



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

**KOLON KANSERİ VE POLİPLERİNDE
GHRELİN VE P53'ÜN
DEĞERİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. NİLÜFER OĞUZHAN

KAYSERİ – 2008



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

**KOLON KANSERİ VE POLİPLERİNDE
GHRELİN VE P53'ÜN
DEĞERİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Nilüfer OĞUZHAN

**Danışman
Doç. Dr. Şebnem GÜRSOY**

KAYSERİ – 2008

TEŐEKKÖR

Tezimin planlanması ve yűrűtűlmesindeki katkılarından dolayı Doç. Dr. Őebnem Gűrsoy'a, histopatolojik çalıŐmalarda emeđi geçen Doç. Dr. IŐın Soyuer'e, biyoistatistik çalıŐmalarda yardımcı olan RuŐen Erez'e, Gastroenteroloji polikliniđi endoskopi űnitesi çalıŐanlarına, imműnhistokimyasal boyama sırasında emeđi geçen Műnevver Baran ve Zeynep DođmuŐ'a teŐekkűr ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR	iii
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	x
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
Ghrelın	3
Polip kanser ilişkisi	12
P53	24
GEREÇ (HASTALAR) VE YÖNTEM	27
BULGULAR	31
TARTIŞMA	40
SONUÇLAR	46
KAYNAKLAR	47
EKLER.....	56
TEZ ONAY SAYFASI	59

KISALTMALAR

AAP	: Adenoma with advanced pathology
AC	: Akciğer
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
APC	: Adenomatosis poliposis koli geni
Ca	: Kanser
cDNA	: Komplementer DNA
COX	: Siklooksinejaz
DCC	: Deleted in kolon kanser geni
FAP	: Familyal adenomatosis poliposis
G	: Ghrelin
GBM	: Glioblastome Multiforme
GH	: Growth hormon
GHRH	: Growth hormon salgılatıcı(releasing) hormon
GHRP	: Growth hormon releasing peptid=GHS
GHS	: Growth hormon sekretagog
GHS-R	: Growth hormon sekretagog reseptör
GIS	: Gastrointestinal sistem
HE	: Hematoksilen eosin boyası
HNPCK	: Herediter non poliposis kolorektal kanser
IGF-1	: İnsülin like growth faktör 1
IHC	: İmmünohistokimya

icv	: intraserebrovasküler
iv	: intravenöz
KRK	: Kolorektal kanser
MMR	: Mismatch repair
NSAİİ	: Non-steroid anti-inflamatuar ilaç
PRL	: Prolaktin
RCC	: Renal hücreli karsinom
TSH	: Tiroid stimulan hormon

TABLO LİSTESİ

	Sayfa no
Tablo 1 : Ghrelin/GHS'lerinin etkileri	10
Tablo 2 : Kolorektal poliplerin sınıflaması	13
Tablo 3 : Histolojik tipin adenom büyüklüğü ve displazi derecesi ile ilişkisi.....	14
Tablo 4 : Tümör supresör genler	19
Tablo 5 : Kolorektal karsinogenezi potansiyel olarak etkileyen faktörler.....	23
Tablo 6 : Immünohistokimyasal boyama prosedürü	29
Tablo 7 : Çalışma gruplarının yaş açısından karşılaştırılması	31
Tablo 8 : Çalışma gruplarının cinsiyete göre dağılımı	32
Tablo 9 : Kanseri dokuların Ghrelin ile boyanması	32
Tablo 10 : Polipli dokuların ghrelin ile boyanması.....	33
Tablo 11 : Poliplerin alt gruplarının ghrelin boyanma özellikleri.....	33
Tablo 12 : Kanseri ve polipli hasta gruplarının Ghrelin ile boyanma özelliği.....	34
Tablo 13 : Kanseri dokuların ve normal mukozanın ghrelin ile boyanma özelliklerinin karşılaştırılması.....	35
Tablo 14 : Polipli dokuların ve normal mukozanın ghrelin ile boyanma özelliklerinin karşılaştırılması.....	35
Tablo 15 : Kanseri dokuların p53 ile olan boyanma özellikleri	36
Tablo 16 : Polipli hastaların p53 ile olan boyanma özellikleri	36
Tablo 17 : Poliplerin alt gruplarında p53 boyanma özelliği.....	37

Tablo 18 : Grupların p53 boyanması açısından karşılaştırılması.....	37
Tablo 19 : Kanserli dokuların ve normal mukozanın p53 ile boyanma oranlarının karşılaştırılması	38
Tablo 20 : Polipli dokuların ve normal mukozanın p53 ile boyanma oranlarının karşılaştırılması	39

