücre gelişimi, hücre farklılaşması, proliferasyon ve apoptozis gibi katıldığı bildirilmektedir. MiRNA ekspresyonu ve buna bağlı olarak serum miRNA konsantrasyonu tümörler arasında belirgin farklılık gösterir. MiRNA'lar karsinogenezde rol oynayabilirler. MiRNA'ların bazıları tümör süpresör gen gibi fonksiyon yaparken, bazı miRNA'lar onkogen gibi davranmaktadır. MiRNA'ların ekspresyonunda artma ya da azalma kolorektal karsinogenezde önemli olabilir. Kolorektal karsinomda anahtar sinyal yollarındaki proteinler (Wnt/ beta katenin, fosfotidilinositol-3 kinaz yolağı, KRAS, p53 gibi) miRNA regülasyonundan etkilenmektedir. Yapılan diğer çalışmalarda pankreas adenokarsinomunda, meme, özefagus, T hücreli ALL, kolorektal kanserde miR-196 düzeyi yüksek bulunmuştur. Frereichs ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kolorektal kanserde pro-onkogenik etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

MiRNA ekspresyon düzeyinin lenf nodu metastazı, uzak metastaz, prognozla ilişkisi olduğu bilinmektedir. MiRNA'nın pro-onkogenik önemi, prognoz ve metastaz ile ilişkisinden dolayı bizde bu çalışmada yeni tanı, kemoterapi veya radyoterapi almamış

kolorektal kanserli hastalardan alınan kan örneklerinde PCR-RFLP yöntemi ile miRNA-196a-2 gen polimorfizmi ile hastalık evresi ve risk faktörleri ilişkisini çalışmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

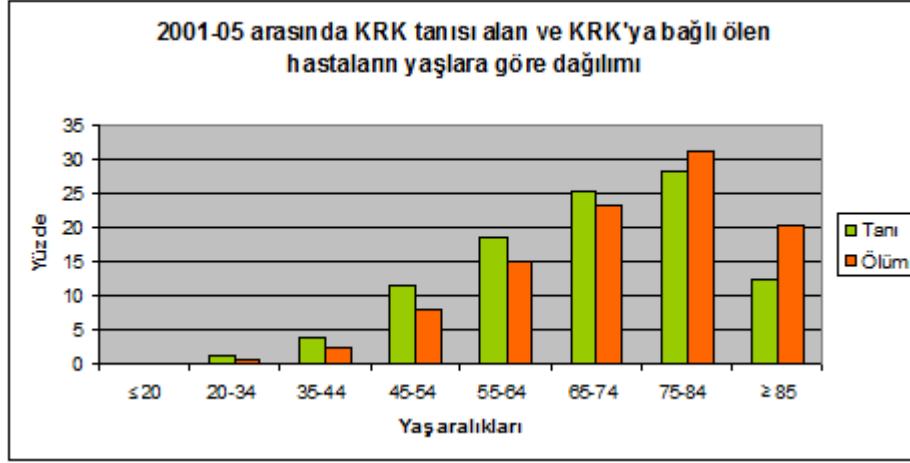
2.1. Kolorektal Karsinom

Kolorektal kanser (KRK) tüm dünyada 3. sıklıkta görülen kanser olup, ortalama her yıl 1 milyon yeni olgu ve 500 bin ölüm bildirilmektedir⁽¹⁾. KRK hem kadın hem erkeklerde eşit sıklıkta izlenmektedir. KRK gelişimi çevresel ve genetik faktörlerden etkilenmektedir. Yapılan çalışmalarda yağ ve kaloriden zengin, posadan fakir diyetle beslenen toplumlarda kolorektal kanser oranlarının en yüksek olduğu gösterilmiştir.

Kolorektal kanser Avrupa ve batı ülkelerinde kanserden ölüm nedenleri arasında kadınlarda meme kanserinden, erkeklerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada gelmektedir. Kolorektal kanser görülme sıklığı gelişmiş ülkelerde, gelişmekte olan ülkelere göre daha yüksektir. Asya ve Afrika'da sıklık batıya oranla daha düşüktür, ancak Doğu Avrupa ve Japonya'da son yıllarda belirgin bir artış gözlenmektedir. Amerika'da ise insidans ve mortalite oranları zencilerde daha yüksektir⁽²⁾.

Yaş sporadik KRK için major risk faktörüdür. Kolorektal kanser insidansı 40-45 yaşından sonra belirgin olarak artar, her 10 yılda ikiye katlanarak 75 yaş civarında en yüksek düzeyine ulaşır. Ortalama izlenme yaşı 60-65'tir. Ailevi polipozis, ülseratif kolit veya ailevi kanser sendromları gibi genetik yatkınlık durumlarında kanser daha erken yaşlarda görülür ve prognozu daha kötüdür.

1980'lerden sonra Amerika'da ve birçok batı ülkesinde KRK'e bağlı ölüm oranı azalmaktadır. Bu sonuca kolon poliplerinin erken dönemde saptanması ve endoskopik olarak eksize edilmesi, KRK'lere erken evrede tanı konulması, daha etkin tedavi protokolleri ile uygulanan adjuvan tedaviler katkıda bulunmaktadır⁽³⁾.



Şekil 1. 2001-05 arasında KRK tanısı alan ve KRK'ya bağlı ölen hastaların yaş aralıklarına göre dağılımı

Eskisine göre kolon kanserlerinin lokalizasyonu sağa kaymıştır. Bu durum sigmoidoskopi ve polipektominin daha çok uygulanmasıyla rektum ve sigmoid kolon kanserlerinde azalma olmasıyla açıklanmaktadır⁽⁴⁾.

Genetik çalışmalarda kolon tümörlerinin % 10'nun genetik olarak yatkın bireylerde geliştiği gösterilmiştir. Kolon kanserine genetik predispozan durumlar dominant olarak geçen Familial Adenomatöz Polipozis (FAP) ve Hereditör Nonpolipozis Kolorektal Kanser (HNPCC) sendromudur⁽³⁾.

2.1.1. Risk Faktörleri

Çevresel ve genetik faktörler kolorektal kanser gelişme riskini arttırmaktadır. Kolorektal kanser vakaları çoğunlukla familial yerine sporadik vakalardan oluşmaktadır. FAP ve HNPCC tüm kolorektal kanserlerin % 5'ini oluşturmaktadır⁽⁶⁾. FAP otozomal dominant olarak kalıtılan, tüm kolonda çok sayıda adenomatöz polip gelişimiyle karakterli bir hastalıktır, kromozom 5 üzerinde lokalize adenomatöz polipozis genindeki (APC geni) germline mutasyonlar sonucu oluşmaktadır. Semptomların görülme yaşı ortalama 16 olup, % 90 hastada 45 yaş civarı kolorektal kanser gelişimi beklenmektedir.

Gardner sendromu polipozis kolonun bir alt grubu olup, yumuşak doku ve kemik tümörleri, retina pigment epitelinin konjenital hipertrofisi, mezenterik desmoid tümörler ve ampüller kanserlerin varlığına ilaveten kolonik polipler ile karakterizedir⁽⁷⁾.

Turcot sendromu santral sinir sistemi malign tümörlerinin yanında polipozis kolonun eşlik etmesi olarak tarif edilir. Tüm bu durumlarda kolonik polipler püberteden önce oldukça nadir bulunur fakat genel olarak etkileri 25 yaşlarında belirgin hale gelir⁽⁷⁾.

2.1.2. Etiyoloji

2.1.2.1. Diyete Bağlı Faktörler

Yüksek yağ oranlı diyetlerde kolon kanseri riski artmıştır. Hayvansal yağların alınması ile normal safra asitlerinin kanserojenlere dönüşmesi ile sonuçlanan barsak mikroflorasında orantılı olarak anerobların artışı gözlenmektedir^(8,9). Düşük oranlı yağ içeren balık, kümes hayvanları gibi ürünlerin tüketimi tavsiye edilmektedir. Lifli, yeşil yapraklı sebzeler ve meyveler antioksidan vitamin kaynağı olup kanser oluşumunu engellemektedir. Posa fekal transit zamanını azaltarak, fekal karsinojenlerle kolonun temasını azaltır, dışkı kütlelerini arttırarak karsinojenleri dilüe eder^(8,9). Yapılan bir çalışmada günde 800 gr'dan fazla sebze ve meyve tüketimi, 200 gr'dan az tüketen grupla kıyaslandığı zaman distal kolon kanseri insidansında azalma saptanmış. Sedanter yaşam ve obezite diyet yağı ile bağlantılı olarak kolorektal kanser riskini arttırmaktadır. C vitamini, tokoferol ve selenyum barsak epitelini kuvvetli mutajen olan fekapentanlardan ve diğer karsinojenik tahribattan korur. E ve C vitaminleri polipektomi sonrası rektal adenomun tekrar etme sayısını azaltırlar⁽¹⁰⁾. Sarımsak kolon kanseri riskini, detoksifiye enzim içermesi, tümör çoğalmasına engel olması veya antibakteriyel aktivitesi ile tersine çevirir. Alkol alımı anormal DNA metilasyonundan dolayı kolon kanseri ve adenom görülme riskini arttırır. Yapılan çalışmalarda kolorektal kanser riskini arttıran alkol alımının ortalama 45 gr/dl günlük alımı ile ilişkili olup, 30-45 gr/dl alanlarda oranın azaldığı saptanmış ve azalmış folat alımı ile de ilişkili bulunmuş^(11,12,13). Yeşil çay ve kahve kolon kanseri gelişimine karşı koruyucu olabilir. Özellikle günde sekiz fincandan fazla kahve içilmesinin faydalı olacağı iddia edilmektedir⁽¹⁰⁾.

2.1.2.2. Genetik Faktörler

Hereditör nonpolipozis kolon kanseri sendromları (HNPCC): FAP ve HNPCC en yaygın ailevi kolon kanser sendromlarından olmasına rağmen tüm kolorektal kanser vakalarının yalnızca % 5'ini oluşturmaktadır⁽⁵⁾.

HNPCC'de sporadik kanserlerden farklı olarak kanser daha erken yaşta ortaya çıkmakta, özellikle sağ kolona yerleşmekte, müsinöz ve kötü diferansiye kanser ile senkron ve metakron kanser gelişme riski yüksektir⁽¹⁴⁾. Klinik tanısında Amsterdam kriterlerinden yararlanır. Bunlar;

- 1) Üç veya daha fazla akrabada histolojik olarak doğrulanmış kolorektal kanser, akrabaların biri diğer ikisinin 1.derece akrabası olmalı
- 2) En az 2 nesli etkileyen familyal kolorektal kanser
- 3) 50 yaşından önce tanı konan 2 veya daha fazla familyal kolorektal kanser olgusu HNPCC iki sendromdan (Lynch I ve Lynch II) oluşur.

Lynch I sendromu; erken başlangıçlı, başlıca sağ tarafta ve sıklıkla birden çok lokalizasyonda kolon kanserinin görüldüğü tiptir.

Lynch II sendromu; Lynch I sendromuna benzer ve ek olarak endometrium, meme, mide, over gibi kolorektal dışı kanserlere eğilim gösterir⁽¹⁵⁾.

Ailesel polipozis koli (FAP) : Otozomal dominant olarak geçen, tüm kolonda çok sayıda adenomatöz polip gelişimiyle karakterli bir hastalıktır. Tüm kolon karsinomlarının % 0.5'i FAP'dan kaynaklanmaktadır. Adenomatöz Polipozis Koli (APC) geninde mutasyon vardır. APC geni 5q21'de lokalizedir. Genellikle hayatın ikinci on yılında görülür. FAP demek için en az 100 polip olmalıdır. Tedavi edilmezse hemen daima kalın barsakta bir veya daha fazla karsinom gelişir. Çoğu karsinom üçüncü on yılda başlayacağından profilaktik kolektomi en geç 20-25 yaşlarında yapılmalıdır^(16,17). Sulindac tedavisi, FAP'da kolonik poliplerde regresyona neden olmaktadır. Sulindac, siklooksijenaz aktivitesini inhibe eder, ayrıca defektif apoptozisi de düzeltir. COX-2 inhibisyonu adenomda regresyona neden olur. Meselazinin de benzer etkisi olduğu bildirilmektedir⁽¹⁷⁾.

Muir-Torre sendromu: Otozomal dominant geçer, kolon kanseri erken yaşta gelişir, sporadik kolon kanserinden daha iyi prognozu vardır⁽⁶⁾.

Gardner sendromu: OD geçişlidir. Kalın barsakta adenomatöz polipler, kafatası ve mandibulada osteomlar, deride keratinöz kistler, yumuşak doku

neoplazilerinin görüldüğü ailesel bir hastalıktır. Kolorektal kanser gelişme riski yüksektir⁽⁶⁾.

Turcot sendromu: OD geçişlidir. Kolorektal adenomatöz poliplerle birlikte glioblastom tipi beyin tümörleri vardır⁽⁶⁾.

Peutz-Jeghers sendromu: OD kalıtım gösterir. LKB1 gen mutasyonu mevcuttur. Ağır derecede atipi gösteren adenomatöz poliplerin bazılarında KRK gelişebilir. Pankreas, meme, akciğer, over ve uterus kanser gelişim riski artmıştır⁽¹⁸⁾.

Cowden sendromu: Mukokutanöz lezyonlar (fasyal trisilemmoma, akral keratoz ve oral mukozal papillom), kolorektal polipler ve değişik bölgelerde artmış malignite riski ile karakterize OD bir hastalıktır. 10. kromozomda lokalize PTEN geninde mutasyon vardır⁽¹⁸⁾.

Cronkhite-Canada sendromu: Mide, ince barsak ve kolon boyunca, juvenil tipte jeneralize gastrointestinal polipozis ile karakterizedir. Bu poliplerde adenomatöz değişiklikler ve kolon kanseri gelişebilir. Kutanöz hiperpigmentasyon, alopesi, onikodistrofi, diyare, kanama, kilo kaybı vardır⁽¹⁸⁾.

2.1.2.3. Adenomlar

Adenomatöz polipler benign glandüler neoplaziler olup kolon kanseri gelişiminin habercisi olabilirler. Erkeklerde daha sık görülmekte olup, 60-70 yaş civarı pik yapar. Adenoma predominant glandüler paternin histolojik yapısına göre sınıflandırılır⁽¹⁹⁾. Tubuler adenoma % 80-86, tubulovillöz adenoma % 8-16, villöz adenoma % 3-16 oranında görülmektedir. Tübüler adenomlar genelde 1 cm'den küçük olan poliplerdir. Villöz adenomlar biraz daha büyük yapıdadır. Polip büyüklüğü sol kolonda ve kolon kanserinin sık olduğu bölgelerde daha fazladır. Bütün kolorektal adenomalar displaziktir. Adenomaların malign potansiyeli büyüklük, histolojik tip, displazi derecesi ile ilişkilidir. Tübüler adenomalar hafif displazik, villöz adenomlar daha fazla displaziktir^(19,20).

2.1.2.4. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları İle İlişkisi

Ülseratif kolitli hastalarda özellikle tüm kolon tutulumu varsa ve hastalık süresi 20 yıldan uzun süreli ise kolorektal kanser gelişme riski yaklaşık 6 kat artmaktadır.

Ülseratif kolit ve kanser gelişimi arasındaki ilişki tutulan kolon bölgesinin uzunluğu, hastalık aktivitesi ve süresi ile ilişkilidir. Ülseratif kolit tedavisi için kullanılan tedaviler KRK kanser gelişme riskini azaltmaktadır. (5-ASA, sulfosalazin gibi) ⁽²¹⁾.

Chron hastalığı ile ilgili veriler az olmakla birlikte ülseratif kolit kadar sık olmasada kanser sıklığı artmaktadır.

2.1.2.5. Sigara İçimi

Tütün kullanımı rektal kanser ve adenom insidansını önemli ölçüde arttırmaktadır. İlk kullanım yaşının erken olması ve yıllık paket sayısı kanser riskini artırır ⁽²²⁾.

2.1.2.6. Diabetes Mellitus ve İnsülin Rezistansı

Yapılan çalışmalarda DM artmış kolorektal kanser riski ile ilişkili bulunmuş. İnsülin kolonik mukozal hücreler için önemli bir büyüme faktörü ve kolonik tümör hücrelerini stimüle ediyor. Yüksek IGF-1 düzeyleri KRK ile ilişkili bulunurken, yüksek IGFBP-3 düzeyleri KRK'dan koruyucu faktör olarak tespit edilmiş. Aynı şekilde benzer ilişki yüksek serum C-peptit düzeyleri ve KRK arasında da tespit edilmiş ^(25,26).

2.1.2.7. Kolesistektomi

Kolesistektomi (primer safra asitlerinden sekonder safra asitlerine değişim, kolonun proliferatif etkisini artırır) ile özellikle sağ kolon kanserleri arasında ilişki varken, adenoma ile ilişki yoktur ^(23,24).

2.1.2.8. Diğer Faktörler

- Akromegalide kolon Ca ve adenoma insidansı artmıştır. Kolonik neoplaziler genç akromegaliklerde daha fazladır.
- Üreterosigmoidostomide 2-38 yıl sonra adenoma gelişebilir. Fekal flora varlığında, üriner N-nitrozaminlerin etkisine bağlı olabilir ⁽³⁰⁾.
- Str. bovis bakteriyemisinde adenoma açısından kolonik tetkik yapılmalıdır ⁽²⁸⁾.

- Renal transplant hastalarında uzun dönem immünsüpresyona bağlı KRK gelişme riski artmaktadır⁽²⁹⁾.
- Hodgkin lenfoma yetersiz tedavisi ile KRK arasında artmış risk saptanmış.
- Yapılan bir çalışmada da prostat kanseri için RT alan hastalarda rektum kanseri insidansında artış saptanmış⁽²⁷⁾.
- HIV (+) hastalarda kolorektal kanser insidansında artış saptanmış⁽²⁶⁾.