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa no
Şekil 1 : GHS-R'ün somatotrop hücrelerdeki sinyal iletim yolu	4
Şekil 2 : Rat Ghrelin'in Yapısı.3.aa olan Serine oktanoik asit ile açillenmiştir	5
Şekil 3 : Alternatif kesimden kaynaklanan değişik Ghrelin variantları.....	6
Şekil 4 : İnsan Ghrelin'inin gen ve protein yapısı	7
Şekil 5 : GH/IGF aksının Ghrelin bağımlı GH salınımı ile ilişkisi	7
Şekil 6 : Erken-intermediate-Geç adenom-Karsinomaya dönüşüm	16
Şekil 7 : Mikrozomal ve kromozomal instabilite	18
Şekil 8 : Genetik alterasyonların birikimi.....	18
Şekil 9 : Adenomdan karsinoma dönüşümün etyolojisi	20
Şekil 10 : P53'ün tümör patogenezindeki rolü	26

ÖZET

Amaç: Kolon kanseri, kansere bağlı ölüm sıralamasında akciğer kanserinden sonra 2. sırada yer alır ve erişkin yaştaki toplumu etkileyen bir tümördür. Erken tanı prognozu etkiler. Kolon kanseri gelişiminde kolon polipleri prekanseröz lezyonlardır ve histopatolojik yapıları, sayıları ve büyüklükleri lezyonların malignleşmesinde önemli kriterlerdir. Ghrelin protein sentezini artıran, hücre proliferasyonunda rol aldığı bilinen bir peptiddir. Çalışmamızda ghrelin'in hücre proliferasyonuna etkisi dikkate alınarak, kolon poliplerinin proliferasyonu ve malignleşme potansiyeline katkısını; polip-kanser dönüşümünde prediktif değerinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Ayrıca kolon karsinogenezinde önemi bilinen p53 tümör supresör geninin de polip ve kanserli dokulardaki boyanma özelliklerini değerlendirdik.

Hastalar ve Metod: Bu çalışmaya Ekim 2005-Haziran 2007 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Bilim Dalı Polikliniğine başvuran, endoskopik olarak kolonda kanser (n=25) ve 1 cm'den büyük polip (n=25) görülerek endoskopik biyopsi yapılan 50 hasta dahil edildi. Birinci gruba kolonda kanser tanısı olan hastalar, ikinci gruba kolon polipi olan olgular alındı. Olguların sağlam mukozasından alınan biyopsiler kontrol grubu olarak kabul edildi. Lezyonlar büyüklük, sayıları ve histolojik özellikleri açısından değerlendirildi. Normal mukoza, kanserli doku ve poliplerden alınan biyopsiler ghrelin ve p53 antikorları ile immünohistokimyasal yöntemle boyandı. SPSS 11,0 paket programı kullanılarak verilerin istatistiksel analizi yapıldı. İstatistiksel anlamlılık seviyesi $p<0,05$ olarak kabul edildi.

Bulgular: Gruplar yaş ve cinsiyet bakımından benzerdi. Birinci grubu oluşturan hastalarda kanserli ve normal dokulardan alınan biyopsilerde ghrelin ve p53 ile boyanmaları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p:0,0001$). Kanser ve polip dokuları daha fazla oranda boyandı, normal mukozada boyanma olmadı. Benzer şekilde 2. grupta da polipler ghrelin ve p53 ile normal mukoza ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı yüksek oranda boyandı. Normal mukozada boyanma olmadı. Kanser ve polipli dokuların ghrelin ve p53 ile boyanma özellikleri arasında ise istatistiksel olarak fark yoktu.

Sonuçlar: Çalışmamızda hem polip hem kanser dokusunun normal mukozadan daha fazla oranda ghrelin ile boyanma özelliği gösterdiğini tespit ettik. Fakat kanser ve polip dokusu arasında anlamlı fark bulamadık. Bu bulgular ghrelin'in hücrenin malign proliferasyonunu gösteren bir belirteç olmaktan ziyade esas olarak hücre proliferasyonunun bir göstergesi olabileceğini düşündürdü. Bağımsız bir proliferasyon göstergesi olan p53 ile de beklendiği gibi kanser, polip dokusu ile normal dokular arasında anlamlı fark bulundu. Ghrelin ile boyanmada olduğu gibi, p53 ile de, kanser ve polipli dokularda boyanma özelliğinin fark göstermediğini tespit ettik.

Anahtar Kelimeler: Ghrelin, İmmünohistokimya, Kolorektal kanser, p53.

THE VALUE OF GHRELIN AND P53 IN COLORECTAL CANCER AND POLYPS

ABSTRACT

Aim:Colorectal cancer (CRC) is the second common cancer that causes death between cancers after lung carcinoma and is predominantly a disease of adult population. Early diagnosis affects the prognosis. Colonic polyps are precancerous lesions in the development of CRC and their histopathological structure, number of polyps and size of the polyps are important criteres for the lesions to develop cancer. Ghrelin is a peptid that stimulates protein synthesis and is known to have some effects on cell proliferation. As known the effects of ghrelin on cell proliferation, in our study we aimed to evaluate the effects of ghrelin on the proliferation and malignant transformation of colonic polyps and to investigate whether it is a predictive factor in polyp-cancer transformation. And also we evaluated the p53, an important tumour supressor gen in colon carcinogenesis, immunostaining of the specimens of polyp and cancer tissues.

Patients and Methods: Between October 2005 and June 2007, 50 patients who referred to the Department of Gastroenterology, Medical Faculty, University of Erciyes and who have CRC (n=25) and polyp (n=25) to the endoscopic appearance and in whom endoscopic biopsy were taken, were included in the study. To the first group the patients who have CRC were accepted and to the second group the patients who have polyps in colon were accepted. The patient's normal mucosa is accepted as the control group. Size, number and histological features of the lesions were evaluated. Immunohistochemical staining was performed with ghrelin and p53 antibody to the endoscopic biopsies of the normal mucosa, cancerous tissue and polyp mucosa. Statistical analyses were performed using SPSS 11.0 and p value less than 0,05 was regarded as statistically significant.

Results: The groups were similar with respect to age and gender. In the first group, in the biopsies that were taken from cancerous and normal tissue, there was statistically significant difference between ghrelin and p53 staining (p:0,0001). The cancer and

polyp tissues stained in a higher proportion, but there was no staining in normal mucosa. Similarly in the second group, with ghrelin and p53, polyps were stained significantly higher than the normal mucosa. There was no staining in the normal mucosa. There was no statistically significant difference between the staining of cancer and polyp mucosa for ghrelin and p53.

Conclusion: In our study we found that, both cancer and polyp mucosa shows higher immunoreactivity than normal mucosa for ghrelin and P53. But we could not find any difference between cancer and polyp mucosa. These data suggest that ghrelin is not a predictor of malignant transformation but is a marker of the proliferation. As accepted for p53, an independent marker of proliferation, we found significant difference between neoplastic and non-neoplastic tissues. Like ghrelin immunostaining, we found no significant difference between cancer and polyp tissue for p53 immunoreactivity.

Key Words: Colorectal cancer, Ghrelin, immunohistochemistry , p53

GİRİŞ VE AMAÇ

Kolon kanseri erişkin yaşta toplumu etkileyen ve kansere bağlı ölüm sıralamasında 2. sırada rastlanan bir tümördür. Diğer kanserlerde olduğu gibi kolon kanserinde de erken tanı prognozu etkiler. Bu nedenle risk faktörleri iyi değerlendirilmeli ve hastalar önerilen kılavuzlar doğrultusunda takip edilmelidir. Kişiyeye bağlı risk faktörleri arasında yer alan kolonda adenom öyküsü varlığı, adenomların prekanseröz olması ve malignleşme potansiyelleri nedeniyle yakından takip edilmeyi gerektiren durumlardan birisidir. Özellikle adenomların boyutları, sayısı, histolojik yapısı malignite göstergeleri açısından önemlidir. Bununla birlikte hala adenomun kansere değişimini öngören belirteçler yetersizdir.

Ghrelin, GHS-R (büyüme hormonu salgılatıcı reseptör) üzerinden hücre proliferasyonu başta olmak üzere birçok fizyolojik olayda rol oynar (1). Hücre proliferasyonuna yol açtığı için tümör oluşumuna etkisi çeşitli çalışmalarla araştırılmıştır. Ghrelin'in pankreatik adenokarsinoma ve pankreatik endokrin tümörler (2) başta olmak üzere gastrointestinal sistem (GIS) nöroendokrin tümörleri (NET) (3,4), mide ve mukoepidermoid tükrük bezi tümörlerinde (5) varlığı immünohistokimyasal (IHC) olarak gösterilmiştir. Aynı zamanda tiroid (6), prostat (7) gibi GIS dışında yerleşmiş tümörlerde de ghrelin varlığı tespit edilmiştir. Bu çalışmaların ışığında kolonda neoplastik-neoplastik olmayan lezyonların ayırımında ghrelin ile boyanmanın özellik taşıyıp taşımadığını araştırdık.

P53 kolon karsinogenezinde, adenomdan karsinoma dönüşümün geç safhasında yer alan bir tümör supresör genidir. P53 geninin inaktivasyonu kolorektal kanserlerin

(KRK) %49-70'inde oluşmaktadış (8) Meme, kolorektal, gastrik, endometrial karsinomlar, lenfomalar, lösemiler gibi kanser türlerinde p53' n aşırı ekspresyonunun prognostik önemi olduğu gösterilmiştir(9,10,11,12).