2.1.3. Koruyucu Faktörler

- Fiziksel aktivite
- Fazla kalsiyum almak
- Folat desteği
- Selenyum desteği
- NSAİİ
- Östrojen ve progesteron hormon tedavisi
- Diyetle fiber desteği
- Sebze ve meyve
- Vitamin B6 (piridoksin) desteği

Fiziksel aktivite veya artmış aktivite gözlenmeksizin kilo veren kişilerde kolorektal kanser insidansında cinsiyet farkı gözlenmeksizin azalma olmaktadır⁽³¹⁾. Fiziksel aktivitenin etki mekanizmaları ise; azalmış insülin direnci, hiperinsülinemi, anti inflamatuvar aktivite, azalmış barsak geçiş zamanı ve yüksek vitamin D seviyeleri ile ilişkilidir. Yüksek dozda kalsiyum alınması da özellikle distal tümörlerde koruyucu role sahiptir⁽³²⁾. Düşük miktarlarda magnezyum alınmasının da hem kolon hem de rektum kanserinde koruyucu olduğu söylenmektedir⁽³³⁾. Aspirin ve diğer NSAİİ ilaçlar da düzenli kullanıldıkları zaman adenom ve kolon karsinomu gelişme riskini azaltıyorlar. Aspirin ve diğer NSAİİ'nin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte siklooksijenaz 2 inhibisyonu ile apoptoz artışı ve tümör hücre büyümesi azaltılarak etki etmektedir⁽³⁴⁾. Postmenopozal hormon tedavisi de (östrojen ve progesteron kombinasyonu) kolorektal karsinoma karşı koruyucu role sahip⁽³⁵⁾.

2.1.4. Patogenez

Kolorektal karsinogenezde genomik instabilitenin tipine bağlı olarak iki farklı moleküler gelişim modeli tanımlanmıştır: 1. kromozomal instabilite yolağı ve 2. DNA mikrosatellit instabilite yolağı. Kolorektal karsinogenezdeki bu gelişim modellerinden ilkinde çeşitli onkogen ve tümör süpressör genlerde görülen seri mutasyonların ardı ardına kümülasyonu sonucu kromozomal instabilite ortaya çıkmaktadır. Kromozomal instabilite tüm kromozomun kaybı veya kazanımı sonucu oluşan aneuploidi olarak isimlendirilen durumdur. Epitele mutasyonlara maruz kalması ve büyüme dengeleyici genlerin etkilenmesi sonucu apoptozis önlenmiş olur. Bu süreçte birçok somatik genetik mutasyon söz konusudur. Bu modele adenomakarsinoma sekans adı verilmiştir Tek histolojik kript lezyonu ardından kolorektal adenom ardından KRK oluşur. Adenom karsinom dönüşümü ortalama 10 yıl sürer. APC tümör supresör gende görülen mutasyon adenom gelişimi boyunca erken dönemde yer almakta, daha sonra adenomatöz evre boyunca k-ras mutasyonu, maligniteye geçişte ise p53 mutasyonu ve kromozom 18q delesyonundan söz edilmektedir. İkinci yolak ise DNA mismatch onarım genlerindeki genetik bozukluklar nedeniyle oluşan mikrosatellit instabilitesi üzerinden gerçekleşmektedir. DNA “mismatch repair” genler (MMR) spontan mutasyonlar sonucu DNA’da oluşan uyumsuz baz çifti eşleşmelerini belirler ve hatanın tespit edilmesinden sonra ortadan kaldırılması ve düzeltilmiş nükleotidin yerleştirilmesinden sorumludur. DNA “mismatch repair” genler replikasyon boyunca doğru DNA sentezinin sağlanmasında rol alarak genomun stabilizasyonunu sağlarlar. Etkin MMR gen aktivitesinin yokluğunda mikrosatellit instabilite (MSI) gözlenir.

2.1.4.1. Kromozomal İnstabilite

Prototipi olup tüm kromozomda veya kromozomun büyük kısmında kayıp veya kazanma ile oluşan (aneuploidi) bir durumdur. Diğer taraftan wild tipi denem somatik mutasyon sonucu etkilenen loss of heterozigot (LOH) her iki genin bir kısmının etkilendiği durumdur. KRK % 80 mekanizmasında yer alır. Daha birçok genetik predispozan faktörler olmasına rağmen esasen kazanılmış olan somatik mutasyonlar daha fazla sorumludur. Birçok somatik mutasyon olmasına rağmen bunlardan dört

tanesi önemlidir. Bir tanesi RAS onkogen aktivasyonu, diğerleri tümör süpresör gen inaktivasyonları olan 5q (APC), 17p (DCC, SMAD4 ve SMAD2)'dur.

2.1.4.2. APC Gen

Adenom karsinom sekansında esas anahtarı çeviren gen olup pediatrik yaş grubundaki FAP hastalarında tespit edilmiştir. APC gen mutasyonu adenom karsinom dönüşümünde en erken tespit edilen mutasyondur. İlk önce mikroskopik olarak tespit edilen aberran mikroskopik kript fokusu ardından adenom ve karsinom dönüşümü olur. Tümör süpresör olup WNT sinyal iletiminde önemli rol oynar. Normal APC gen β -catenin seviyesini düşürerek β -catenin/T cell faktör ilişkili transkripsiyon önlenmiş olur. Aksi takdirde transkripsiyonel ilişkili büyüme genleri örneğin MYC geni aktive olur⁽⁴⁶⁾.

2.1.4.3. RAS Onkogen

Kitsen ve Harvey tarafından ilk defa farelerde tanımlanan ve intermediate aşamada kolorektal adenomdan karsinoma dönüşüm aşamasında kullanılmış bir onkogendir. Doku kültüründeki transform hücrelerinde tespit edilmiştir. Daha sonra KRAS (Kirsten RAS) ve NRAS (neuroblastom RAS) 1 cm'den büyük poliplerde % 50 den fazla oranda tespit etti. 1 cm'den küçük poliplerde çok az rastlanılır. KRAS mutasyonlarının % 85'i kodon 12 ve 13 üzerinde yer alır. KRAS gen GTP bağlayıcı proteini kodlar. Bu protein hücre membranındaki mitojenik sinyal değişimini sağlar. KRAS aktivasyonu ile GDT den GTP oluşur. Bu şekilde spesifik transkripsiyonel faktörler kaskadı başlar^(47,48).

2.1.4.4. Kromozom 18q (DCC: deleted in colorectal cancer)

Yeni bir tümör süpresör gen olup hepatik metastazları olan kolorektal kanserlerin hemen hepsinde tespit edilmiştir. 18q nun LOH (loss of heterozigot) sonucu orta ve geç evrede (APC ve K-ras mutasyonundan sonra) adenomlara dönüşüm olur. Bu mutasyonun saptanması kötü prognoz işaretidir. Sadece kolorektal tümörlerde değil, prostat, endometrial, over, özefagus, meme, testis, glial, nöroblastom ve hematolojik malignitelerde de düzeyleri düşük bulunmuştur. Evre III hastalarda adjuvan fluorourasil

bazlı kemoterapiye yanıtsızlıkla da ilişkilidir. Yine DCC kolorektal epitelyal RAC1 proteini sinyalinini down regüle ederler ve caspas-9 ile hücre ölümünü indükler^(36,38,39).

2.1.4.5. P53 Gen

1979 yılında tümör virusleri tarafından enfekte edilen hücrelerde tespit edilmiştir. 17p üzerinde lokalizedir. Tümör süpresör gen olup hücre büyümesini inhibe ederler. P53 393 aa protein kodlar bu da spesifik sekanslarda büyüme inhibisyonunda bağlanır ve transkripsiyonu aktive eder. P53 geni 20 farklı gen ilişkili olup, apoptozis ilişkilidir. En iyi tanımlanmış olan p21 ekspresyonu ile ilgili olanıdır. P21 G1 ve G2 hücre siklüsünde durmayı sağlar.p53 mutasyonu sıklıkla rektal tümörlerde izlenmektedir. Proksimal tümörlerde lenfatik invazyon ile ilişkili olup, distal tümörlerde düşük survi ile ilişkilidir^(40,41).

2.1.4.6. Mikrosatellit İnstabilite

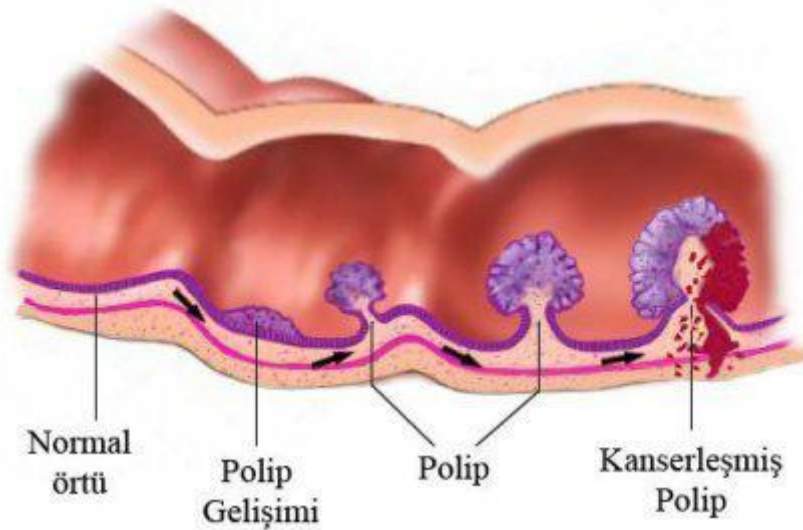
Hücre bölünmesi sırasında spontan ya da çevresel etkilerle birçok DNA hasarı oluşur. Replikasyon hataları DNA polimerazın 3' - 5' eksonükleaz aktivitesi ile hemen düzeltilir. Bu onarımdan kaçan hatalar ise mismatch repair (MMR) denilen bir sistem yoluyla onarılır. DNA mismatch tamir genlerinin kaybı sonucu mikrosatellit adı verilen tekrarlayan kısa DNA dizileri, DNA replikasyonu sırasında dengesizleşir ve bu durum tekrarlayan dizilerde devam ederek mikrosatellit dengesizliği oluşturur. Mikrosatellit dizilerinin çoğu genlerin kodlayıcı bölgeleri üzerinde bulduklarından bu genlerde meydana gelen mutasyonlar sessizdir. Fakat bazıları hücre büyüme regülasyonu ile ilişkili genlerin kodlayıcı bölgelerinde yer alır. Tekrarlayan ünitelerde insersiyon veya kaybolmaya neden olur. TGF β sinyalizasyonu kolon epitelyum hücrelerinde büyümeyi engeller. Mismatch tamir genlerinin kaybı bu genlerde ve diğer genlerde mutasyonlarının birikmesine ve KKR yol açar. KKR'lerin % 15-20'sinde tanımlanmıştır. MMR genleri hMLH1, hMSH2, hMSH6, PM1S, hPMS2'dir^(44,45).

2.1.4.7. Metilasyon

Gen metilasyonları gen fonksiyonlarını etkilerler örneğin metilasyonun azalması sonucu normalde sessiz olan genin ekspresyonuna neden olurlar. Ters olarak bir genin

metilasyonu sonucu ise gende büyüme aktivasyonu olabilir. Bir tümör süpresör gen olan CDKN2A mutasyonu kolorektal adenomada ve kolorektal kanserlerin % 40'ında saptanmaktadır.p16 metilasyonu ise daha çok yaşlı hastalarda ve sağ kolon yerleşimli tümörlerde görülmektedir^(42,43).

Adenom → karsinoma sekansının aşamaları şu şekilde şematize edilebilir: Normal epitel → Kromozom 5q üzerinde APC ve MCC lokusunun kaybı veya mutasyonu → Hiperproliferatif epitel → DNA metilasyon kaybı → Erken evredeki adenom → Kromozom 12p üzerindeki ras geninin mutasyonu → Orta evredeki adenom → Kromozom 18q üzerindeki DCC geninin kaybı → Geç evredeki adenom → Kromozom 17p üzerindeki p53 geni kaybı → Karsinom⁽³⁷⁾.



Şekil 2. Polip ve kanser gelişimi

2.1.4.8. MikroRNA

MikroRNA (miRNA) 'lar yüksek seviyede korunan DNA bölgelerinden kodlanan fakat proteine translasyonu gerçekleşmeyen, yaklaşık 18-24 nükleotid uzunluğunda küçük RNA molekülleridir⁽⁴⁹⁾. Bu protein kodlamayan RNA molekülleri kendi nükleotid dizilerinin tamamlayıcısı olan hedef mRNA'lara bağlanıp translasyonel baskılama veya mRNA yıkımı ile transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunun düzenlenmesini gerçekleştirirler. MiRNA'lar bu yolağı kullanarak hücre proliferasyonu,

hücre farklılaşması veya hücre ölümü gibi homeostatik süreçlerde önemli roller oynarlar. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda kontrolsüz hücre bölünmesinin gerçekleştiği kanser hücrelerinde değişikliğe uğramış miRNA ekspresyonu araştırılmış. Kanser başlamasında ve ilerlemesinde, miRNA'lar hedefledikleri genin karakterine göre tümör süpresörler veya onkogenler gibi fonksiyon göstermektedirler.

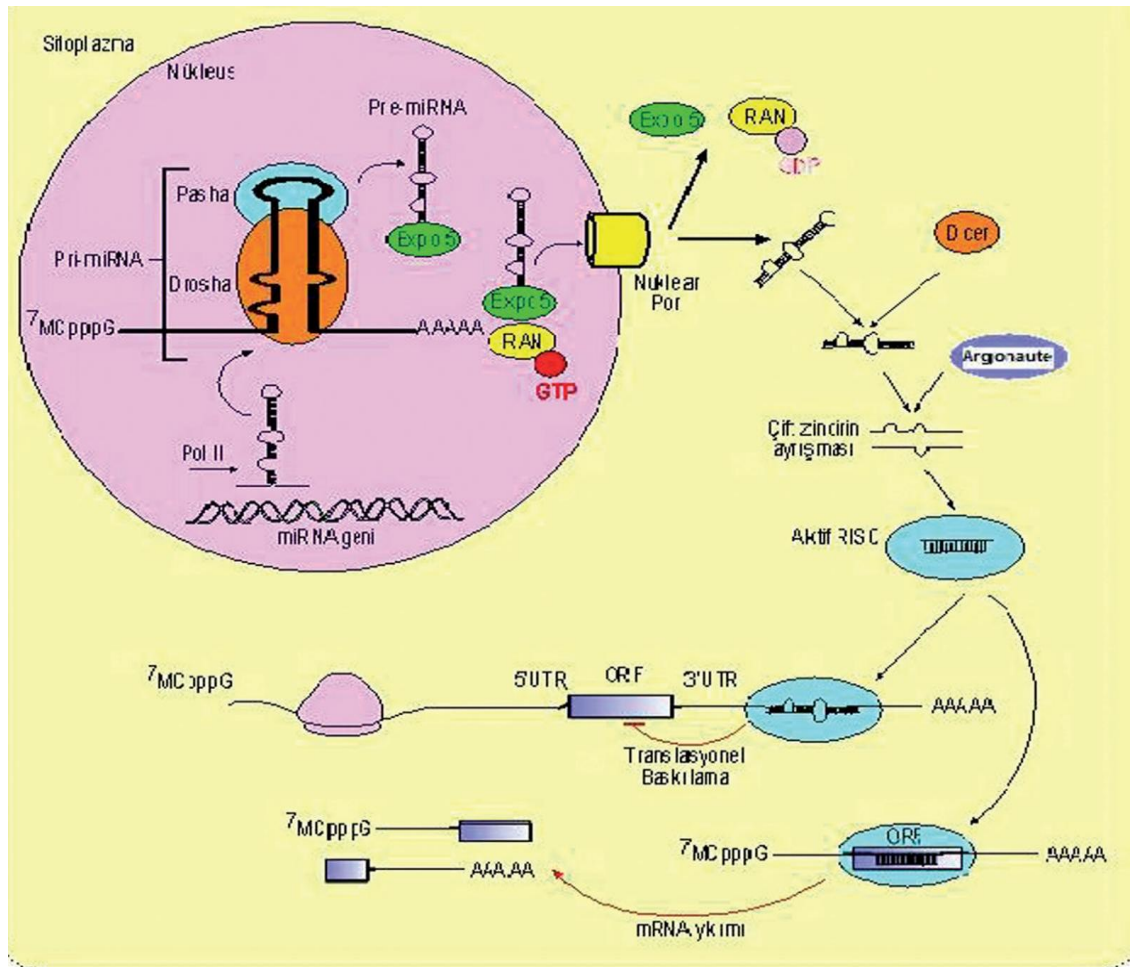
İlk olarak miRNA, Lee ve ark. Tarafından 1993 yılında Ambros laboratuvarında keşfedilmiş olup, mikroRNA tanımı 2001 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır⁽⁵⁰⁾. Lee ve ark. 1993 yılında yuvarlak solucan olan *Caenorhabditid elegans*'ı gen içeriği bakımından taramışlar, lin-4 olarak adlandırdıkları genin hiçbir protein kodlamamasına karşın 22 nükleotid uzunluğunda küçük bir RNA transkribe ettiğini raporlamışlar⁽⁵¹⁾. 2000 yılında Reinhart ve arkadaşları *C.elegans*'da 22 nükleotit uzunluğunda, let-7 olarak adlandırılan, canlının gelişim zamanlamasını düzenleyen farklı bir mikroRNA keşfetmişlerdir. Let-7'nin insanları da içine alan türler arasında da korunmuş olduğu keşfedilmiş olup, bu durum let-7 nin önemli bir biyolojik fonksiyona sahip olduğunu göstermiştir. Daha sonraki yıllarda let-4 ve let-7'ye benzeyen birçok küçük RNA molekülü, hemen hemen bütün çok hücreli organizmalarda keşfedilmiştir ve miRNA'lar olarak isimlendirilmiştir^(52,53).

MikroRNA'ların oluşumu: MikroRNA oluşum sürecinde ilk adımda miRNA genlerinden primer miRNA (primiRNA)'ların transkripsiyonu gerçekleşir. İkinci adımda primi miRNA'lar prekürsör miRNA(pre-miRNA)'lara nükleus içinde dönüştürülür. Üçüncü ve son adımda olgun miRNA'ların sitoplazma içinde oluşumu gerçekleşir⁽⁵⁴⁾.

MikroRNA'lar, primer transkript(pri-miRNA) olarak RNA polimeraz II enzimi tarafından genomik DNA'dan sentezlenir. Çekirdekte pri-miRNA, RNAaz III enzim ailesinin bir endonükleazı olan Drosha ve kofaktörü Pasha (veya DGCR8), tarafından yaklaşık olarak 70 nükleotid uzunluğunda olan pre-miRNA'ya dönüştürülür^(54,55).