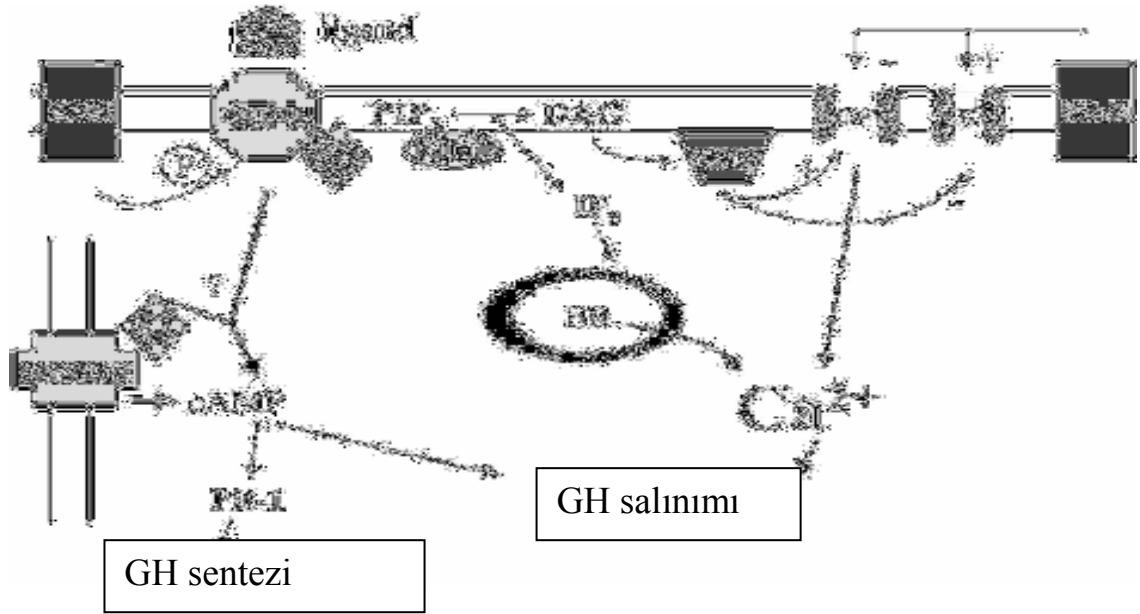
Çalışmamızda hücre proliferasyonunda rol oynadığı bilinen ghrelin'in kolon poliplerinin proliferasyonu ve malignite özelliği kazanmasındaki olası önemini araştırmayı amaçladık. Ayrıca kolon karsinogenezinde önemli rol oynadığı bilinen P53, bağımsız bir proliferasyon göstergesi olduğu için kanserli, polipli dokularda ve normal mukozada boyanma özelliklerini araştırdık ve ghrelin ile karşılaştırdık.

GENEL BİLGİLER

GHRELİN

Ghrelın ilk olarak mideden izole edilmiş 28 aminoasitlik bir peptiddir. Ağırlıklı olarak mide fundusundan salınmaktadır. Daha az olarak mideden kolona kadar tüm gastrointestinal kanal, hipofiz, böbrek, akciğer, testis, pankreas, lökositler, hipotalamus ve eser miktarda adrenal bez, adipositler, safra kesesi, iskelet kası, cilt, dalak, myokard, karaciğer, prostat ve overde tespit edilmiştir (13,14). Ghrelın gıda ve kilo alımını uyarır, hipofizden Growth hormon (GH) salınımını etkiler. Hücre proliferasyonu gibi birçok fizyolojik olayda rol oynar. Geçmişte GH sekresyonunun GH sentezini ve salınımını uyarın GH-releasing hormon (GHRH) ile baskılayan somatostatin olmak üzere iki peptid tarafından kontrol edildiği düşünölmekteydi. 1996'da sıçan midesinde, GHRH reseptöründen ayrı ve GH salınımını etkileyen, bir peptid ile bağlandığında GH sekresyonuna sebep olan bir başka reseptör daha tanımlandı: GH sekretagog reseptör (GHS-R) (15). Bu reseptörün endojen ligandını tanımlamak için yapılan çeşitli çalışmalardan sonra 1999 yılında, mide doku ekstrelerinde, GHS-R'e yüksek afinitede bağlanma kapasitesine sahip, GH salınımını GHRH ile karşılaştırılabilir hassaslıkta uyarın bir peptid elde edilerek "büyüme" anlamına gelen "ghre" kökünden türeyen ghrelın adı verildi (16). Ghrelın aynı zamanda GH salınımını artıran peptid anlamına da gelmektedir ve GHS-R üzerinden etki gösterdiği için bu reseptöre ghrelın reseptörü de denebilir (16, 17). Ghrelın GH salınımını GHRH'dan farklı bir yol ile uyarır (Şekil 1) (18). GHRH, GHRH reseptörü üzerine ikincil mesajcı olarak görev yapan intraselüler CAMP'yi artırarak