Pre-miRNA molekülü bir nüklear taşıma reseptörü olan Exportin 5 ve nüklear bir protein olan RAN-GTP'ye bağımlı şekilde sitoplazmaya taşınır. Sonrasında, pre-miRNA'lar sitoplazmada RNAaz III enzim ailesinden Dicer adlı endonükleaz ile kesilerek 18-24 nükleotid uzunluğunda çift zincirli miRNA: miRNA dubleksine çevrilir⁽⁵⁶⁾. Dicer, aynı zamanda RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi (RNA-induced silencing complex; RISC) oluşumunu başlatır. Dicer, pre-miRNA'nın sap-

ilmiğini kestikten sonra, miRNA: miRNA dubleksinden sadece biri RISC kompleksine dahil olur. RISC kompleksinin içinde yer alan bir RNAz olan argonaute'un etkisiyle bu iki iplikten 5'ucu daha kararlı olanı seçilip komplekse dahil edilir. Bu iplik kılavuz iplik (guide strand) olarak adlandırılır. Diğer iplik, anti-kılavuz veya yolcu iplik olarak adlandırılır, RISC kompleksinin substratı olarak sindirilir. MikroRNA'lar, aktif RISC kompleksine entegre olduktan sonra, ya argonaute proteinleri yardımıyla mRNA'nın yıkımına ya da protein translasyonunun baskılanmasına neden olurlar⁽⁵⁷⁾.



Şekil 3. MicroRNA'ların oluşumu

MikroRNA ve Kanser: MiRNA'ların kanserleşme sürecine katkıda bulunduğu ile ilgili yapılan ilk çalışma Calin ve ark. 2001 yılında KLL'li hastalar ile yaptıkları moleküler çalışma ile ortaya konmuştur. Birçok hastada miR-15a ve miR-16-1 düzeyleri

azalmış veya olmadığı bulunmuştur⁽⁵⁸⁾. KLL hastalarının yaklaşık %50'sinde 13q14 bölgesi delesyona uğramaktadır.

2003 yılında Michael ve arkadaşları, ilk olarak insanlardaki katı tümörlerde (kolonik ve rektal adenom karsinomlar) normal dokular ile karşılaştırıldığında ekspresyon seviyeleri değişmiş olan miRNA'ları rapor ettiler⁽⁵⁹⁾.

MiRNA'lar, hedefledikleri mRNA'nın moleküler yolaklardaki özelliğine göre onkogenik veya tümör süpresör özellik kazanabilir. Normal dokularda, miRNA'ların bazılarının protoonkogenlerin translasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir. Fonksiyonları bir onkogenin ekspresyonunu kontrol etmek olan bu miRNA'lar "tümör süpresör miRNA'lar" (TS-mir) olarak ifade edilmektedir. Dolayısıyla tümör baskılayıcı miRNA'ların ekspresyonunun azalması onkogenin ekspresyonunun artmasına ve tümör oluşumuna sebep olur. Bunun tersi olarak, "onko-mir" olarak ifade edilen bazı miRNA'ların kanserin gelişimini arttırdığı görülmektedir. Bu miRNA'lar bir tümör süpresörün baskılanmasını sağlarlar. MikroRNA'lar, onkogen ve tümör süpresör mRNA'ların her ikisini de potansiyel hedef olarak görebilir. Bu yüzden, belirli bir miRNA'nın gerçek fonksiyonu ya TS-mir'in veya onko-mir'in hücrel içeriğine bağlıdır⁽⁶⁰⁾.

Tümör süpresör MiRNA'lar: MikroRNA'ların kanserleşme sürecine etkisi ilk olarak 2001 yılında miR-15a ve miR16-1'in keşfedilmesi ile rapor edilmiş olup, bu mikroRNA'ların etki mekanizması ise 2005 yılında Cimmino ve arkadaşlarının yayınladıkları çalışma ile ortaya konmuştur. Bu iki miRNA'nın ekspresyon seviyelerinin KLL (Kronik Lenfositik Lösemi) hücrelerinde, anti-apoptotik B hücreli lenfoma proteini olan Bcl-2'nin üretimi ile ters ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Böylelikle Cimmino ve arkadaşları miR-15a ve miR16-1'in tümör süpresör aktiviteye sahip olduklarını tespit etmişlerdir⁽⁵⁸⁾. Bu iki miRNA'nın düşük seviyelerinin (tümör süpresör fonksiyon kaybı) yüksek seviyede Bcl-2 proteini ile ilişkili olduğu dolayısıyla anormal hücre büyümesini gerçekleştirdiği yüksek seviyelerinin (normal tümör süpresör aktivite) ise apoptoz ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur.

Tümör süpresör özellik gösteren diğer bir miRNA, let-7 ailesinin üyeleridir (let-7b, let-7c, let-7d, let-7f ve let-7g). Akciğer kanserli hastaların akciğer dokusu, normal akciğer dokusu ile karşılaştırıldığında çoğunlukla düşük let-7 seviyeleri gözlenmiştir.⁽⁶¹⁾

Johnson ve arkadaşları, 2005 yılında let-7'nin insanlarda bulunan önemli bir onkogen olan RAS'ın aktivitesini kontrol ettiğini buldular. Yapılan bu çalışmada, düşük seviyelerde let-7 ihtiva eden akciğer tümör dokuları, önemli derecede artmış RAS protein seviyelerine sahiptir. RAS onkogeninin mRNA dizisi, let-7'nin bu mRNA'ya bağlanmasını ve dolayısıyla proteine translasyonunu engellemesini sağlayan let-7'ye komplementer bağlanma bölgeleri içermekteydi. let-7'nin düşük seviyeleri, RAS geninin kontrolsüz bir şekilde fonksiyon göstermesine imkan tanımaktaydı⁽⁶²⁾. Sonuç olarak let-7 ailesinin üyelerinin, RAS onkogeninin mRNA'sını hedefleyen bir tümör süpresör fonksiyona sahip olduğu tespit edilmiş oldu.

Mir-29 tümör süpresör karakter sergileyen mikroRNA'lar arasındadır. Mir-29 ailesinin üyelerinin kronik lenfositik lösemi (KLL), akciğer kanseri, invaziv meme kanseri, akut miyeloid lösemi (AML) ve kolanjiyokarsinom hücrelerini baskılayıcı olarak aktivite gösterdiği yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur^(63,64).

MiRNA-143'ün birçok histolojik tümör türlerinde, anormal büyümeyi baskıladığı görülmüştür. B-hücreli kanserler, meme, serviks, kolorektal, mesane ve hipofiz tümörlerinde, miR-143'ün tümör süpresör olarak görev yaptığı rapor edilmiştir.

Onkogenik MiRNA'lar: Tümör süpresör miRNA'ların tersine, onkogenik miRNA'lar çoğunlukla kanser türlerinde kontrolsüz büyümeyi artırıcı ve/veya anti-apoptotik yönde fonksiyon gösterirler. İlk olarak keşfedilen onkogenik miRNA'lardan bir tanesi, protein kodlamayan gen olan BIC (ing. B cell İntegration Cluster) ile beraber eksprese edilen miR-155'tir. Mir-155'in hedef mRNA'sı tam olarak belirlenememiş olmakla birlikte, ekspresyonunun tavukta lösemi ve lenfoma oluşumunu artırdığı gösterilmiştir. ⁽⁶⁵⁾ Yakın zamanda yapılan çalışmalarda, miR-155'in B hücreli lenfoma, meme, pankreas, akciğer ve Hodgkin's lenfoma gibi kanserlerde yüksek ekspresyon sergilediği gösterilmiştir^(65,66).

Bir onkogen gibi fonksiyon gösterdiği tespit edilen diğer bir mikroRNA, miR-21'dir. Mir-21'in AML, KLL ve glioblastoma gibi hematolojik malignitelerde ve pankreas, prostat, mide, kolon, akciğer, meme ve karaciğer kanseri gibi birçok kanser türünde yüksek seviyede ekspresyonu gözlenmiştir⁽⁶⁷⁾.

Mir-17-92 gen kümesi, insan genomunda kromozomun 13q31.3 lokalizasyonunda yerleşiktir. Bu gen kümesi altı adet miRNA (miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1, miR-92-1) kodlamaktadır. Mir-17-92 gen kümesi, onkogenik

olduğu gösterilen ilk miRNA'yı kodlayan bir bölgedir. c-Myc onkogeninin fazla ekspresyonunun gerçekleştiği transgenik farelerde miR17-19 gen kümesinin yüksek seviyede ekspresyonuna neden olarak B hücreli lenfomanın gelişimini arttırdığı belirlenmiştir⁽⁶⁸⁾. MiR-17-92 gen kümesinin üyelerinin çok çeşitli katı tümörlerde, hematolojik malignensilerde, meme, kolon, akciğer, pankreas, prostat, mide ve lenfomaları da içine alan kanser türlerinde yüksek seviyede ekspresyonu gerçekleşmektedir⁽⁶⁹⁾.

Kolorektal Kanserde MicroRNA'nın Rolü: MiRNA'lar kolorektal kanser patogenezinde rol alan birçok onkogenik ve tümör süpresör yolun regüle edilmesini sağlamaktadır. Kolorektal kanserde anahtar sinyal yollarındaki proteinler (Wnt/ beta katenin, fosfotidilinositol-3 kinaz yolağı, KRAS, p53 gibi) miRNA regülasyonundan etkilenmektedir⁽⁷⁰⁾.

Wnt/beta katenin yolağı erken kolorektal tümör gelişiminde önemli role sahiptir. Kolorektal karsinogenezin başlamasında majör olay olan APC gen inaktivasyonu, kolorektal adenoma ve karsinomların %60'ında saptanmakta ve bu da Wnt/beta katenin yolu stimülasyonuna yol açmaktadır.⁽⁷¹⁾

Kolon karsinomunda miRNA ekspresyonunun diagnostik bir marker olarak kullanılabilceği belirtilmiştir. İlk olarak 2003 yılında Michael ve ark. Yaptığı çalışmada miR-143 ve miR-145 düzeyinin adenomlu ve kolorektal kanserli hastalarda azaldığını tespit etmişlerdir. Ng ve ark. Yaptığı çalışmada kolorektal kanserli hastalarda plazmada miR-92 düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ve kolorektal kanser tanısında non-invaziv biomarker olarak kullanılabilceği belirtilmiştir. Huang ve ark. Yaptığı çalışmada ise mir-29a ve 92a düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Mir-31 ekspresyonu evre IV tümörlerde evre II tümör ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuş, mir-21 yüksek düzeyde ekspresyonu ise kolorektal kanserli hastalarda lenf nodu metastazı, uzak metastazlar ve kötü prognoz ile ilişkilidir^(72,73). Mir-200c yüksek düzeyde ekspresyonu düşük survi ve p53 mutasyonu ile ilişkilidir⁽⁷⁴⁾. MiR-145 normalde kolon epitelinden eksprese oluyor, kolon kanserinde ise proksimal kolon tümörlerinde ve büyük boyutta olanlarda (> 50 mm.) düzeyi azalıyor⁽¹⁰⁹⁾. Chen ve ark.'nın kolorektal kanserli hastalarla yaptığı çalışmada ise miR-143 ve KRAS ekspresyonu arasında zıt bir ilişki saptandı⁽¹¹⁰⁾. Svoboda ve ark. Yaptığı çalışma ile ise rektum kanserli hastalarda miR-125b ve miR-137 yüksek düzeyde ekspresyonu tedaviye

yanıtsızlık ile ilişkili bulundu⁽¹¹¹⁾. MiR-196a ile yapılan çalışmada ise miR-196a homeobox (Hox) gen kümesi içerisinde yer almakta, Hox proteinleri ise embriyogenez, organogenez ve onkogeneizde önemli rol oynamakta. 3 tane miR-196 geni bulunmuş. MiR-196a-1 geni 17.kromozomda lokalize, HOX B9 ve HOX B10 genleri arasında bulunuyor, miR-196a-2 geni kromozom 12 üzerinde lokalize ve HOX C10 ile C9 bölgeleri arasında bulunuyor, miR-196b ise 7.kromozomda lokalize ve HOX A9 ile HOX A10 genleri arasında bulunuyor⁽¹¹²⁾. Croce ve ark. yaptığı çalışmada pankreas adenokarsinomunda miR-196a düzeyleri yüksek bulunmuş ve düşük survi ile ilişkilendirilmiş⁽¹¹³⁾. miR-196'nın pankreas adenokarsinom tanısında, prognostik belirteç olarak ve tedavi yanıtının değerlendirilmesinde faydalı olabileceği belirtilmiş.

Mir-196 düzeyi aynı zamanda meme kanserinde, özefagus kanserinde de yüksek saptanmış. Barret özefagusundan düşük grade displazi, yüksek grade displazi ve adenokarsinom gelişimi basamaklarından tanısal olarak kullanılabilceği belirtilmiş. Ayrıca lösemili hastalara bakıldığı zaman, T hücreli ALL'de prekürsör B hücreli ALL ile kıyaslandığı zaman düzeyi yüksek bulunmuş, bu yüzden lösemili hastalarda subtiplere göre diferansiasyonunun farklı olduğu saptanmış. Kolon kanserinde pro-onkogenik etkisi olduğu saptanmış⁽¹¹⁴⁾.

Tablo 1. Kolorektal Karsinomda MikroRNA'nın Değişen Ekspresyonu

Yüksek düzeyde ekspresyonu	Düşük düzeyde ekspresyonu
Mir-17-5p	MiR-143
MiR-181b	MiR-145
MiR-19a	MiR-30c
MiR-203	MiR-133a
Mir-21	
MiR-29b	
MiR-30c	
MiR-106a	
MiR-107	
MiR-191	
MiR-221	
MiR-200b	
MiR-200c	
Mir-196	
MiR-92	
MiR-148a	

2.1.5. Tümör Lokalizasyonu

Kolorektal neoplazmaların (adenomatöz polip ve kanser) % 55'i distal, %15'i proksimal kolonda yerleşirken, %30'u da hem proksimal hem de distal kolonda yerleşir. Düşük riskli ülkelerde KRK çekum ve çıkan kolonda, sol kolondan daha sık oluşurken, yüksek riskli ülkelerde rektosigmoid bölgede görülme oranı daha fazladır. Sağ kolon karsinomları özellikle kadınlarda yaş ile beraber artmaktadır⁽⁹³⁾.

2.1.6. Klinik Özellikler

Kolorektal tümörlerin klinik bulguları kolonda yerleşim yerine göre değişiklik gösterir. Erken dönemde hasta asemptomatik olabileceği gibi yalnız karın ağrısı ve şişkinlik olabilir. Rektal yerleşimli tümörlerde barsak alışkanlığında değişikliklerle birlikte rektal dolgunluk, kanama ve tenesmus izlenir. Sol kolon yerleşimli tümörlerde dışkılama alışkanlığında değişiklik, karın ağrısı, dışkı çapında azalma veya obstrüksiyon semptomları (bulantı, kusma) izlenebilir. Sağ kolon yerleşimli tümörlerde ise yine karın ağrısı ile fizik muayenede sağ alt kadranda ele gelen kitle izlenebilir. Kronik kan kaybına bağlı anemi, halsizlik, kilo kaybı ve abdominal kitle eşlik eden bulgular olabilir. Pelvik ağrı hastalığın ileri bir evrede olduğunu, tümörün pelvik sinirlere yayıldığını gösterir. Lokal ileri tümör siyatik veya obturator siniri tutarak nöropatik ağrı sendromuna neden olabilir. Yine mesane tutulumu ile pelvik ağrı ve üriner inkontinans görülebilir^(94,95).

2.1.7. Tanı

Kolorektal kanserler çoğunlukla adenomatöz poliplerden gelişmekte olup, polipler küçükten büyüğe (>1 cm) ve sonrasında displazi ve kanser evrelerine ilerlemektedir. Adenomdan karsinoma progresyon aşaması en az 10 yıl sürmektedir, bu yüzden kolonoskopi esnasında tespit edilen polipler çıkartılmalıdır. Kolorektal polipler adenomatöz veya hiperplastik polip olarak sınıflandırılmaktadır. Fakat gross görünüşleri ile ayrımı net yapılamayacağından biyopsi tanısı gerekmektedir. Görüntüleme yöntemi olarak dışkıda gizli kan testi, kolonoskopi, çift kontrast baryumlu grafi, fekal DNA testi, bilgisayarlı tomografi kullanılabilir.

Dışkıda gizli kan testi (DGKT): Kolorektal polip veya kanserin yüzeyindeki damarlar sıklıkla fragil olup, dışkı pasajıyla kolaylıkla hasarlanırlar. DGKT kimyasal reaksiyona giren kanı saptar. Bu test kanın kolondan veya daha proksimal bir yerden gelip gelmediğini bildirmez. Test sonucunu etkileyebileceğinden aspirin ve non-steroid anti inflamatuvar ilaçlar (test öncesi 7 gün) ve C vitamini ile kırmızı etten (test öncesi 3 gün) sakınmak gerekir. 50 yaş üstü bireylere 3 ardıl dışkının her birinden 2 örnek alarak dışkıda gizli kan baktırmaları istenmelidir. Sonucu pozitif çıkan bireyler kolonoskopi ile taranmalıdır. Bir kez test uygulandığında sensitivitesi % 50-60 civarında olup, spesifitesi kolorektal neoplazmlar için % 95 civarındadır. Testin dezavantajı kanamayan poliplerin saptanamaması ve yanlış (+) sonuçlar vermesi^(75,76).

Fleksibl sigmoidoskopi: Taramadaki en önemli avantajları hasta konforu, maliyetinin ve komplikasyonlarının düşük olmasıdır. Fleksibl sigmoidoskopi ile yapılan taramalarda rektosigmoid kanser mortalitesinin yaklaşık % 60 oranında azaldığı ve bu koruyucu etkinin 6-10 yıl sürdüğü gösterilmiştir. Eğer tarama fleksibl sigmoidoskopi ile yapılacaksa 5 yılda bir yapılmalıdır. Fleksibl sigmoidoskopide 1 cm'den büyük polip veya çapı ne olursa olsun adenomatöz polip saptandığında kolonoskopi yapılmalıdır. DGKT ile fleksibl sigmoidoskopinin birlikte kullanımının mortaliteyi azaltma üzerine etkisi bulunmamıştır. Eğer iki testin birlikte yapılması planlanıyorsa öncelikle DGKT yapılmalıdır çünkü pozitif olması durumunda kolonoskopi yapılması gerekebilir^(77,78,79).