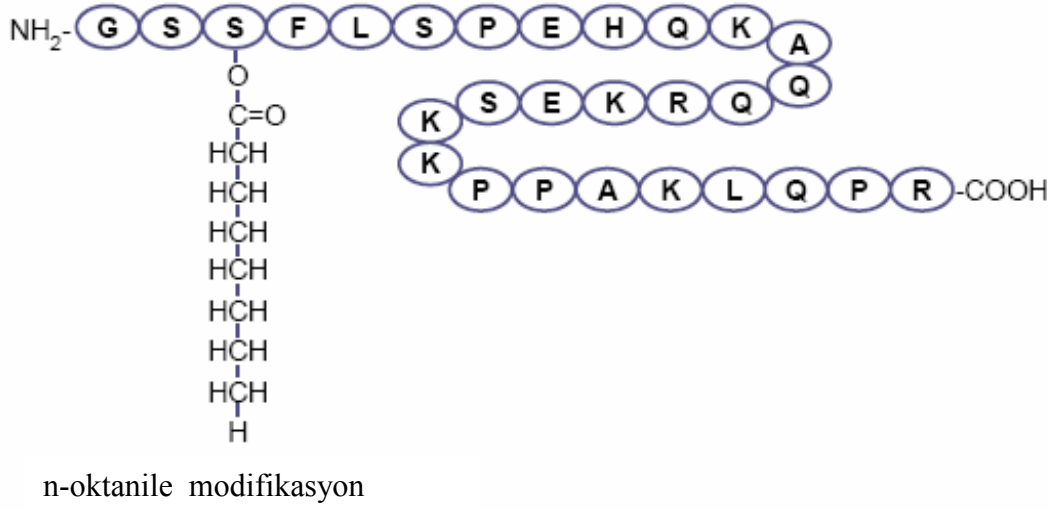
etki gösterir. Ghrelin ise GHS-R'ünü aktive ederek inositol 1,4,5-trifosfat ve protein kinaz C sinyali transdüksiyonu ile intraselüler kalsiyum konsantrasyonunu artırarak etki eder (Şekil 1) (16, 19) .



Şekil 1. GHS-R'ün somatotrop hücrelerdeki sinyal iletim yolu (18). (SS:Somatostatin, SS-R:Somatostatin reseptörü, PKC:Fosfokinaz C, DAG:Diaçil gliserol, IP3:İnozitol trifosfat, PLC:Fosfolipaz C, PIP2:Fosfoinozitol difosfat, G:Ghrelin, GH: Growth hormon, GHS-R:Growth hormon sekretagog(salgılatıcı) reseptör, GHRH-R: Growth hormon releasing(salgılatıcı) hormon reseptörü, P:Fosfat, ER:Endoplazmik retikulum)

Ghrelin diğer proteinlerden farklı olarak bir post-translasyonel modifikasyona uğrar. Moleküler yapısında N terminalindeki 3. aminoasit olan Serin aminoasitinin hidroksil grubunun hidrojeni, bir hidrofobik parça, C₇H₁₅CO ile yer değiştirmiştir. Yani Serin aminoasitinin hidroksil grubu oktaniledir. Başka hiçbir doğal peptidin bu açil grubunda post-translasyonel modifikasyona sahip olduğu gösterilmemiştir. Bu modifikasyon, peptidin GH salgılatıcı biyolojik aktivitesi için temeldir (16) ve ghrelin'in N terminalinde hidrofobiklik oluşturduğu, böylece molekülün daha

kolaylıkla beyin dokusuna geçerek hipofiz/hipotalamusta etkisini gösterdiği düşünülmektedir (Şekil 2) (20).

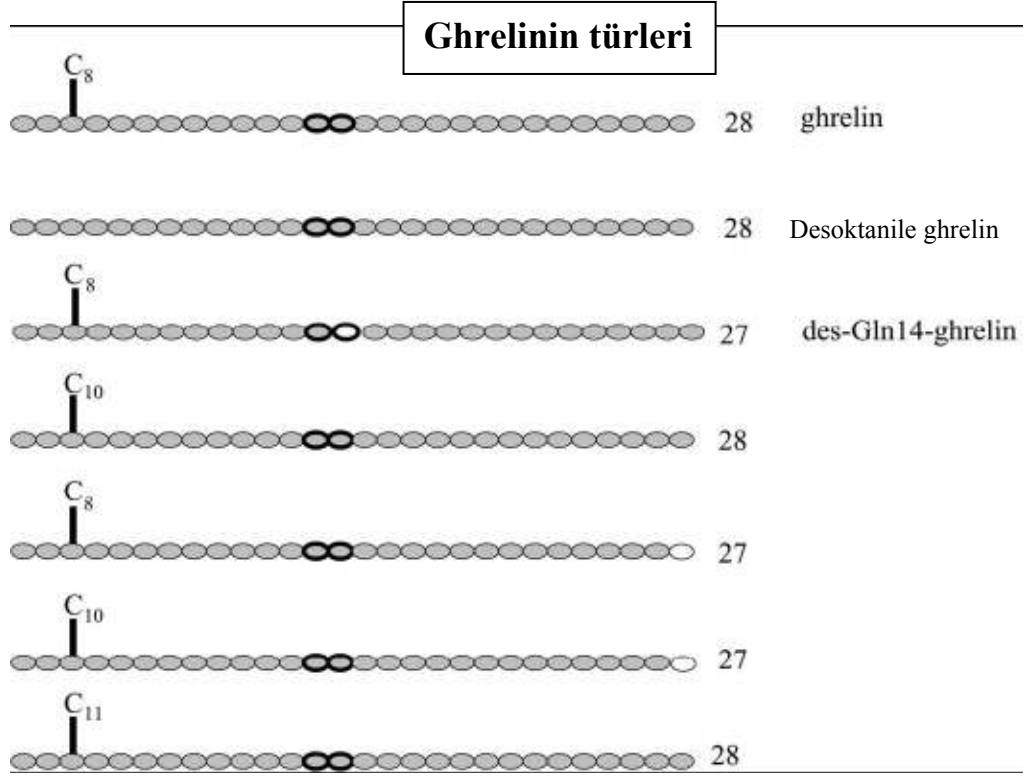


Şekil 2. Rat Ghrelin'in Yapısı.3.aa olan Serine oktanoik asit ile açillenmiştir (18)