Kolonoskopi: Kolorektal kanserde görüntüleme yöntemi olarak esas tercih edilen yöntemdir. Kanser ve premalign neoplazmlar kolonoskopi ile tespit edilebilir ve işlem esnasında tespit edilen polipler çıkartılabilir. Yapılan multipl kohort çalışmalarda kolonoskopi ile polipektomi uygulanması ile KRK insidansında % 76-90 arasında azalma saptanmıştır⁽⁸⁰⁾. Aynı zamanda sigmoidoskopi ile tespit edilemeyen proksimal kolondaki lezyonların da saptanmasını sağlar. Proksimal kolonda gelişen neoplaziler (adenom \geq 1 cm, villöz adenom, yüksek dereceli displazili adenom veya invaziv kanser) distal kolonda adenomatöz polip olmadan da oluşabilir⁽⁸³⁾. Distalde adenom olmadan proksimalde gelişenlerin prevalansı % 2-5 arasındadır. Fleksibl sigmoidoskopi ile proksimalde gelişecek olan anlamlı derecedeki neoplazilerin saptanamayacak olması nedeniyle kolorektal kanser tanısında kolonoskopi birincil yöntem olarak önerilmektedir. Taramada kolonoskopi kullanılacaksa 10 yılda bir yapılması yeterlidir. Kolonoskopi esnasında polipektomi uygulanması ile KRK insidansı % 76-90

azalmaktadır. Yöntemin dezavantajları ise; barsak hazırlığı gerektirmesi, sedasyon riski, perforasyon, kanama ve maliyeti^(81,82).

Çift Kontrast Ba Lavman: Tanısal olarak kolonoskopi üstün olsa da taramada DGKT ve fleksibl sigmoidoskopiden daha üstündür. En önemli dezavantajı pozitif bir bulgu saptandığında ardından kolonoskopi yapılması gereğidir. Tarama aracı olarak seçilecekse her 5-10 yılda bir yapılması gerekir⁽⁸⁴⁾.

Bilgisayarlı Tomografi: Uzak metastazların tespiti, tümörün komşu organlarla ilişkisi ve lenf nodlarının tespitinde kullanılabilir⁽⁸⁵⁾. Bilgisayarlı tomografi avantajları; non invaziv ve büyük adenomları kolonoskopi gibi tespit edebiliyor fakat dezavantajları; anormal sonuçlarda kolonoskopi ve doku tanısı gerekliliği olmakta, flat adenomlar polipoid lezyonlara göre daha malign potansiyele sahip ve bu lezyonlar ile BT ile atlanabiliyor, radyasyon maruziyeti baryumlu enemaya göre daha az olmakta fakat her 5 yılda bir çekilen hastalar için kümülatif doz bilinmemektedir⁽⁸⁶⁾.

Magnetik rezonans görüntüleme karaciğer metastazlarının ve nüks lezyonların tespitinde kullanılabilir. Endorektal ultrasonografi veya endorektal coil ile yapılan manyetik rezonans görüntüleme (MR) ile tümörün barsak duvarındaki invazyon derinliği ve lenf nodu tutulumu tespit edilebilir. Pozitron emisyon tomografisi florodeoksi glukozun tümör dokusu tarafından normal hücrelere göre daha hızlı kullanım esasına dayanır. Ekstrahepatik hastalık varlığını araştırmada ve BT ya da MR ile nüks-skar dokusu ayırımı yapılamayan hastalarda faydalıdır⁽⁸⁷⁾.

50 yaşından itibaren kolorektal kanser riski belirgin olarak arttığından malignite ve polip açısından düzenli olarak tarama yapılmalıdır. 50 yaşından itibaren önerilen tarama yöntemleri şu şekildedir:

- Yılda bir gaytada gizli kan testi
- Beş yılda bir fleksibl sigmoidoskopi
- Beş yılda bir çift kontrastlı baryum enema
- On yılda bir kolonoskopi
- Beş yılda bir bilgisayarlı tomografi

Üç veya daha fazla adenom, yüksek dereceli displazi, villöz yapı ve adenomun 1 cm veya daha fazla büyüklükte olması bu bireylerin kolorektal kanser açısından yüksek riskli olduğunun göstergesidir. Bu bireylere 3 yılda bir kolonoskopi yapılması önerilmektedir. Bir veya iki adet, yüksek dereceli displazisi olmayan, 1 cm'den küçük

tübüler adenomu olan düşük riskli bireylere 5-10 yılda bir kolonoskopi yapılması önerilmektedir. Hiperplastik polipi olan bireylere ortalama risk grubundaki gibi 10 yılda bir kolonoskopi yapılması önerilmektedir. Adenomatöz polip öyküsü olanlar, kolorektal karsinom nedeniyle küratif rezeksiyon öyküsü olanlar, birinci derece akrabasında 60 yaşından önce kolorektal karsinom veya adenom saptananlar, belirgin süre inflamatuvar barsak hastalığı olanlar, bilinen veya şüphelenilen FAP veya HNPCC hastalıklarından birine sahip olanlar yüksek riskli olarak değerlendirilir. Bu bireylerde kolonoskopik tarama daha sık yapılmalı ve erken yaşta başlamalıdır^(88,89).

2.1.8. Kolorektal Kanserlerde Histopatoloji

Makroskopik Görünüm

Polipoid tip; lümen içine doğru büyüyen karnabahar görümlü tümörler olup daha çok çekum ve rektumda görülür. Bunların çoğu iyi diferansiye adenokarsinomlardır.

Lümeni annüler tarzda sarma eğilimi olmadığından genelde intestinal obstruksiyon yapmazlar. Sıklıkla kanamaya neden olurlar.

Ülseratif tip; nekrotik bir taban ve etrafında kabarık bir kenardan oluşan tipik malign ülser görünümü vardır. Daha çok çekum kanserlerinde görülür.

Annüler tip; barsak duvarını çepeçevre saran ve intestinal obstruksiyona neden olan tümörlerdir. Oldukça yavaş gelişim gösterirler ve metastaz eğilimleri yüksektir. Daha çok inen kolon ve sigmoid kolonda görülürler.

Linitis plastika; kolonun geniş bir bölümünde duvar kalınlaşması oluşturan tümörlerdir. Sıklıkla lümen daralmasına sebep olurlar⁽⁹⁶⁾.

Patolojik Özellikleri

Kolorektal kanserlerin % 95'ini adenokarsinomalar oluşturur. Diğer subtipler daha az sıklıkta görülür.

Kolorektal adenokarsinomalar mikroskopik olarak;

Grade I (iyi diferansiye)

Grade II (orta derecede diferansiye)

Grade III (az diferansiye) şeklinde sınıflandırılır.

İyi diferansiye tümörler olguların yaklaşık %10'unu oluştururlar. Bu tümörlerde yüksek kolumnar epitelle döşeli büyük glandlar mevcut olup, genellikle papiller komponent içerirler. Yapısal kompleksliği minimal olup hücrelerde hiperkromazi ve pleomorfizm mevcuttur.

Orta derecede diferansiye adenokarsinomalarda değişik miktarlarda müsin sekrete ederler. Mikroskopik olarak kribriiform yapı oluşturma eğilimindedirler⁽⁹⁰⁾.

Az diferansiye tümörlerde gland sayısı azdır veya hiç yoktur. Glandlar küçük ya da yapısal olarak komplekstir. Müsin üretimi azalmıştır ya da mevcut değildir. İnfiltrasyon tek hücreler halinde veya hücrelerin küçük kümeleri şeklinde olabilir. Genellikle lümen yoktur. Az diferansiye tümörler kolorektal kanserlerin yaklaşık %10'unu oluştururlar⁽⁹¹⁾.

Histolojik sınıflandırma

Kolorektal kanserlerde histolojik tipler;

- a) Adenokarsinom
- b) Müsinöz adenokarsinom
 - Taşlı yüzük hücreli karsinom
- c) Skuamöz hücreli karsinom
- d) Andiferansiye karsinom
- e) Clear cell değişiklik
- f) Koryokarsinomatöz diferansiasyon
- g) Endokrin diferansiasyon
- h) Nadir görülen tipler: Karsinoid tümörler, lenfoma, sarkomlar.

Müsinöz karsinoma tanısı için müsinöz komponentin tümörün % 50'sinden fazla olması gerekir. Ancak bazı yazarlar bu oranı en az % 75 olarak kabul eder. Taşlı yüzük hücreli karsinomlar da bu gruba dahil edildiğinde, kolorektal karsinomlar içerisinde görülme sıklığı % 10'dur. Müsinöz karsinomlar diğer tiplere göre daha ileri evrede, daha hızlı yayılım, daha fazla lenf düğümü tutulumu ve daha kötü prognoz gösterirler. Müsinöz karsinomlar içerisinde taşlı yüzük hücreli karsinom daha saldırgan ve prognozu daha kötüdür. Andiferansiye karsinom ve skuamöz hücreli karsinom da kolorektal karsinomların % 1-2'sini oluştururlar⁽⁹²⁾.

İmmünohistokimyasal Özellikleri

İmmünohistokimyasal olarak kolorektal adenokarsinomaların keratin ekspresyonu değişiktir. Keratin 20 pozitifliği ve keratin 7 negatifliği yaygındır. Bu özellik akciğer, over gibi organların adenokarsinomlarının ayırıcı tanısında önemlidir. Kolorektal karsinomların çoğu müsin için pozitif boyanır ve MUC1, MUC3 eksprese eder.

Tümörle ilişkili glikoprotein (TAG-72) ,monoklonal antikor B72.3 reaktivitesi sadece invaziv karsinomalarda olmaz, hiperplastik ve adenomatöz poliplerde hatta normal mukozada bile gösterilebilir.

Katepsin B'nin artmış ekspresyonu hastalığın özellikle ilerlemiş evrelerinde bulunan bir özelliktir.

Kolorektal karsinomaların çoğu immünohistokimyasal olarak HCG reaktivitesi gösterirler. Bu özellikle müsinöz ve az diferansiye tümörlerde yaygındır. Plasental alkalın fosfataz (PLAP) kolorektal karsinomaların %10'unda gösterilmiştir. Östrojen ve progesteron reseptörleri genellikle negatiftir. Ras onkogeninin mutasyonları kolorektal karsinomaların bir bölümünde bulunabilir⁽⁹⁷⁾.

2.1.9. Evreleme

Günümüzde tümörün evresi tümörün barsak duvarı penetrasyonunun derinliğine, lenf nodu tutulumunun yaygınlığına ve uzak metastaz varlığına göre değerlendirilir. Bu çerçevede günümüze kadar üç farklı evreleme sistemi kullanılmıştır;

- Duke's sınıflaması
- Astler Coller sınıflaması
- TNM sınıflaması

Duke's sınıflaması 1932'de, bir patolog olan Dukes tarafından oluşturuldu ve yirminci yüzyılın ikinci yarısında standart sınıflama olarak kullanıldı. Bu sınıflama rektal kanser için geliştirilmesine rağmen kolon kanseri evrelendirmesinde de kullanılmıştır.

Duke's Evre A'da tümör barsak duvarına sınırlıdır. Evre B'de tümör barsak duvarını penetre eder ve evre C'de lenf düğümü metastazı mevcuttur. Daha sonra çeşitli eklemeler yapılarak modifiye Duke's sınıflaması oluşturulmuştur. Buna göre muskularis

propriayı kısmen penetre etmiş (B1) ve bu tabakayı tamamen penetre etmiş (B2) tümörler arasında ayırım yapılmıştır^(98,99).

Astler Coller sınıflandırması:

Dukes sınıflamasının modifikasyonu ile yapılmıştır.

A: Mukozada sınırlı tümör

B1: Lenf nodu metastazı olmadan muskularis propriaya kadar tümör tutulumu

B2: Lenf nodu metastazı olmadan barsak duvarını aşan tümör tutulumu

C1: Barsak duvarını aşmamış tümör ile beraber lenf nodu metastazı

C2: Barsak duvarını aşmış tümör ile beraber lenf nodu metastazı

D: Uzak organ metastazı

Günümüzde kullanılmakta olan sınıflama sistemi Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (AJCC) tarafından 1987'de geliştirilen ve Uluslar arası Kanser Birliği (UICC) tarafından onaylanan TNM sistemidir. Bu sınıflamaya göre:

Primer tümör (T)

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor

To: Primer tümör kanıtı yok

Tis: Karsinoma in situ; intraepitelyal veya lamina propia invazyonu

T1: Tümör submukozayı invaze etmiş

T2: Tümör muskularis propriayı invaze etmiş

T3: Tümör serozaya kadar ulaşmış veya peritonla örtülü olmayan perikolik veya perirektal yağ dokusunu invaze etmiş

T4: Tümör diğer organları/yapıları ve/veya viseral peritonu doğrudan invaze etmiş.

Bölgesel lenf nodu (N)

Nx: Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor

No: Bölgesel lenf nodu metastazı yok

N1: 1-3 bölgesel lenf nodu metastazı mevcut

N2: 4 veya daha fazla lenf nodu metastazı mevcut

N3: Ana arter kökünde lenf nodu pozitifliği

Uzak Metastaz (M)

Mx: Uzak metastaz değerlendirilemiyor

Mo: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz var

Evre:	TNM
0 Karsinoma in situ	Tis N0 M0
I Muskularis propriaya kadar yayılım	T1,T2 N0 M0
II Tüm barsak duvarı tutulumu	T3,T4 N0 M0
III Lenf nodu metastazı	T N1,N2,N3 M0
IV Uzak metastaz varlığı	T N M1

Yayılma yolları

Kolorektal kanserler:

- Direkt yayılım
- Lenfatik yayılım
- Hematojen yayılım
- İntramural yayılım
- Transperitoneal implantasyon yolu ile yayılım gösterirler.

Direkt yayılımda tümör barsak duvarına ve komşu organlara invazyon gösterir. Barsak duvarında distale doğru yayılım çok azdır. Makroskopik olarak tümör sınırının bittiği yerden proksimalde 8 cm, distalde ise 5 cm'e kadar tümör yayılımı olabileceğinin bilinmesi cerrahi teknik açısından önem taşır.

Yakın zamana kadar kaynaklarda kanser nüksünün önlenmesi için bağırsağın tümörden 5 cm distalden rezeke edilmesi gerektiğini savunmuşlardır. Son yayınlarda ise distalde mikroskopik yayılımın daha az olduğu, bu nedenle tümör sınırından itibaren 2-2,5 cm'lik distal rezeksiyonun yeterli olacağı bildirilmektedir.

Lenfatik yayılım kolorektal kanserlerde en sık görülen yayılım şeklidir. Tüm barsak duvarını invaze etmiş tümörlerin yaklaşık yarısında lenfatik yayılım tespit edilmiştir. Rektum kanserlerinde lenfatik yayılım genelde yukarı doğrudur. İnguinal lenf nodlarına yayılım daha çok linea dentatayı geçen alt rektum kanserlerinde görülür. Kolorektal kanserlerin hematojen yolla en çok yayıldıkları organ karaciğerdir. (% 60) Daha sonra akciğer, kemik, periton ve beyin metastazları sık görülür.

Tümör hücrelerinin intraperitoneal kaviteye deskuame olması kolorektal kanserlerde peritonitis karsinomatozaya neden olmaktadır.

2.1.10. Labaratuar

Karsinoembrionik antijen (CEA) ilk kez 1965'te kolon kanserli dokularda ve insan fetus barsağında tespit edilmiştir. Kolorektal kanserli hastaların % 97'sinde yüksek bulunmuştur. Uzun süre sigara içenlerde, inflamatuvar barsak hastalıklarında, meme ve prostat kanserlerinde de CEA düzeyleri yükselebilir.

CEA'nın kolorektal kanserlerin erken tanısında yeri yoktur. Ancak hastaların izlenmesinde faydalıdır. Ameliyat sonrası giderek yükselen CEA seviyesi nüks veya metastaz açısından anlamlıdır. Artmış CEA seviyeleri yüksek rekürrens oranını göstermektedir.

CA 19-9'da kolorektal kanserlerde tümör belirleyici olarak kullanılmaktadır. Ancak CEA 'ye üstünlüğü kanıtlanamamıştır. Serum villin seviyesi klinik seyir ve kolorektal kanserin tekrarının takibinde ve karaciğer metastazında faydalıdır^(100,101).

2.1.11. Tedavi

2.1.11.1. Kolon Kanseri Tedavisi

Evre I, II veya III kolon kanserli hastalar için esas tedavi cerrahi rezeksiyondur⁽¹⁰²⁾. Açık kolektomi veya laparoskopik kolektomi eşit etkinliktedir. Her tedavi seçeneği hastanın özelliklerine (performans durumu, yaş, komorbidite, hasta seçimi) ve kanserin özelliklerine (evre, grade, relaps riski) göre belirlenir. Kür sağlanamayacak evre IV kolon kanserli hastalar için, primer lezyonun rezeksiyonu hastanın semptomlarına bağlıdır. KRK için cerrahi ile tedavi oranı % 92 operasyon sırasında ölüm oranı ise % 2'dir. Operasyon sonrası ilk yıl hastanın endoskopik takibi önemlidir.

Malign poliplere komplet endoskopik polipektomi uygulanır. Kötü histolojik özellikler içeren polip saptanan ortalama operasyon riski olan hastalara rezeksiyon önerilmektedir. Kötü histolojik özellikler; lenfatik veya venöz invazyon, grade 3 diferansiasyon, derece 4 invazyon ve cerrahi sınır pozitifliğidir.

Cerrahinin amacı tutulan barsak segmentinin lenfatik drenajıyla birlikte çıkarılmasıdır. Kolonik rezeksiyonun genişliği kan damarı beslenmesi ve bölgesel lenf

nodlarının dağılımı ile belirlenir. TisN0M0 ve T1N0M0 tümörlü hastalara lokal eksizyon veya basit polipektomi, lokal eksizyonla çıkarılmayan daha büyük lezyonlara ise segmenter rezeksiyon yapılır. T2N0M0 tümörlü hastalara geniş cerrahi rezeksiyon ve anastomoz uygulanır. T3N0M0 ve T4N0M0 tümörlü hastalara geniş cerrahi rezeksiyon ve anastomoz, operasyon sonrası yüksek riskli hastalara adjuvan kemoterapi uygulanır. Herhangi bir TN1M0 ve herhangi bir TN2M0 tümörlü hastalara geniş cerrahi rezeksiyon ve anastomoz, cerrahi sonrası oksaliplatin ve 5-flourourasil içeren standart çift ajanlı KT rejimi uygulanır. Eğer oksaliplatin kontraendike ise tek ajanlı 5-flourourasil KT rejimi uygulanabilir⁽¹⁰³⁾.

Evre III tümörlü hastalarda adjuvan kemoterapi standart olarak kullanılmaktadır. Adjuvan kemoterapide 5-flourourasil/leucovorin 6 aylık post-operatif kemoterapi bir seçenektir.

Evre IV kolon kanserli hastaların tedavisi hastalığın lokalizasyonuna bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Yalnız karaciğer veya akciğer metastazı olanlarda cerrahi, tek potansiyel küratif tedavi seçeneğidir. Sınırlı sayıda lezyon, yeterli karaciğer fonksiyonu ve ana vasküler yapılardan uzak olması durumlarında karaciğer metastazları rezeke edilebilir. Rezeke edilemeyen metastatik kolorektal karsinomlu hastalara 5-flourourasil/ leucovorin birinci basamak tedavi olarak verilebilir. 5-flourourasil/ leucovorin/ oksaliplatin (FOLFOX) veya 5-flourourasil /leucovorin /irinotecan (FOLFIRI) rejimlerinin yüksek yanıt oranları, benzer etkinlikleri fakat farklı yan etkileri vardır. İrinotekanla daha fazla ishal ve saç dökülmesi, oksaliplatin ile daha fazla polinöropati görülür. Kapesitabin ve oksaliplatin kombinasyonu diğer bir alternatiftir. Kemoterapi süresi belirgin değildir ancak 3-6 ay, toksisite veya progresyon gelişene kadar şeklinde seçenekler vardır. İkinci basamak tedavi için hastanın performans durumu iyi olmalı ve rejimler oksaliplatin veya irinotekan içermelidir. Bevasizumab, setuksimab ve panitumumab metastatik kolorektal kanserli hastalarda kullanılabilir^(104,105).

2.1.11.2. Rektum Kanseri Tedavisi

Erken evrelerde, başlıca malign poliplerde (T1, N0) transanal endoskopik mikrocerrahi gibi lokal işlemler uygundur. Rezeksiyon radikal olmalıdır ve damar invazyon bulguları olmamalıdır. Eğer bu gerçekleşmezse veya tümör submukozaya

doğru infiltrate olursa (T1, T2) lenf nodu metastazı veya rezidüel tümör hücreleri nedeniyle rekürens riski % 10'nun üzerindedir. Bu hastalarda postoperatif kemoradyoterapi uygulanmalı veya daha güvenli bir yöntem olan total mezorektal eksizyon (TME) uygulanmalıdır. T1-2 ve bazı T3, N0 gibi erken evre levator kasları üzerindeki rektum kanserlerinde TME uygulanır.

Lokal ileri vakalarda (çoğu T3, bazı T4, N+) lokal rekürens oranını önemli ölçüde azaltan preoperatif radyoterapi veya 5-flourourasilin kullanıldığı kemoradyoterapi ardından TME uygulanır. Rezeke edilemeyen daha ileri lokal tümörlerde (bazı T3,T4) 5-flourourasil bazlı preoperatif kemoradyoterapi ardından 6-8 hafta sonra cerrahi uygulanır. Rektal kanser cerrahisinde standart yöntem bütün mezorektal yağ dokusu ve lenf nodlarının da çıkarıldığı TME'dir. Postoperatif kemoradyoterapi (KRT) pozitif cerrahi sınır, tümör alanında perforasyon, preoperatif radyoterapi verilmeyen yüksek riskli vakalar dışında önerilmemektedir. Bütün T3-4, N+ tümörlü hastalara postoperatif KRT önerilmektedir. Kolon kanserinde olduğu gibi yüksek riskli evre II ve evre III kanserlere adjuvan kemoterapi uygulanır. Tümör KRT'ye yanıt vermemişse adjuvan kemoterapi etkinliği azdır. Başlangıçta radyoterapi verilmeyen rekürensi olan hastalara konkomitan KRT verilmelidir. Daha önce RT alan hastalara değişik yöntemlerle ek RT verilebilir. Radikal cerrahi RT'den 6-10 hafta sonra uygulanır. Daha önce RT alan, kurtarıcı cerrahi uygulanamayacak hastalara sistemik KT uygulanır.

Birinci sıra palyatif KT erkenden uygulanmalı ve 5-flourourasil/leucovorin'in de dahil olduğu oksaliptatin veya irinotekan kombinasyonlarından oluşmalıdır. EGFR inhibitörleri olan setuksimab veya panitumumab sadece wild/type k-ras tümörlerine uygulanır. VEGF inhibitörü olan bevasizumab k-ras mutasyon durumundan bağımsız olarak uygulanabilir. 2. ve 3. sıra kemoterapiler perfomans durumu iyi olan hastalarda uygulanabilir⁽¹⁰⁶⁾.

2.1.12. Prognoz

Kolorektal karsinomalarda tümör muskularis propriayı tamamen penetre etmemiş ise 5 yıllık survi % 95, tamamını penetre etmiş fakat lenf nodu yayılımı yoksa 5 yıllık survi % 80, noda metastaz varsa 5 yıllık survi % 20-40'dır.

Küratif cerrahi rezeksiyondan sonra 5 yıllık survi % 40-60 arasındadır. Yetersiz rezeksiyon yapılanlarda lokal rekürrens ve/veya lenf nodu metastazı % 90 üzerindedir. Rekürrenslerin % 71'i ilk 2 yılda, % 91'i ilk 5 yılda görülür.

Kolorektal karsinomaların prognozu çok sayıda klinik ve patolojik parametrelere bağlıdır:

Yaş: Yaş çoğu çalışmada bağımsız bir prognostik belirteç olarak kabul edilmemiştir. Genç hastalarda sağkalım daha kötü olmakla birlikte, çok yaşlı hastalarda tıkanma veya perforasyon ile başvurma oranı yüksek olduğundan yüksek mortalite oranı ve kötü sağkalım görülür⁽¹⁰⁷⁾.

Cinsiyet: Kadın hastalarda adjuvan kemoterapiye cevap erkeklere göre daha iyi olduğundan daha iyi sağkalım görülebilir⁽⁹¹⁾.

Serum CEA düzeyi: Preoperatif serum CEA düzeyinin sağkalım ile ilişkisi tartışmalıdır. Serum CEA düzeyinin yüksek olduğu hastalarda sağkalımın daha kötü olduğunu bildiren pek çok çalışma vardır. Bunun yanında sağkalıma etkisinin olmadığı da öne sürülmüştür. Karaciğer metastazlı hastalarda cerrahi tedavi öncesi ve sonrası serum CEA düzeyinin sağkalımda önemli bir belirteç olarak kabul edilmektedir⁽¹⁰⁸⁾.

Tümör evresi: Tümörün evresi halen en önemli prognostik faktör olarak kabul edilmektedir. Uygun cerrahi rezeksiyon yapılmış evre I hastalarda 5 yıllık sağkalım % 90'ın üzerinde iken evre IV hastalarda bu oran % 10'dan azdır. Tümörün barsak duvarı penetrasyonunun derinliği (T evresi), lenf nodu tutulumu (N evresi) ve uzak metastaz (M evresi) aslında tümörün evresini belirleyen parametreler olmakla birlikte her biri tek başına prognostik faktör olarak kabul görmüştür⁽⁹¹⁾.

Barsak duvarı penetrasyonu: Kolorektal kanserlerde barsak duvarı penetrasyonunun derinliğinin (T evresi) prognoz ile ilişkili olduğu bilinmektedir. T evresi yüksek tümörlerde daha kötü prognoz beklenir.

“Tis” (karsinoma in situ), intraepitelyal veya intramukozal lezyon da denir ve lamina propriaya invaze lezyonlar için kullanılır. Bu hastalar oldukça iyi prognoza sahiptirler. Karsinoma in situ'nun aksine, “invaziv karsinom” submukozal veya stromal invazyonu tanımlar ve lenfatik veya kan damarı tutulumu ve sonrasında metastaz riski nedeniyle oldukça önemli bir özellik olarak kabul edilmektedir.

Sadece polipektomi yapılmış T1 tümörlerde tümörün submukozal lenfatik ve venöz damarlara invazyonunun bölgesel lenf nodu ve karaciğer metastazı ile anlamlı

olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle submukozal lenfovasküler invazyon, daha geniş cerrahi eksizyon kararını (örn. segmental rezeksiyon veya aşağı rektal tümörler için lokal eksizyon) güçlü bir şekilde etkileyebilir.

Lenf nodu tutulumu: Lenf nodu tutulumu önemli bir prognostik faktör olarak ele alınmaktadır. Yüksek rekürrens riski nedeniyle, lenf nodu tutulumu olan evre III tümörlerde adjuvan kemoterapi önerilmektedir. Ancak bazı yazarlar evre IIb hastalara da, lenf nodlarında mikrometastaz olasılığı nedeniyle adjuvan kemoterapi verilmesini önermektedirler⁽⁹¹⁾.

Uzak metastaz: Uzak organ metastazı olan hastalarda 5 yıllık yaşam oranı oldukça düşüktür. Metastazektomi yapılmayanlarda bu oran % 5'i geçmez. Uzak organ metastazı olan hastalar doğrudan evre IV olarak kabul edilmektedir ve ortalama yaşam süreleri 12 ay civarındadır⁽⁹⁷⁾.

Rezidü tümör varlığı: Rezidü tümör sınıflaması, palyatif veya küratif tedavi (yalnızca cerrahi tedavi, yalnızca radyoterapi, yalnızca kemoterapi veya kombine tedavi) sonrası tümöral kalıntı durumunu gösterir. Rezidü tümör, küratif rezeksiyon sonrası proksimal, distal veya radial sınırdaki tümör varlığını, polipektomi yapılmış bir malign polip spesmeninde sınır pozitifliğini veya preoperatif neoadjuvan tedavi uygulanması durumunda kalıntı tümörün durumunu belirtir. Buna göre Rx: Rezidual tümör varlığı bilinmiyor; R0: Rezidü tümör yok; R1: Mikroskopik rezidual tümör; R2: Makroskopik rezidual tümör varlığını belirtir^(91,97).

Pek çok çalışmada R sınıflamasının tedavi sonrası sonucu ve prognozu etkileyen önemli bir belirteç olduğu gösterilmiştir. Radial cerrahi sınır daha çok rektal kanserlerde önemlidir ve mezorektal eksizyon ile beklenen yaşam süresinin uzayacağı bildirilmiştir.

Lenfatik ve venöz invazyon: Lenfatik ve venöz invazyonun varlığı kolorektal kanserlerde prognozu anlamlı olarak kötüleştiren faktörler olarak kabul edilmektedir. Lenfatik invazyon, bölgesel lenf nodu tutulumu, yüksek tümör evresi ve artmış bölgesel nüks oranı ile birliktelik gösterir. Venöz invazyonda da yüksek tümör evresi ve artmış uzak metastaz oranı mevcuttur.

Perinöral invazyon: Perinöral invazyonun varlığı da kötü sonuca işaret eden bağımsız bir prognostik faktör olarak kabul edilmektedir.

Tümörün boyutu: Pek çok çalışmada tümörün çapının anlamlı bir prognostik önemi olmadığı gösterilmiştir. Ancak bazı çalışmalarda çapı 3 cm'nin üzerinde olan

tümörlerde prognozun 3 cm'nin altında olan tümörlere göre daha kötü olduğu bildirilmiştir.

Patolojik evre: Patolojik evrenin kolorektal kanser prognozu ile anlamlı ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Buna göre patolojik evre arttıkça lenf nodu metastaz oranı artmakta ve prognoz kötüleşmektedir. Son zamanlarda, prognostik açıdan daha doğru değerlendirilebilmesi için, patolojik evrelemenin dört yerine iki kategoriye ayrılması önerilmiştir. Buna göre düşük evre: iyi ve orta derecede diferansiye; yüksek evre: Kötü diferansiye ve andiferansiye kanserleri içerir. Böylece sağkalım açısından daha iyi değerlendirme yapılabileceği belirtilmektedir.

Histolojik tip: Bazı çalışmalarda müsinöz karsinomlu hastalarda sağkalımın adenokarsinomlulara göre daha kötü olduğu bildirilmiştir. Ancak pek çok yazar müsinöz karsinomu bağımsız bir prognostik belirteç olarak kabul etmemektedir. Müsinöz karsinomun alt tipi olan taşlı yüzük hücreli karsinomda ise prognoz oldukça kötüdür ve 5 yıllık yaşam % 15'in altındadır. Nöroendokrin (küçük hücreli) karsinomun da sağkalımı kötüdür. Taşlı yüzük hücreli karsinom ve küçük hücreli karsinom histolojik evre olarak kötü diferansiye ve andiferansiye grubundadırlar.

Tümör lokalizasyonu: Sigmoid kolon ve rektum tümürlü hastalar en kötü sağkalıma sahip iken inen kolon tümörlerinde sağkalım daha iyidir. Sağ kolon tümörlerinde adjuvan kemoterapiye cevap oranı daha düşük ve sağkalım daha kötüdür. Bununla birlikte yerleşim yerinin prognostik önemi olmadığını öne süren çalışmalar da mevcuttur.

Makroskopik görünüm: Ülsere ve infiltratif tip karsinomlar polipoid ve egzofitik kanserlere göre daha kötü prognozludur. Egzofitik tümörlerin ülsere olanlara göre duvar invazyonu daha az sıklıktadır. Yassı karsinomlar, polipoid kanserlere göre daha derine invazyon ve lenfatik invazyon gösterirler.

Tıkanma ve perforasyon: Tıkanma ve perforasyon sonucu tanı konan hastalarda postoperatif mortalite daha sık ve ortalama yaşam süresi daha kısa bulunmuştur.

Tümöre lenfoid cevap: Tümör çevresi belirgin lenfositik infiltrasyon varlığı tümöre bağışıklık sisteminin cevabını gösterir ve sağkalımı olumlu yönde etkiler.

Endokrin hücreler: Bazı çalışmalarda endokrin hücreler içeren kolorektal adenokarsinomaların endokrin içermeyenlerden daha agresiv olduğu bulunmuş olmakla beraber diğer çalışmalarda böyle bir ilişkinin bulunmadığı belirtilmiştir.

HLA-DR ekspresyonu: Bazı çalışmalarda güçlü HLA-DR ekspresyonu gösteren tümörlerin daha iyi survi gösterdikleri bildirilmiştir.

Kromozom 18q allel kaybı: Bu karyotipik değişiklik kolorektal karsinomanın güçlü negatif prognostik işaretidir.

Müsin ilişkili antijenler: Müsinle ilişkili sialosyl-Tn ve sialyl Lewis antijeni eksprese eden kolorektal karsinomalar çok agresiv klinik seyirli bulunmuştur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Dah. Gastroenteroloji ve Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı'na klinil, laboratuvar ve patolojik bulguları ile kolorektal kanser tanısı konan hastaların alındığı prospektif bir çalışmadır. Hastalarda dışlama kriteri olarak kemoterapi veya radyoterapi almış olması olarak belirlendi. Hastaların yaşları, cinsiyetleri, yaşadıkları il, telefon numaraları, adresleri, tanı tarihleri, sigara ve alkol kullanıp kullanmadıkları, kırmızı et, katı yağ tüketimleri, ailede kanser hastalığı öyküsü, tümör lokalizasyonu, çapı, boyutu, vasküler invazyonu, lenf nodu metastaz varlığı, uzak metastaz varlığı, tümörün histolojik tipi, polip karakteri, herediter sendrom varlığı, CEA ve CA 19-9 düzeyleri kaydedildi. Hastaların tamamından EDTA içeren vakumlu tüplere 5 ml tam kan alındı. Kan örnekleri hastaların kendilerinin veya yakınlarının rızası ile alındı. Alınan kanlar + 4 derecede saklanarak DNA izolasyonu yapıldı.

Çalışma için Çukurova Üniversitesi Etik Kurul onayı alındı. Araştırılacak hastalar çalışma konusunda bilgilendirilerek onayları ile birlikte rıza formları alındı.

3.2. Çalışma Dışı Bırakma Kriteri

Hastalarda klinik, laboratuvar ve patoloji sonucu ile kolorektal kanser tanısı konmuş hastalardan daha önce kemoterapi ve/veya radyoterapi almış olan vakalar çalışma dışı bırakıldı.

3.3. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler

- Thermal Döngü Cihazı
- Soğutmalı Santrifüj
- Mikrosanrifüj
- Yatay elektroforez sistemi
- Elektroforez güç kaynağı
- Elektronik Hassas Terazî
- Hız ayarlı Vorteks

- Otomatik pipetler
- pH metre
- Enjektörler
- UV transillumunator
- UV görüntü analiz sistemi
- Steril 0,2 ml, 0,5 ml, 1,5 ml, 2 ml eppendorf santrifüj tüpleri
- Isıtıcı manyetik karıştırıcı
- İnkübasyon cihazı
- Agaroz (Sigma)
- Tris- Base (Sigma)
- EDTA, sodyum tuzu (Sigma)
- SDS, Sodyumdodesülfat (Sigma)
- Etil alkol (Merck)
- Borik Asit (Sigma)
- Etidyum bromür (Sigma)
- Proteinaz K (Sigma)
- Taq DNA polimeraz enzimi (Promega)
- Restriksiyon enzimleri (Promega ve Fermentas)
- 10 X PCR buffer (Promega)
- Deoksiribonükleotid trifosfatlar (dNTPs, Promega)
- Brom fenol blue (Sigma B-6896)
- Mineral yağ (Sigma M-5904)
- Potasyum bikarbonat (Merck C754962)
- Sodyum klorür (Merck)
- Xylene cyanol (Sigma X-4126)
- Fenol (Sigma)
- Kloroform (Merck)
- DNA size marker (100 bp DNA ladder, Puc 19 DNA/ Msp 1 Marker) (Promega)
- MgCL2 (Promega)

3.4. Çalışmada Kullanılan Stok Solüsyonlarının Hazırlanması

- 0,5 M EDTA pH 8,0
 - 18,61 g disodyum EDTA
 - 80 ml bidistile H₂O içinde çözülür.
 - Solüsyona 2 g NAOH tableti atılarak eritilir.
 - pH 8'e ulaştığında bidistile H₂O ile 100 ml tamamlanır.
 - Otoklavda sterilir.

- 1 M Tris Tamponu (Stok)
 - 121,1 g Tris Base tartılarak bir behere alındı. Üzerine 42 mikrolitre HCl ile yaklaşık 800 ml ddH₂O eklenerek manyetik karıştırıcı yardımıyla iyice çözündürüldü. Daha sonra balon jöjeye aktarıldı ve 1 litreye tamamlandı. 120 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

- 10 X TBE (Stok Solüsyonu)
 - 108 g Tris-Base (0,9 M)
 - 55 g Borik asit (0,9 M)
 - 40 ml 0,5 M EDTA pH 8,0 (20 mM)
 - Tris-Base ve borik asit 700 ml bidistile H₂O içinde çözülür.
 - EDTA eklenir.
 - Bidistile H₂O ile 1000 ml'ye tamamlanır.
 - Oda sıcaklığında saklanır.

- 1X TBE (Çalışma Solüsyonu)
 - 100 ml 10 X TBE stoktan
 - 900 ml bidistile H₂O eklenir.