Ghrelin'in mide ve plazmada bulunan iki ana formu vardır. Bunlar oktanoil modifiye ghrelin ve variantları olan desaçil (veya desoktanile) ghrelin ve des-glutamin ghrelin'dir (Şekil 3) (21).

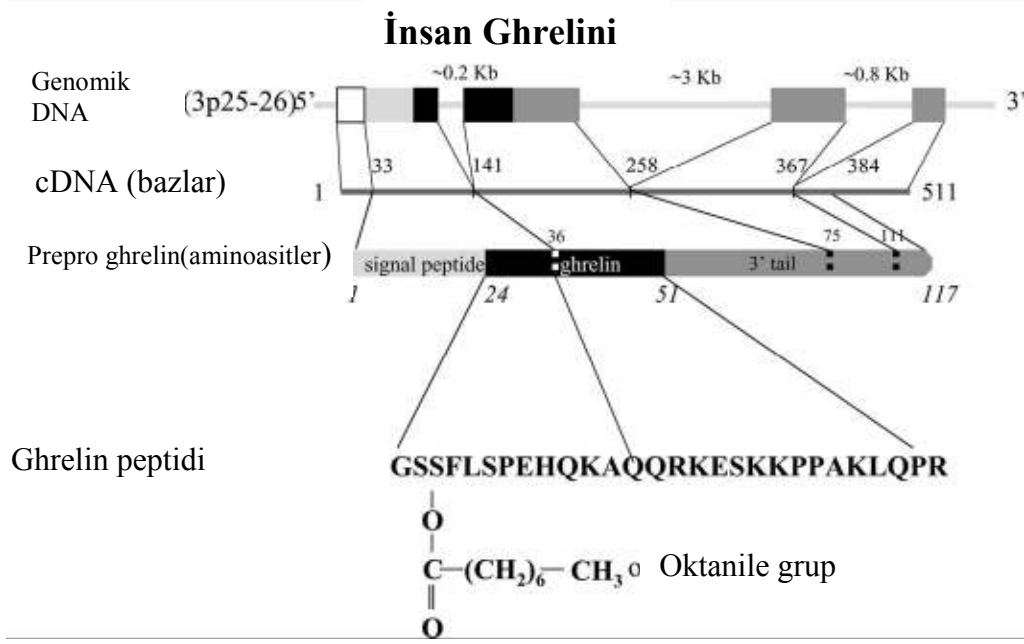
a)Des-oktanile Ghrelin: İn vivo olarak insanlarda ve ratlarda GH salınımını uyaramaz (18). Ghrelin'in aktivitesi için temel olan Serin aminoasiti oktanoik asite sahip olmadığı için GHS-R bulunduran hücreleri aktive etme yeteneği yoktur çünkü beyin dokusuna transmembran difüzyon ile geçer (18, 22).

b)Des-Glutamin14-Ghrelin: Bir glutamin aminoasiti eksikliği dışında (Gln14) ghrelin'e benzer. Bu izoform ratlarda GH salınımını ghrelin'inki ile aynı yolla uyarır (18).



Şekil 3. Alternatif kesimden kaynaklanan değişik Ghrelin türleri (18)

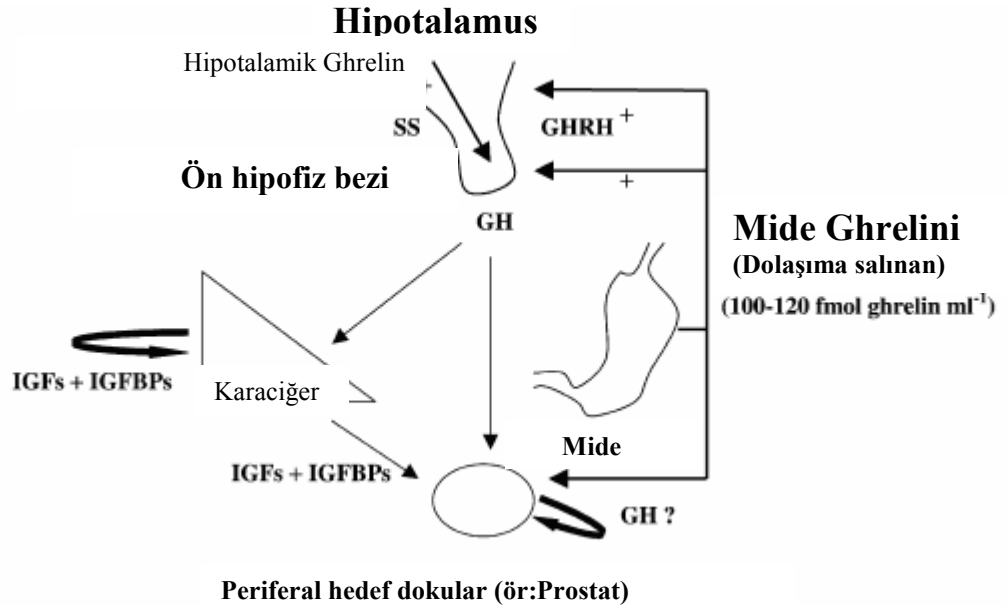
Ghrelin geni kromozom 3'te (3p25-26) lokalizedir (şekil 4). İnsan cDNA'sı, 117 aa uzunluğunda olan prepro-ghrelin kodlar. Prepro-ghrelin bir 23 aa.lık sinyal peptid ve 94 aa.lık pro-ghrelin içerir. Pro-ghrelin de 28 aa.lık olgun ghrelini ve bir 66 aa.lık kuyruk içerir (16). Ghrelin'in ilk 4. veya 5. parçası (Gly-Ser-Ser(n-oktanile)-Phe-Leu) in vitro kalsiyum mobilizasyonu için yeterlidir (23).



Şekil 4. İnsan Ghrelini'nin gen ve protein yapısı (18)

Ghrelin'in doku dağılımı:

Ghrelin'in en çok bulunduğu doku midedir. Mide fundusunda submukozal tabakada yer alan özelleşmiş enterokromaffin hücre tiplerinden sentez edilir ve salınır (24). Bu hücreler midedeki endokrin hücrelerin %20'sini oluşturur (18).



Şekil 5. GH/IGF aksının Ghrelin bağımlı GH salınımı ile ilişkisi (25). (IGF:İnsülin benzeri growth faktör, IGFBP:İnsülin benzeri growth faktör bağlayıcı proteinler, SS:Somatostatin, GH:Growth hormon, GHRH:Growth hormon salgılatıcı hormon)

Midede bulunan ghrelin hücreleri yuvarlak veya ovoiddirler. Lümenle temas halinde değildirler, kapillere yakın yerleşirler. Çoğu sindirim peptidlerinin aksine, ghrelin gastrointestinal sisteme (GIS) sınırlı değildir (Şekil 5). Salgılanan ghrelin lamina propriadaki zengin kapiller dolaşım ile kana karışıp endokrin etki gösterir. Alt GIS’de ise iki tip ghrelin hücresi vardır. Birinci tip hücrelerin midedekilere benzer şekilde lümenle ilişkisi yoktur ve kapalı hücreler olarak isimlendirilirler, diğer tip hücreler ise açık tip hücrelerdir ve lümenle ilişkileri vardır (18).

Total gastrektomi plazma ghrelin konsantrasyonunu %65 azaltır (25). Bu bulgu ghrelin’in çoğunlukla GIS’de, özellikle mideden sentez edilip salındığının bir göstergesidir. Ghrelin mRNA ekspresyonu normal insan dokularında değişen derecelerde görülür.

Ghrelin peptidinin hipofiz, immün hücreler (26) , akciğer, plasenta (26), overde, testis ve böbrekte eksprese olduğu belirlenmiştir (16). Bu nedenle enerji dengesinin sağlanması dışında önemli fizyolojik rollerinin de olabileceği düşünülmektedir. Hipofizde Ghrelin proteininin immünohistokimyal yöntemle boyandığı bölgeler prolaktin (PRL), GH, tiroid stimule eden hormon (TSH) salgılayan hücrelerle aynı, fakat adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve gonadotrop salgılayan hücrelerle farklı lokalizasyonda bulunduğunu göstermiştir. GHS-R ekspresyonu da başlıca hipotalamus ve hipofizde olmak üzere insan beyni, böbrek ve prostatı içeren birçok dokuda tanımlanmıştır (16)

Ghrelin’in fizyolojik etkileri

Ghrelin santral sinir sisteminde çok düşük düzeyde bulunur. Ghrelin salgılayan hücrelerin hipotalamik arkuat nükleustaki sınırlı bir alanda lokalize olduğu gösterilmiştir (16).

Ghrelin hipofiz hücrelerinden GH salınımını doz bağımlı olarak uyarır (16). İnsanlarda ghrelin’in intravenöz (iv) enjeksiyonunu takiben (12 nmol/kg) GH cevabının GHRH’unkine benzer seviyede olduğu, bununla birlikte en yüksek uyarıcı etkisinin GHRH’unkine kıyasla 2-3 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (25,26)