- Edityum bromür solüsyonu (10 mg/ml)
 - 1 g Edityum bromür
 - 10 ml bidistile H₂O içinde çözülür.
 - Işık almayan bir şişe içinde + 4 ° C'de saklanır.
 - Stok solüsyondan, çalışma solüsyonu 0,5 mg/ml olacak şekilde hazırlanır.

- Proteinaz K (Sigma) Solüsyonu
 - 10 ml 500 mm'lik Tris (Ph 8) solüsyonu içine 100 mm'lik CaCl_2 'den 0,1 ml ilave edilir ve 100 mg proteinaz K solüsyona eklenir. Bu şekilde 10 mg/ml proteinaz K solüsyonları hazırlanır.

- % 10' luk SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) (Merck)
 - 10 g sodyum dodesil sülfat tartıldı. SDS tozlarını kaldırmamaya dikkat ederek beher içine alındı ve üzerine 80 mililitre ddH₂O eklendi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla çözündürüldü ve pH'sı 7,2'ye ayarlandı. 0,22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

- 4 M Sodyum Klorür (NaCL)
 - 233,6 gram sodyum klorür tartılarak erlene alındı. Üzerine 800 ml ddH₂O ilave edildi ve manyetik karıştırıcı ile iyice çözündürüldü. Balon jöjeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı. 120 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

- Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5X)
 - 20 g Ficoll 400, 1 g SDS, 0,2 ml 0,5 M EDTA, 1ml 1 M'lik Tris (pH 8), 200 mg Brom fenol blue, 200 mg Xylen cyanol tartılarak steril ddH₂O ile 100 ml'ye tamamlandı. Oda sıcaklığında saklandı.

- Eritrosit Parçalama Tamponu (Lysis Buffer)
 - 8,74 g Amonyum klorür, 1 g Potasyum bikarbonat, 200 µl 0,5 m'lik EDTA'nın tartımları yapılarak erlen içine alındı. 900 ml ddH₂O eklendi ve çözeltinin pH'sı 1 N NaOH ile 7,4'e ayarlandı. Daha sonra balon jöje içine alınarak 1 litreye tamamlandı. Çözelti ısıya dayanıklı şişelere aktarılarak 120 °C'de 15 dakika otoklavlandı ve + 4 ° C'de saklandı.

- Lökositleri Parçalama Tamponu (White Blood Cell Buffer- WBL)
 - 25 ml 4 M NaCL ve 50 ml 0,5 M EDTA direk balon jöjeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı. 120 ° C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3.5. DNA İzolasyon Yöntemi

- 5 ml EDTA'lı tüm kan 50 ml'lik polipropilen tüpüne alınır.
- Kan örneğinin üç katı hacminde (15 ml) eritrosit lizis tamponu konulup, kapak kapatılıp kısaca çalkalanır.
 - 2000 rpm'de + 4° C'de 15 dakika santrifüj yapılır. Üstteki süpernatant pastör pipeti ile atılır.
 - Eritrosit lizis tamponu ile yıkama işlemi iki kez daha yapılıp üstteki süpernatant atılarak aynı devir ve soğutmalı santrifüjde santrifüj edilir. Bu işleme lökosit pelleti beyazlaşınca kadar devam edildi.
 - Lökosit pelleti beyazlaşınca süpernatant dökülür. Lökosit pelleti üzerine 600 µl lökosit parçalama solüsyonu (White Cell- Lysis Buffer) 0,5 ml % 10 SDS ve 10 µl proteinaz K konulup köpürtmeden iyice pipetlenir. 55 °C 'de1 gece inkübasyona bırakılır.
 - 1 gece sonunda her tüpe hacminin 2 katı olacak şekilde fenol kloroform (1:1) çözeltilisinden eklenir. +4 °C'de 30 dakika beklenir.
 - 30 dakikanın sonunda +4°C'de 15 dakika 15000 devirde santrifüj edilir. Santrifüj sonunda süpernatant temiz tüpe alınarak süpernatantın hacminin 2 katı kadar tekrar feno-kloroform çözeltilisi eklenir ve +4 °C'de 30 dakika beklenir.
 - 30 dakikanın sonunda +4°C'de 15 dakika 15000 devirde santrifüj edilir. Santrifüj sonunda süpernatant temiz tüpe alınarak süpernatantın hacmi kadar kloroform ilave edilir ve +4 °C'de 15 dakika 15000 devirde santrifüj edilir.
 - 15 dakikanın ardından süpernatant temiz bir tüpe alınarak üzerine - 20°C tutulan % 100'lük etil alkol eklenir. Bu aşamadan sonra örnekler -20°C'de 1 gece tutulur.
 - 1 gecenin sonunda -20°C'den çıkarılan örnekler +4°C'de 15 dakika 15000 devirde santrifüj edilir.
 - Santrifüj sonrasında süpernatant dökülür. Eppendorf tüpleri DNA konsantratörde 3 dakika vakum altında kurutulur. Daha sonra DNA örnekleri steril ddH₂O ile çözündürülür. Bu aşamadan sonra çözülmüş DNA'lar -20 °C'de polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirilinceye kadar saklanır.

3.6. PCR-RFLP Analizi

- PCR-RFLP analizi miR-196a-2 genine ait C→T polimorfizm genotipinin saptanması için yapılmıştır.

- MiR-196a-2 genindeki C→T polimorfik bölgeyi içeren 149 baz çiftinden oluşan parçayı içeren kısım 5'-CCC CTT CCC TTC TCC TCC AGA TA-3' ve 5'-CGA AAA CGG ACT GTA ACT CGG-3' primerleri kullanılarak amplifiye edildi.

- 20 µL PCR karışımı ortalama 250 ng DNA, 0,25 µM primerler, 0,1 Mm her bir Dntp, 1X PCR buffer, 1,5 Mm MgCL2 ve 1 U Taq polimeraz içermektedir.

- Uygulanan PCR şartları; 95°C 5 dak sonrasında 94°C'de 60 sn, 63°C 60 sn, 72 °C 60 sn sürelerle 32 döngü uygulanmış olup son olarakta 72°C'de 10 dak. süre ile işlem tamamlanmıştır.

- PCR amplifikasyonu yapıldıktan sonra %1,5'luk agaroz gel elektroforez ile her bir 5µl PCR ürününün görüntüsü alınmıştır. Bu görüntü sonucu her bir PCR ürününden alınan 10µl'lik örnekler 5 ünite MspI endonükleaz enzimi ile 37 °C'de bir gece boyunca bekletilerek parçalara ayrılmıştır. 0,5 µg/mL ethidyum bromid içeren % 3 agaroz jelde elektroforez yapılarak UV aydınlatma altında görüntüleme alınarak allel ve genotip tayini yapılmıştır.

- PCR ürünlerinden C allele sahip polimorfik bölge 125 ve 24 bp uzunluğunda 2 parçaya ayrılırken, T alleleline sahip olan bölge 149 bp'lik tek bant şeklinde kalmıştır.

- Örneklerden 125 ve 24 bp parçası içerenler CC olarak genotiplendirilirken, 149 bp içerenler TT, 149, 125, 24 bp ise TC olarak genotiplendirilmiştir.

3.7. İstatiksel Analizler

Sayısal değişkenlerin ortalamalarının karşılaştırılmasında Student-t testi kullanılmıştır. Vaka ve kontrol grupları arasındaki miRNA polimorfizmi arasındaki farklılıklar Ki-Kare testi ile yapıldı. Lojistik regresyon yöntemiyle miRNA polimorfizmi ile hastalık evresi, tümör boyutu, CEA,CA19-9 düzeyleri, lenf nodu ve vasküler invazyon varlığı karşılaştırıldı. P değerinin 0,05 küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Bütün istatistiksel yöntemler, " SPSS (Statistical Packages of Social Sciences, SPSS for Windows, Version 20,0 Chicago, IC, USA) " istatistiksel paket programı kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya 84 patolojik olarak kolorektal kanser teşhisi konmuş hasta ve herhangi bir kanser öyküsü olmayan 119 birey kontrol grubu olarak alındı. Hasta ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyetleri benzer olarak seçildi.

Tablo 2. Kontrol ve Hasta Grubunun Cinsiyet Oranlarının Karşılaştırılması

			Cinsiyet		Total	p
			Erkek	Kadın	Erkek	
GRUP	KONTROL	Sayı	92	43	135	0,682
		Cinsiyet %'si	62,60%	59,70%	61,60%	
	HASTA	Sayı	55	29	84	
		Cinsiyet %'si	37,40%	40,30%	38,40%	
Toplam	Sayı	147	72	219		
	Cinsiyet %'si	100,00%	100,00%	100,00%		

Kontrol ve hasta grupları cinsiyet açısından karşılaştırıldığı zaman erkek hasta sayısı 55 (%37,4) kadın hasta sayısı ise 29 (%40,3) idi. Kontrol grubunda ise erkek sayısı 92 (% 62,6), kadın sayısı ise 43 (%59,7) idi. Her iki grup cinsiyet açısından karşılaştırıldığı zaman ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p: 0,682) (tablo 2)

Tablo 3. Yaş Açısından Grupların Karşılaştırılması

Grup İstatistikleri						p
	GRUP	Sayı	Ortanca	Standart Deviasyon	Standart hata ortalaması	0,375
Yaş	HASTA	84	60,74	13,923	1,519	
	KONTROL	135	62,2	10,33	0,889	

Hasta ve kontrol grubunda yaş ortalamalarına bakıldığı zaman çalışma grubunda 84 hasta mevcut olup, yaş ortalaması 60 olarak saptandı. Kontrol grubunda ise 135 olgu mevcut olup, yaş ortalaması 62 olarak saptandı. Bu iki grup yaş açısından karşılaştırıldığı zaman ise anlamlı bir fark saptanmadı. (p: 0,375) (Tablo 3)

Tablo 4. Hasta Yaşı ve Lokalizasyon Karşılaştırılması

	Lokaliz.	Sayı	Ortanca	Std. Deviasyon	Std. Hata Ortalaması
Yaş	Kolon	45	63,18	15,335	2,286
	Rektum	39	57,92	11,661	1,867

Tümör hastaların 45'inde kolonda, 39'unda ise rektumda lokalize idi. Kolon kanserli hastalar için yaş ortalaması 63, rektum kanserli hastalar için ise 57 idi. Kolon kanserli hasta sayısının fazla olmasının sebebi sigmoidoskopi ve polipektominin daha çok uygulanmasıyla rektum ve sigmoid kolon kanserlerinde azalma ile ilişkili olabilir. (Tablo 4)

Tablo 5. MiRNA Polimorfizmi ve Hasta Gruplarının Karşılaştırılması

			Grup		Toplam Kontrol	P
			Kontrol	Hasta		
MIRNA196	TT	Sayı	24	30	54	0,001
		GRUP %'si	19,00%	36,10%	25,80%	
	TC	Sayı	61	48	109	
		GRUP %'si	48,40%	57,80%	52,20%	
	CC	Sayı	41	5	46	
		GRUP %'si	32,50%	6,00%	22,00%	
Toplam	Sayı	126	83	209		
	GRUP %'si	100,00%	100,00%	100,00%		

MiRNA polimorfizmi ile hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığı zaman hasta grubunda miRNA-196a-2 geni TT genotipi 30 hastada (% 36,1), TC genotipi 48 hastada (% 57,8), CC genotipi ise 5 hastada (% 6) saptandı. Kontrol grubu ve hasta grubu

miRNA-196a-2 gen polimorfizmi açısından karşılaştırıldığı zaman ise anlamlı bir ilişki saptandı. (p: 0,001) Daha önce yapılan diğer çalışmalarda kanser türlerinde CC genotipini taşıyan bireyler artmış kanser riski, hastalık progresyonu ile ilişkili bulunurken, çalışmamızda hasta grupta CC polimorfizm yüzdesi daha düşük bulunmuştur. (Tablo 5)

Tablo 6. MiRNA Gen Polimorfizmi ve Lokalizasyon Karşılaştırması

			Lokalizasyon		Toplam	p
			Kolon	Rektum		
MIRNA196	TT	Sayı	24	17	13	0,001
		Lokaliz. %'si	19,00%	37,80%	34,20%	
	TC	Sayı	61	25	23	
		Lokaliz. %'si	48,40%	55,60%	60,50%	
	CC	Sayı	41	3	2	
		Lokaliz. %'si	32,50%	6,70%	5,30%	
Toplam	Sayı	126	45	38		
	Lokaliz. %'si	100,00%	100,00%	100,00%		

MiRNA-196a-2 polimorfizmi ile hastalık lokalizasyonu karşılaştırıldığı zaman CC genotipinin kolon ve rektum kanserli hastalarda daha az görüldüğü saptandı. MiRNA gen polimorfizmi ve hastalık lokalizasyonu istatistiksel olarak karşılaştırıldığı zaman ise anlamlı bir ilişki saptandı. (p:0,001) (Tablo 6)

Tablo 7. Hastalık Evresi ve Lokalizasyon Karşılaştırması

			Lokalizasyon		Toplam	p
			Kolon	Rektum		
Evre	1	Sayı	7	9	16	0,001
		Lokalizasyon %'si	15,60%	23,10%	19,00%	
	2	Sayı	12	20	32	
		Lokalizasyon %'si	26,70%	51,30%	38,10%	
	3	Sayı	9	3	12	
		Lokalizasyon %'si	20,00%	7,70%	14,30%	
	4	Sayı	17	7	24	
		Lokalizasyon %'si	37,80%	17,90%	28,60%	
Toplam	Sayı	45	39	84		
	Lokalizasyon %'si	100,00%	100,00%	100,00%		

Hastalık evresi ve lokalizasyon karşılaştırıldığı zaman kolon kanserli grupta evre 1 hasta sayısı 7 (% 15,6), evre 2 hasta sayısı 12 (% 26,7), evre 3 hasta sayısı 9 (% 20), evre 4 hasta sayısı ise 17 (% 37,8) idi. Rektum kanserli hastalarda ise evre 1 hasta sayısı 9 (% 23,1), evre 2 hasta sayısı 20 (% 51,3), evre 3 hasta sayısı 12 (% 14,3), evre 4 hasta sayısı ise 7 (% 17,9) olarak idi. Kolon kanserli hastalarda evre 4 hasta % 'si daha fazla saptanırken hastalık evresi ve lokalizasyon karşılaştırıldığı zaman istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı. (p: 0,029) (Tablo 7)

Tablo 8. MiRNA Gen Polimorfizmi ve Hastalık Evresi Karşılaştırması

			Evre				Toplam	p
			1	2	3	4		
MIRNA196	TT	Sayı	5	11	4	10	30	0,75
		Evre %'si	33,30%	34,40%	33,30%	41,70%	36,10%	
	TC	Sayı	9	20	6	13	48	
		Evre %'si	60,00%	62,50%	50,00%	54,20%	57,80%	
	CC	Sayı	1	1	2	1	5	
		Evre %'si	6,70%	3,10%	16,70%	4,20%	6,00%	
Toplam	Sayı	15	32	12	24	83		
	Evre %'si	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%		

MiRNA-196a-2 gen polimorfizmi ve hastalık evresi karşılaştırıldığı zaman evre 4 hastalarda TT genotipi hastaların % 41,7'sinde, CC genotipi ise % 4,2'sinde saptandı. İstatistiksel olarak gen polimorfizmi ve hastalık evresi arasında fark saptanmadı. (p:0,750) Daha önce yapılan çalışmaların aksine ilerlemiş hastalık evresi ve CC polimorfizmi arasında ilişki saptanmadı. (Tablo 8)

Tablo 9. MiRNA Gen Polimorfizmi ve Cinsiyet Karşılaştırması

			Cinsiyet		Toplam Erkek	P
			Erkek	Kadın		
MIRNA196	TT	Sayı	34	20	54	0,407
		Cinsiyet %'si	24,5%	28,6%	25,8%	
	TC	Sayı	77	32	109	
		Cinsiyet %'si	55,4%	45,7%	52,2%	
	CC	Sayı	28	18	46	
		Cinsiyet %'si	20,1%	25,7%	22,0%	
Total	Sayı	139	70	209		
	Evre %'si	100,0%	100,0%	100,0%		

MiRNA gen polimorfizmi ve cinsiyet açısından karşılaştırma yapıldığı zaman erkek cinsiyette TT genotip yüzdesi % 24,5, CC genotip yüzdesi ise % 20,1 idi. Kadın cinsiyette ise TT genotip yüzdesi % 28,6, CC genotip yüzdesi ise %25,7 idi. İstatiksel olarak gen polimorfizmi ve cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. (p: 0,407) (Tablo 9).

Tablo 10. MiRNA196 ve Metastaz Varlığının Karşılaştırılması

			Metastaz		Toplam	P
			0	1		
MIRNA196	TT	Sayı	20	10	30	0,757
		Metastaz %'si	33,90%	41,70%	36,10%	
	TC	Sayı	35	13	48	
		Metastaz %'si	59,30%	54,20%	57,80%	
	CC	Sayı	4	1	5	
		Metastaz %'si	6,80%	4,20%	6,00%	
Toplam	Sayı	59	24	83		
	Metastaz %'si	100,00%	100,00%	100,00%		

MiRNA gen polimorfizmleri ve metastaz varlığı karşılaştırıldığı zaman metastazı olan grubun % 6'sında CC genotipi saptanmış olup, metastazı olmayan grupta CC genotip yüzdesi daha yüksek saptanmıştır. (% 6,8) En azından bir C alleli taşıyan grupta bile metastaz oranı düşük bulunmuştur. MiRNA polimorfizmi ve evre karşılaştırması yapıldığı zaman ise istatiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. (p: 0,757) (Tablo 10)

Tablo 11. MiRNA Gen Polimorfizmi ve Vasküler İnvazyon Karşılaştırması

			Vasküler invazyon		Toplam	p
			0	1	0	
MIRNA196	TT	Sayı	17	13	30	0,781
		Vask.İnvz. %'si	33,30%	40,60%	36,10%	
	TC	Sayı	31	17	48	
		Vask.İnvz. %'si	60,80%	53,10%	57,80%	
	CC	Sayı	3	2	5	
		Vask.İnvz. %'si	5,90%	6,30%	6,00%	
Toplam		Sayı	51	32	83	
		Vask.İnvz. %'si	100,00%	100,00%	100,00%	

MiRNA gen polimorfizmi ve vasküler invazyon karşılaştırması yapıldığı zaman vasküler invazyonu olan hastalarda TT genotipi oranı % 40,6, CC genotipi oranı ise % 6 olarak saptandı. Vasküler invazyonu olmayan grupta ise CC genotip yüzdesi daha düşük idi. (% 5,9) MiRNA polimorfizm ve vasküler invazyon açısından ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. (p: 0,781) (Tablo 11)

Tablo 12. MiRNA Gen Polimorfizmi ve Lenf Nodu Tutulumu Karşılaştırması

			Lenf nodu			Toplam	p
			0	1	2	0	
MIRNA196	TT	Sayı	20	3	7	30	0,501
		Lenf nodu %'si	37,00%	50,00%	30,40%	36,10%	
	TC	Sayı	32	3	13	48	
		Lenf nodu %'si	59,30%	50,00%	56,50%	57,80%	
	CC	Sayı	2	0	3	5	
		Lenf nodu %'si	3,70%	0,00%	13,00%	6,00%	
Toplam		Sayı	54	6	23	83	
		Lenf nodu %'si	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	

MiRNA gen polimorfizmi ve lenf nodu tutulumu karşılaştırıldığı zaman lenf nodu tutulumu olmayan hastalarda TT genotipi oranı % 37, CC genotipi oranı ise % 3,7 olarak saptandı. Birden fazla lenf nodu tutulumu olan grupta ise TT genotipi oranı % 36,1, CC genotipi oranı ise % 13 olarak saptandı. Gen polimorfizmi ve lenf nodu tutulumları kıyaslandığı zaman ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. (p:0,501) (Tablo 12)

Tablo 13. MiRNA Polimorfizminin CA 19-9, CEA, BMI, tm Hacmi Karşılaştırması

MIRNA196		CA 19-9	cea	BMI kg/m ²	Hacim
TT	Ortanca	18,539	7,698	27,23	9,4171
	Sayı	30	30	30	30
	Std. Deviasyon	21,505	13,9319	3,579	17,41282
TC	Ortanca	32,424	11,67	26,48	29,5849
	Sayı	48	48	48	48
	Std. Deviasyon	49,1136	25,7848	3,446	131,73056
CC	Ortanca	27,78	5,38	23,4	3,4028
	Sayı	5	5	5	5
	Std. Deviasyon	20,8717	4,2734	3,578	5,77938
Toplam	Ortanca	27,125	9,855	26,57	20,7181
	Sayı	83	83	83	83
	Std. Deviasyon	40,1349	21,3416	3,569	100,827

MiRNA gen polimorfizmleri ile CEA, CA 19-9, BMI, hacim arasında karşılaştırma yapıldığı zaman CC genotipine sahip bireylerde CA 19-9 düzeyleri $27,7 \pm 20,8$, TT genotipine sahip bireylerde ise $18,5 \pm 21,5$ idi. CEA düzeyi ise TT genotipine sahip bireylerde $7,6 \pm 13,9$, CC genotipine ait bireylerde ise $5,38 \pm 4,27$ idi. Her 4 grup arasında miRNA gen polimorfizmi ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. (p: 0,425, p:0,291, p:0,125, p:0,743) (Tablo 13)

Tablo 14. Tümör Boyutu, BMI, CEA, CA 19-9 Düzeyi ile Lokalizasyon Karşılaştırması

	Lokalizas.	Sayı	Ortanca	Standart deviasyon
Hacim	Kolon	45	37,2234	135,36083
	Rektum	39	1,1936	4,13824
BMI kg/m ²	Kolon	45	26,24	3,345
	Rektum	39	26,92	3,779
cea	Kolon	45	9,266	20,3827
	Rektum	39	11,667	23,4369
CA 19-9	Kolon	45	29,911	41,4345
	Rektum	39	23,882	38,3160

Hasta bireylerde lokalizasyon ile BMI, tümör boyutu, CEA, CA 19-9 düzeyleri karşılaştırıldığı zaman kolon tümörlerinde CEA düzeyi $9,2 \pm 20,3$, CA 19-9 düzeyi ise $29,9 \pm 41,4$ idi. Rektum tümörlerinde ise CEA düzeyi $11,6 \pm 23,4$, CA 19-9 düzeyi ise $23,8 \pm 38,3$ idi. Kolon tümörlerinde ise tümör boyutu rektum tümörlerine göre daha büyük olarak saptandı.

5. TARTIŞMA

MikroRNA (miRNA) 'lar yüksek seviyede korunan DNA bölgelerinden kodlanan fakat proteine translasyonu gerçekleşmeyen, yaklaşık 18-24 nükleotid uzunluğunda küçük RNA molekülleridir. Kanserin başlamasında ve ilerlemesinde, miRNA'lar hedefledikleri genin karakterine göre tümör süpresörler veya onkogenler gibi fonksiyon göstermektedirler. MiRNA'lar kolorektal kanser patogenezinde rol alan birçok onkogenik ve tümör süpresör yolun regüle edilmesini sağlamaktadır.

Kolorektal karsinomda ise miRNA düzeyleri farklılık göstermektedir. MiRNA ekspresyonundaki değişikliklerde ilk olarak 2003 yılında Michael ve arkadaşları kolorektal doku örneklerinde miRNA 143 ve 145'in azaldığını saptamışlardır. Şu anda yapılan çalışmalarda ise miRNA-143'ün hedef molekülünün K-Ras onkogeni olduğu gösterilmiştir⁽¹¹⁵⁾. Ng ve arkadaşlarının kolorektal kanserli ve non-kanseröz doku örneklerini içeren 90 hasta ile yaptığı çalışmada ise miR 17-3p ve miR-92 düzeyleri kolorektal kanserli hastalarda anlamlı olarak yüksek bulunmuş ve operasyon sonrası plazmada düzeylerinde azalma tespit edilmiştir. ⁽¹¹⁶⁾. Cheng ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise; 156 hastada plazma örneklerinde miR-141 düzeyinin yüksekliğinin düşük survi ile ilişkili olduğu gösterilmiş ve kolon kanseri gelişiminde prognostik bir faktör olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.⁽¹¹⁷⁾. Chong ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise miR-92 düzeyinin kolorektal kanserli hastalarda anlamlı olarak yükseldiği ve KRK görüntülemesinde non-invaziv bir marker olarak kullanılabileceği belirtilmiştir⁽¹¹⁸⁾. Nishida ve arkadaşlarının 89 kolorektal kanserli hastada yaptığı çalışmada ise miR-125b düzeyinin yüksekliğinin tümör boyutu, tümör invazyonu ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir⁽¹¹⁹⁾. Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise miR-195 düzeyinin düşük olmasının lenf nodu metastazı ve ilerlemiş tümör evresi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir⁽¹²⁰⁾. Diaz ve arkadaşlarının 110 kolorektal kanserli hasta ile yaptığı çalışmada ise miR-106a downregülasyonunun düşük survi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Huang ve arkadaşları ise lenf nodu (+) tümörlü hastalarda miR-137 düzeyinin 6 kat yüksek olduğunu göstermişlerdir. 5FU son 10 yıldır kolorektal kanser tedavisinde kullanılan en temel ilaçtır. Bazı hastalar bilinmeyen nedenlerle tedaviye düşük yanıt gösterdikleri için, miRNA'ların tedavi yanıtının belirlenmesindeki rolü araştırılmış. Yang ve arkadaşları 46 kolorektal kanserli hastaya ait doku örneklerinde

kemosensitivite ve tümör ilişkisini araştırmışlar ve let-7g, miR-181b ve miR-200c'nin yüksek olduğu tespit edilmiş. Let-7g ve miR-181b düzeyinin ise 5FU bazlı kemoterapiye yanıt ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Nakajima ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise rezidüel veya rekürren kolon kanserli 49 hastada oral 5-FU tek başına veya sisplatin ile kombine alan hastalarda düşük let-7g ve miR-181b düzeyinin tedaviye parsiyel yanıt ve stabil hastalık ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.⁽¹²³⁾ MiR-17-92 ailesine ait miR-17-5p, miR-20, miR-25, miR-92-1, miR-92-2, miR-93-1, miR-106a düzeyleri kolon kanserinde mikrosatellit stabil tümörlerde, mikrosatellit instabil tümörlere göre artmış bulunmuştur. Schetter ve arkadaşlarının 197 kolorektal kanserli hastada yaptığı çalışmada ise yüksek miR-21 düzeyi azalmış survi, ileri TNM evresi ile ilişkili bulunmuştur. Yantiss ve arkadaşları ise kolorektal kanserli <40 yaş 24 hasta ile >40 yaş 45 hastada miRNA ekspresyon düzeyleri arasındaki farklılığı karşılaştırdıkları zaman, miR21, miR-20a, miR-145, miR-181b ve miR-203 düzeylerinin genç hastalarda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Aslam ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise kolorektal kanserde tümöral dokularda miR-20a, miR-21, miR-106a, miR-181b ve miR-203 düzeyinin yüksekliği kötü prognoz ile ilişkili bulunmuş. Rektal tümörlü hastalarda ise miR-320 veya miR-498 düzeyinin yüksekliği düşük survi ile ilişkili bulunmuş. Chiang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise kolorektal kanserli hastalarda doku örneklerinde miR-203 düzeyinin düşük olmasının artmış tümör boyutu ve ilerlemiş T evresi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Slaby ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 29 kolorektal kanserli hastaya ait doku örneklerinde miR-21 düzeyi normal mukozaya göre daha yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda miR-21 düzeyinin yüksekliği lenf nodu pozitifliği ve uzak metastaz ile ilişkili bulunmuştur. Kolorektal karsinomda miRNA 196'nın rolüne bakıldığı zaman ise Zhan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada miRNA-196a2'nin kolorektal kanserde düzeyinin arttığı gösterilmiştir⁽¹²¹⁾. Frereichs ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise kolon kanserli ve normal mukoza örnekleri karşılaştırıldığı zaman miR-196a düzeyi daha yüksek bulunmuştur. MiR-196a gen düzeyi diğer hastalıklarda da değişiklik göstermektedir. Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada pankreas adenokarsinomunda miR-196a düzeyinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda özefagus adenokarsinomunda da düzeyi yüksek tespit edilmiş olup, Barret özefagusundan düşük grade displazi, yüksek grade displazi ve adenokarsinoma ilerleyişte bir marker olarak kullanılabilceği belirtilmiştir. T hücreli

ALL’de ise prekürsör B hücreli ALL ile karşılaştırıldığı zaman miR-196b düzeyi daha yüksek bulunmuştur. MiR-196a geninin onkogenik etkisi yanında tümör süpresör etkisi de mevcuttur. Melanomalı ve metastatik meme kanserli hastalarda düzeyi düşük bulunmuştur. MiRNA-196a-2 geni kromozom 12q13.13 üzerinde lokalize olup, birçok malign tümörde potansiyel biomarker olarak kullanılmaktadır. Tek nükleotid polimorfizmi (SNPs) gen fonksiyonu veya ekspresyonunu etkilemekte ve kanserin patofizyolojik mekanizmasının aydınlatılmasına katkıda bulunmaktadır. MiR-196a-2 geninde de sitozinden timine (C→T) olarak SNPs tanımlanmıştır. Bu SNPs’nin referans numarası Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi verilerinde rs11614913 olarak belirtilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda matür ve prekürsör miRNA sekans varyasyonlarının miRNA biogenezini etkilediği gösterilmiş ve rs11614913 CC düzeyinin artmış miRNA-196a-2 düzeyi ile anlamlı olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir⁽¹²²⁾. Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada miR-196a-2’deki rs11614913 polimorfizminin NSLC ile ilişkili olduğu gösterilmiştir, CC homozigot formuna sahip hastalarda yaşam süresinde anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir.⁽¹²³⁾ Aynı zamanda bu ilişki meme kanseri, gastrik kanser ile baş boyun kanseri için de gösterilmiştir. MiRNA-196a-2 rs11614913 CC genotip homozigot formunun artmış meme kanseri riski ve kanser gelişimi ile ilişkisi olduğu belirtilirken, safra kesesi tümörleri için herhangi bir ilişki bulunmamıştır, gliomada ise CC genotipinde azalma saptanmıştır. Zhan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kolorektal kanserli hastalarda CC genotip sıklığı daha yüksek bulunmuştur. CC genotipi veya en azından bir C alleli taşıyan bireylerde miR-196a düzeyi artmaktadır, fakat hastalık progresyonu ve polimorfizm arasında ilişki bulunmamaktadır. Yapılan bir diğer çalışmada ise HCC’li erkek hastalarda miR-196a-2 rs11614913 polimorfizmine ait CC genotipi ile artmış risk saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda ise patolojik olarak kolorektal kanser teşhisi konulan, kolon ve rektum kanserli, kemoterapi veya radyoterapi almamış hastalarda miR-196a-2 gen polimorfizminin kolorektal kanserle ilişkisini araştırdık. Çalışmamızdaki kısıtlayıcı faktörler ise; çalışmamızda hastalar sadece tek bir merkezden toplanmıştır. (Çukurova Üniversitesi, Balcalı Hastanesi) İkinci olarak çalışma için az sayıda hasta ve kontrol grubu alındı. Hasta ve kontrol grubu gen polimorfizmi açısından karşılaştırıldığı zaman daha önce yapılan çalışmaların aksine hasta grupta CC polimorfizm oranı daha düşük

saptandı. Benzer şekilde evre 4 hasta grubunda daha düşük evrelere göre CC polimorfizm oranı daha düşük saptandı. Hasta sayısının az olmasının ve kemoterapi almamış, cerrahi operasyon için daha düşük evrelerde hastaneye yatan hastalardan kan alınmasının bu sonuca yol açtığı düşünüldü. Gen polimorfizmi ve metastaz varlığı, vasküler invazyon, lenf nodu tutulumu arasındaki ilişki karşılaştırıldığı zaman ise metastatik hastalarda, vasküler invazyonu olanlarda ve 2'den fazla lenf nodu tutulumu olanlarda CC genotipi oranı daha düşük saptandı. Bu yüzden MiRNA-196a-2 geni CC genotipi ile kolorektal kanserli hastalar arasında ilişkili olmadığı söylenebilir, fakat daha fazla sayıda hasta içeren araştırmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada kolorektal kanserli hastalarda miRNA-196a-2 gen polimorfizmi ile hastalık evresi, metastaz durumu, lenf nodu tutulumu, vasküler invazyon, CEA ve CA 19-9 düzeyleri, tümör boyutu kıyaslandı. Bunun sonucunda;

1. MiRNA 196a-2 gen polimorfizmi ile hastalık evresi arasında anlamlı fark bulunmadı.

2. Gen polimorfizmi ile erkek ve kadın cinsiyet arasında anlamlı fark bulunmadı.

3. MiRNA 196a-2 gen polimorfizmi ile vasküler invazyon arasında anlamlı fark bulunmadı.

4. Hasta ve kontrol grubu olarak kıyaslandığı zaman gen polimorfizmi ile anlamlı fark mevcut idi. (p: 0,001)

5. Gen polimorfizmi ile lenf nodu tutulumu arasında anlamlı fark saptanmadı.

6. Gen polimorfizmi ile CEA, CA 19-9 düzeyleri ve tümör boyutu arasında anlamlı fark saptanmadı.

7. MiRNA 196a-2 gen polimorfizmi ile metastaz durumu arasında anlamlı fark saptanmadı.

8. MiRNA 196a-2 gen polimorfizmi ile hastalık ilişkisinin kıyaslanması için daha fazla sayıda hasta ile çalışma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Luk GD.** *Malignant tumors of the colon.* In: Brandt LJ. Clinical Practice of Gastroenterology. (Volume 1). Philadelphia, Current Medicine, Inc. **1999**; p.762-72.
2. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2007. Atlanta, GA: American Cancer Society; **2007**.
3. **Edwards BK, Ward E, Kohler BA, et al.** Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2006, featuring colonic cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates. *Cancer* **2010**; 116:544.
4. **Weir HK, Thun MJ, Hankey BF, et al.** Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2000, featuring the uses of surveillance data for cancer prevention and control. *J Natl Cancer Inst* **2003**; 95:1276-99.
5. **Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, et al.** New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology* **1999**; 116:1453-6.
6. **Burt RW, DiSario JA, Cannon-Albright L.** Genetics of colon cancer: impact of inheritance on colon cancer risk. *Annu Rev Med* **1995**; 46: 371.
7. **Rosai J.** Gastrointestinal tract. In: Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, Volume 1. 9 th ed. Mosby, **2004**: 776-855.
8. **Terry P, Giovannucci E, Michels KB, et al.** Fruit, vegetables, dietary fiber, and risk of colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* **2001**; 93:525.
9. **Slattery ML, Boucher KM, Caan BJ, et al.** Eating patterns and risk of colon cancer. *Am J Epidemiol* **1998**; 148:4.
10. **Ströhle A, Maike W, Hahn A.** Nutrition and colorectal cancer. *Med Monatsschr Pharm* **2007**; 30: 25-32.
11. **Ye W, Romelsjö A, Augustsson K, et al.** No excess risk of colorectal cancer among alcoholics followed for up to 25 years. *Br J Cancer* **2003**; 88:1044.
12. **Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J, et al.** Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of 8 cohort studies. *Ann Intern Med* **2004**; 140:603.
13. **Giovannucci E, Rimm EB, Ascherio A, et al.** Alcohol, low-methionine--low-folate diets, and risk of colon cancer in men. *J Natl Cancer Inst* **1995**; 87:265.
14. **Christine A. Lacubuzio D, Elizabeth M.** Epithelial neoplasms of the colorectum. In: Gastrintestinal and Liver Pathology. *Churchill Livingstone Elsevier*, **2005**: 367-394.
15. **Kempers MJ, Kuiper RP, Ockeloen CW, et al.** Risk of colorectal and endometrial cancers in EPCAM deletion-positive Lynch syndrome: a cohort study. *Lancet Oncol* **2011**; 12:49.
16. **Spirio L, Olschwang S, Groden J, et al.** Alleles of the APC gene: an attenuated form of familial polyposis. *Cell* **1993**; 75:951.
17. **Meyskens FL, Jr, McLaren CE, Pelot D, et al.** Difluoromethylornithine plus sulindac for the prevention of sporadic colorectal adenomas: a randomized placebo-controlled, double-blind trial. *Cancer Prev Res (Phila)* **2008**; 1:32.

18. **Kumar V, Abbas AK, Fausto N.** The gastrointestinal tract. In Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7 th. Ed. Philadelphia: *Elsevier Saunders Company*, **2005**; 857-869.
19. **Winawer SJ, Zauber AG, Gerdes H, et al.** Risk of colorectal cancer in the families of patients with adenomatous polyps. National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* **1996**; 334:82.
20. **Rex DK, Johnson DA, Anderson JC, et al.** American College of Gastroenterology guidelines for colorectal cancer screening 2009 [corrected]. *Am J Gastroenterol* **2009**; 104:739.
21. **Ekbom A, Helmick C, Zack M, Adami HO.** Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med* **1990**; 323: 1228.
22. **Botteri E, Iodice S, Bagnardi V, et al.** Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA* **2008**; 300:2765.
23. **Lagergren J, Ye W, Ekbom A.** Intestinal cancer after cholecystectomy: is bile involved in carcinogenesis? *Gastroenterology* **2001**; 121:542.
24. **Reid FD, Mercer PM, Harrison M, Bates T.** Cholecystectomy as a risk factor for colorectal cancer: a meta-analysis. *Scand J Gastroenterol* **1996**; 31:160.
25. **Loic Le Marchand, Lynne R Wilkens, Laurence N.** Kolonel Associations of sedentary lifestyle, obesity, smoking, alcohol use and diabetes with the risk of colorectal cancer **1997**; 57:4787.
26. **Bini EJ, Park J, Francois F.** Use of flexible sigmoidoscopy to screen for colorectal cancer in HIV-infected patients 50 years of age and older. *Arch Intern Med* **2006**; 166:1626.
27. **Baxter NN, Tepper JE, Durham SB, et al.** Increased risk of rectal cancer after prostate radiation: a population-based study. *Gastroenterology* **2005**; 128:819.
28. **Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Potter JD.** Infectious agents and colorectal cancer: a review of Helicobacter pylori, Streptococcus bovis, JC virus, and human papillomavirus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **2008**; 17:2970.
29. **Park JM, Choi MG, Kim SW, et al.** Increased incidence of colorectal malignancies in renal transplant recipients: a case control study. *Am J Transplant* **2010**; 10:2043.
30. **Stewart M, Macrae FA, Williams CB.** Neoplasia and ureterosigmoidostomy: a colonoscopy survey. *Br J Surg* **1982**; 69:414.
31. **Wolin KY, Yan Y, Colditz GA, Lee IM.** Physical activity and colon cancer prevention: a meta-analysis. *Br J Cancer* **2009**; 100:611.
32. **Park Y, Leitzmann MF, Subar AF, et al.** Dairy food, calcium, and risk of cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Arch Intern Med* **2009**; 169:391.
33. **Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A.** Magnesium intake in relation to risk of colorectal cancer in women. *JAMA* **2005**; 293:86.
34. **Thun MJ, Namboodiri MM, Heath CW, Jr.** Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer. *N Eng J Med.* **1991**; 1593-6.
35. **Chlebowski RT, Wactawski-Wende J, Ritenbaugh C, et al.** Estrogen plus progestin and colorectal cancer in postmenopausal women. *N Engl J Med* **2004**; 350:991.
36. **Marlyn JB, David Am.** Polyp growth and polyp-cancer sequence. Clinics in colon and rectal surgery. **2002**; 97-104.

37. **Büyükdoğan M.** Kolorektal kanserlerde genetik ve etyolojik faktörler. **2005**; 25:171-180.
38. **Mehlen P, Fearon ER.** Role of the dependence receptor DCC in colorectal cancer pathogenesis. *Journal of clinical oncology.* **2004**; 3420-3428.
39. **Itoh F, Hinoda Y, Ohe M, et al.** Decreased expression of DCC Mrna in human colorectal cancers. *Int J cancer* **1993**; 53:260-263,
40. **Russo A, Bazan V, Iacopetta B, Kerr D, Soussi T, Gebbia N.** The TP53 colorectal cancer international collaborative study on the prognostic and predictive significance of p53 mutation: influence of tumor site, type of mutation, and adjuvant treatment. *Journal of Clinical Oncology.* **2005**;23(30):7518–7528.
41. **Iacopetta B, Russo A, Bazan V, et al.** Functional categories of TP53 mutation in colorectal cancer: results of an International Collaborative Study. *Annals of Oncology.* **2006**; 17(5):842–847.
42. **Goto T, Mizukami H, Shirahata A, et al.** Aberrant methylation of the p16 gene is frequently detected in advanced colorectal cancer. *Anticancer Research.* **2009**; 29(1):275–277.
43. **Keyes MK, Jang H, Mason JB, et al.** Older age and dietary folate are determinants of genomic and p16-specific DNA methylation in mouse colon. *Journal of Nutrition.* **2007**;137(7):1713–1717.
44. **Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B.** Genetic instability in colorectal cancers. *Nature.* **1997**; 386(6625):623–627.
45. **Knutsen T, Padilla-Nash HM, Wangsa D, et al.** Definitive molecular cytogenetic characterization of 15 colorectal cancer cell lines. *Genes Chromosomes and Cancer.* **2010**;49(3):204–223.
46. **Half E, Bercovich D, Rozen P.** Familial adenomatous polyposis. *Orphanet Journal of Rare Diseases.* **2009**;4.
47. **Andreyev HJ, Norman AR, Oates J.** Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer. *Br J cancer* **2001**; 85:692-6.
48. **Conlin A, Smith G, Carey FA.** The prognostik significance of K-ras,p53 and APC mutations in colorectal carcinoma. *Gut* **2005**; 54:1283-6.
49. **Sylvia K, Shenouda and Suresh K. Alahari.** MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? Department of Biochemistry and Molecular Biology, Stanley S Scott Cancer Center, Louisiana State University Health Sciences Center, 1901 Perdido Street, New Orleans, LA 70112, USA *Cancer Metastasis Rev* **2009 Dec**; 28:369-78
50. **Ruvkun G.** Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science* **2001**; 294: 797–799.
51. **Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V.** The C. Elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* **1993**; 75: 843–854.
52. **Lagos- Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T.** Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* **2001**;294:853–858.
53. **Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al.** The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in Caenorhabditis elegans. *Nature* **2000**; 403, 901–906.
54. **Esquela-Kerscher A, Slack FJ.** Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer.* **2006**; 6:259-269.
55. **Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ.** Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* **2001**; 409:363-366.

56. **Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U.** Nuclear export of microRNA precursors. *Science* **2004**; 303:95-98.
57. **Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R.** Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* **2005**; 123:631-640.
58. **Calin G, A., et al.** Frequent deletions and downregulation of microRNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. **2002**; 99:15524-15529.
59. **Michael MZ, O'Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ.** Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* **2003**;1:882-891.
60. **Cowland JB, Hother C, Gronbaek K.** MicroRNAs and cancer. *APMIS* **2007**;115:1090–1106.
61. **Madhu S. Kumar, Stefan J. Erkeland, Ryan E, et al.** Suppression of non-small cell lung tumor development by the let-7 microRNA family. *PNAS*. **2008 March**; vol. 105; 10:3903-3908
62. **Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, et al.** RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell* **2005**;120: 635–647.
63. **Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al.** MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* **2005**; 65:7065–7070.
64. **Garzon R, Volinia S, Liu CG, et al.** MicroRNA signatures associated with cytogenetics and prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood* 2008;111:3183–3189.
65. **Eis P, Tam W, Sun L, et al.** Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas. *PNAS* **2005**;102:3627–3632.
66. **Kluever J, Poppema S, de Jong D, et al.** BIC and miR-155 are highly expressed in Hodgkin, primary mediastinal and diffuse large B cell lymphomas. *J Pathol* **2005**;207:243–249.
67. **Volinia S, Calin G, Liu CG, et al.** A microRNA expression signature in human solid tumors defines cancer targets. *PNAS* **2006**; 103:2257–2261.
68. **Mendell JT.** miRiad roles for the miR-17-92 cluster in development and disease. *Cell* **2008**; 133:217–222.
69. **Lee YS, Dutta A.** MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol* **2009**; 4:199-227.
70. **Faber C, Kirchner T, Hlubek F.** The impact of microRNA's on colorectal cancer. *Virchows Arch* **2009**; 400;359-367.
71. **Nagel R, Le Sage C, Diosdado B, Waal M, Oude Vrielink JA, Bolijn A, Meijer GA, Agami R.** Regulation of the adenomatous polyposis coli gene by the miR-135 family in colorectal cancer. *Cancer res* **2008**; 68:5795-5802.
72. **Wang JC, Zhou ZG, Wang L, et al.** Clinicopathological significance of microRNA-31, -143 and -145 expression in colorectal cancer. *Disease Markers*. **2009**; 26(1):27–34.
73. **Slaby O, Svoboda M, Fabian P, et al.** Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology*. **2008**; 72(5-6):397–402.
74. **Xi Y, Formentini A, Chien M, et al.** Prognostic values of microRNAs in colorectal cancer. *Biomarker Insights*. **2006**; 1:113–121.

75. **Rozen P, Knaani J, Samuel Z.** Eliminating the need for dietary restrictions when using a sensitive guaiac fecal occult blood test. *Dig Dis Sci* **1999**; 44:756-60.
76. **Nadel MR, Shapiro JA, Klabunde CN, et al.** A national survey of primary care physicians methods for screening for fecal occult blood. *Ann Intern Med* **2005**; 142:86-94.
77. **Segnan N, Senore C, Andreoni B, et al.** Score 2 Working Group-Italy. *J Natl Cancer Inst* **2005**; 97:347-57.
78. **Schoenfeld P, Cash B, Flood A, et al.** Colonoscopic screening of average-risk women for colorectal neoplasia. *N Engl J Med* **2005**; 352:2061-8.
79. **Lieberman DA, Weiss DG.** Veterans Affairs Cooperative Study Group 380. One-time screening for colorectal cancer with combined fecal occult-blood testing and examination of the distal colon. *N Engl J Med* **2001**; 345:555-60.
80. **Lieberman DA, Weiss DG, Bond JH, et al.** Use of colonoscopy to screen symptomatic adults for colorectal cancer. *N Engl J Med* **2000**; 343:162-8.
81. **Impreiale TF, Wagner DR, Lin CY, et al.** Risk of advanced proximal neoplasms in asymptomatic adults according to the distal colorectal findings. *N Eng J Med* **2000**; 343:169-74.
82. **Rex DK, Chak A, Vasudeva R, et al.** Prospective determination of distal colon findings in average-risk patients with proximal colorectal cancer. *Gastrointestinal Endosc* **1999**; 49:727-30.
83. **Kahi CJ, Rex DK.** Screening and surveillance of colorectal cancer. *Gastrointes Endosc Clinic North Am* **2005**; 15:533-47.
84. **Rockey DC, Paulson E, Niedzwiecki D, et al.** Analysis of air contrast barium enema, computed tomographic colonography and colonoscopy: prospective comparison. *Lancet* **2005**; 365:305-11.
85. **Johnson CD, Chen MH, Toledano AY, et al.** Accuracy of CT colonography for detection of large adenomas and cancers. *N Engl J Med* **2008**; 359:1207.
86. **Brenner DJ, Georgsson MA.** Mass screening with CT colonography: should the radiation exposure be of concern? *Gastroenterology* **2005**; 129:328.
87. **Kodner IJ, Fry D.R., Fleshman J.W. Birnbaum E.H.** Colon Rektum and Anus, *Diagnosis Schwartz Principles of Surgery* **1994**; 2,1262-64.
88. **Winawer SJ, Fletcher RH, Miller R, et al.** Colorectal cancer screening: clinical guidelines and rationale. *Gastroenterology* **1997**; 112:594-642.
89. **Bromer MQ, Weinberg DS.** Screening for colorectal cancer now and the near future. *Semin Oncol* **2005**; 32:3-10.
90. **Christine A, Lacubuzio-D, Elizabeth M.** Epithelial neoplasms of the colorectum. In: *Gastrointestinal and Liver Pathology. Churchill Livingstone Elsevier* **2005**; 367-394.
91. **Rosai J.** Gastrointestinal tract. In Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, Volume 1.9 th ed. *Mosby*, **2004**: 776-855.
92. **Anne BB, Clive A.** Colorectal cancer. Clinical Review. *BMJ*, **2007**; 335:715-8.
93. **Libutti KL, Saltz LB, Tepper JE.** Colon Cancer. DeVita Hellman, And Rosenberg's Cancer; Principles & Practice of Oncology. 8th Ed. Vol: One, Philadelphia; **2008**; pp:1232-1285.

94. **Speights, V.O, et al.** Colorectal cancer: Current trends in initial clinical manifestations. *South Med J* **1991**; 84:575-578.
95. **Steinberg, S. M., et al.** Pronostic Indicators of Colon Tumors-The Gastrointestinal Tumor Study Group Experience. *Cancer*, **1986**: 1866-1870.
96. **Küpeliöglu AA.** Kolorektal kanserde histopatoloji. *Türkiye Klinikleri* **2004**; 9:25-27.
97. **Fenoglio - Preiser CM, Noffsinger AE, Stemmermann GN, Lantz PE, Listrom MB, Rilke FO.** Carcinomas and other epithelial and neuroendocrine tumors of large intestine. In *Gastrointestinal Pathology an atlas and text. 2 th. ed.* Philadelphia: *Lippincot-Raven Publishers* **1999**; 909-1068.
98. American Joint Committee on Cancer AHCC Cancer Staging Manual. 6 th ed. New York: Springer, **2002**; 113-118.
99. **Greene FE, Stewart AK, Norton HJ.** A new TNM staging strategy for node-positive colon cancer: an analysis of 50 042 patients. *Ann Surg* **2002**; 236:416-421.
100. **Eche N, Pichon MF, Quillien V, Gory-Delabaere G, Riedinger JM, Basuyau JP.** Standarts, options and recommendations for tumor markers in colorectal cancer. *Bull cancer* **2001**; 88:1177-1206.
101. **Dudoet B, Jacop L, Beuzebec B, Magdelenat H, Robine S, Chapuis Y.** Presence of villin, a tissue-specific cytoskeletal protein, in sera of patients and a initial clinical evaluation of its value for the diagnosis and follow up of colorectal cancers. *Cancer Res*, **1990**; 50:438-443.
102. **Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al.** Global cancer statistics, *CA Cancer J Clin* **2002**; 55:74-108.
103. **R. Labiancal, B. Nordlinger, GD. Berette et al.** Primary colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up. *Annals of oncology* **2010**;70-77.
104. **Gramont A, Boni C, Navarro M, et al.** Oxaliplatin/5FU/LV in adjuvant colon cancer: Updated efficacy results of the MOSAIC trial, including survival, with a median follow-up of six years. Proceedings of the 2007 ASCO Annual Meeting Abstract Book p.106, Chicago **2007**.
105. **Aydiner A, Topuz E, Özmen V, ve ark.** Gastrointestinal Sistem Tümörleri. Onkoloji El Kitabı. İstanbul: Turgut Yayıncılık; **2006**; s.199-267.
106. **Glimelius B, Pahlman L, Cervantes A.** Rectal cancer. ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology* **2010**; 21(5):82-86.
107. **Kuşakçioğlu Ö.** Kolorektal kanser hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, **2003**; 1-27.
108. **Louihimo J, Carpelan Holström M, Alftan H, Stenman UH, Jarvinen HJ, Haglund C.** Serum HCG beta, CA 72-4 and CEA are independent prognostic factors in colorectal cancer. *Int J Cancer* **2002 Oct**; 20;101(6):545-8.
109. **Sarver AL, French AJ, Borralho PM, et al.** Human colon cancer profiles show differential microRNA expression depending on mismatch repair status and are characteristic of undifferentiated proliferative states. *BMC Cancer*. **2009**; 9, article 401.
110. **Chen X, Guo X, Zhang H, et al.** Role of miR-143 targeting KRAS in colorectal tumorigenesis. **2009**; 28(10):1385–1392.
111. **Svoboda M, Izakovicova Holla L, Sefr R, Vrtkova I, Kocakova I, Tichy B, Dvorak J.** Micro-RNAs miR125b and miR137 are frequently upregulated in response to capecitabine chemoradiotherapy of rectal cancer. *Int J Oncol* **2008**; 33: 541–547.

112. **Schimanski C.C, Frerichs K, Rahman F.** High miR-196a levels promote the oncogenic phenotype of colorectal cancer cells. *World J Gastroenterol* **2009**; 15: 2089-2096.
113. **Yekta S, Shih IH, Bartel DP.** Micro-RNA directed cleavage of HOXB8 Mrna. *Science* **2004**; 304:594-596.
114. **Bloomston M, Frankel WL, Petrocca F, Volinia S, Alder H, Hagan JP, Liu CG, Bhatt D, Taccioli C.** MicroRNA expressions patterns to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic paeatitis. *JAMA* **2007**; 297:1901-1908.
115. **Chen X, Guo X, Zhang H, et al.** Role of miR-143 targeting KRAS in colorectal tumorigenesis. *Oncogene*. **2009**; 28:1385–1392
116. **Ng EK, Chong WW, Jin H, et al.** Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening. *Gut*. **2009**; 58:1375–1381
117. **Cheng H, Zhang L, Cogdell DE, Zheng H, Schetter AJ, Nykter M, Harris CC, Chen K, Hamilton SR, Zhang W.** Circulating Plasma MiR-141 is a novel biomarker for metastatic colon cancer and predicts poor prognosis. *Plos One* **2011 Mar**; 17;6(3):e17745.
118. **Ngl E, Chong W, Jin H.** Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer. *Gut* **2009**; 1375-1381
119. **Nishida N, Yokobori T, Mimori K.** MicroRNA miR-125b is a prognostic marker in human colorectal cancer. *Int J Oncol*, **2011**; 1437-43.
120. **Wang X, Wang J, Ma H.** Downregulation of miR-195 correlates with lymph node metastasis and poor prognosis in colorectal cancer. *Medical Oncology*, **2011**; 12032-11
121. **Zhan J, Chen L, Yusan Y.** A functional variant in miRNA-196a2 is associated with susceptibility of colorectal cancer in a chinese population. *Archieves of medical research* **2011**; 144-148
122. **Hoffman AE, Zheng T, Yi C et al.** MicroRNA miR-196a-2 and breast cancer: a genetic and epigenetic association study and functional analysis. *Cancer Res* **2009**; 69: 5970-5977
123. **G.Nakajima, K.Hayashi, Y.Xi et al.** Non-coding microRNAs hsa-let-7g and hsa-miR-181b are associated with chemoresponse to S-1 in colon cancer, *Cancer Genomics and Proteomics*, **2006**; 317-324

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ferda KÖKSAL
Doğum Tarih ve Yeri : 02.11.1982/ TARSUS
Medeni Durumu : Bekar
Adres : Beyazevler Mah. Ergüncantürk Apt.
Kat: 5/10 ADANA
Telefon : 0 506 976 64 49
E-Mail : ferdakoksal33@hotmail.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Mersin Üniversitesi
Görev Yeri : Çukurova Üniversitesi
Yabancı Dil : İngilizce