Anestezi verilmiş ratlara, iv ghrelin enjekte edildiğinde, yaklaşık 5-12. dakikada GH salınım pikleri gözlenir ve 1 saat sonra bazal seviyelere döner (Bazal seviye 12.0+/- 5.4 ng/ml iken, ghrelin enjeksiyonu sonrası 129.7+/-11.3 ng/ml) (25). Sağlıklı

insanlarda da 0,2 mg/kg dozunda intravenöz ghrelin enjeksiyonunun doza bağımlı olarak GH salınımını uyardığı tespit edilmiştir (27). Ghrelin'in intraserebrovasküler (icv) enjeksiyonu da ayrıca GH salınımını stimule eder (25). 10 pmol kadar ghrelinin icv verildiğinde bile GH salgılabilmesi, icv ghrelin enjeksiyonunun, iv enjeksiyondan çok daha güçlü olduğunu belirtir. Bu ölçümler ghrelin'in bir GH salgılatıcı peptid olduğunu doğrular. Ayrıca ghrelin ve GHRH'un birlikte verilmesi, GH salınımı üzerinde sinerjistik etkilidir (25). Sağlıklı erkeklerde yapılan bir çalışmada ise iv verilen ghrelin'in yüksek konsantrasyonlarda spesivitesinin kaybolduğu ve GH yanında ACTH, Kortizol, PRL seviyelerini de artırdığı gösterilmiştir (26).

Memelilerde ghrelin güçlü oreksijenik (iştah artırıcı) bir moleküldür ve bu etkiler GH salgılatıcı etkisinden bağımsızdır (28).

Ghrelin protein sentezini ve karbonhidrat kullanımını artırır, yağ kullanımını azaltır. Böylece enerji kazanılması ve depo edilmesi sağlanır. Sağlıklı insanlarda iv ghrelin uygulaması enerji alınımını % 24,1- % 31,9 oranında artırmaktadır (29).

Ayrıca ghrelin leptin'in doğal bir antagonisti olarak davranır. Plazma ghrelin düzeyi vücut kitle indeksi ile ters orantılıdır. Pozitif enerji dengesi durumunda down regülasyona, negatif enerji dengesi durumunda upregülasyona uğrar (30,31).

Farelerde de sürekli icv ghrelin uygulaması besin alımını artırmakta ve kilo alımına neden olmaktadır (32). Bu veriler ghrelin'in periferik oreksijenik ve adipojenik bir peptid olmasını doğrular .

Ghrelin kardiyovasküler sistem üzerinde de ciddi etkilere sahiptir. İntravenöz ghrelin enjeksiyonu ile kalp hızı değişmeden ortalama arter basıncı belirgin olarak azalmakta ve kardiyak output artmaktadır (33). Üç haftalık düzenli Ghrelin uygulaması ile sol ventrikül disfonksiyonu iyileşmekte ve plazma GH ve IGF-1 seviyesi artmaktadır. Kronik kalp yetmezlikli farelerde yapılan çalışma ile kardiyak remodeling ve kardiyak kaşeksiyi yavaşlattığı gösterilmiştir (34). Ghrelin'in etkileri tablo 1'de gösterilmiştir (Tablo 1).

Ghrelin salınımının düzenlenmesi:

Plazma ghrelin konsantrasyonu beslenme sırasında artar, besin alımı sonrası azalır (26). Ghrelin sekresyonunun düzenlenmesinde hangi faktörlerin yer aldığı açık değildir. Fakat kan glukoz seviyesinin önemli olabileceği bildirilmiştir. Glukozun oral veya iv verilmesi plazma ghrelin konsantrasyonunu azaltır. Su alımı veya tek başına gastrik dilatasyon ghrelin seviyesini etkilemez. Plazma ghrelin konsantrasyonu yağlı yemek sonrası azalır ve düşük proteinli yemek ile artar. Obes kişilerde düşük, zayıf kişilerde yüksek seviyede bulunur. Anorexia nervosa'da ve bulimia nervosa'da oldukça yüksek seyrederken hastalığın iyileşmesi ile normale döndüğü gösterilmiştir (25).

Tablo 1. Ghrelin ve GHS'larının etkileri*

-
- GH salınımını artırır
 - ACTH ve Kortizol salınımını artırır
 - PRL salınımını artırır
 - İştahı artırır
 - Karbonhidrat metabolizmasını artırır
 - Gastrik motiliteyi artırır
 - Uykuyu artırır
 - Kalpte inotropik etkiyi artırır
 - Vazodilatasyonu artırır
 - Hücre proliferasyonunu artırır
 - Isı regülasyonunu artırır
 - Kemikte kalsitropik etkisi vardır**
 - İmmün sistem modülatörüdür***

*GHS:Growth hormon secretagog (salgılatıcı)

* *Direk etkisi ve GH aracılığı ile pozitif etkisi vardır(35), ***(36) .

Kanserde GH aksı:

GH aksı normal büyüme ve doku farklılaşmasını düzenler. GH aks hormonlarının ve peptidlerinin direk veya indirek (doku mediatörü IGF-1 yoluyla) olarak neoplastik doku büyümesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. IGF'ler kanser hücreleri için güçlü mitojenlerdir ve kısmen hücre siklusunu hızlandırarak ve apoptozisi baskılayarak etki gösterirler. Yapılan çalışmalarda GH ve IGF aksı ve malignansi insidansı arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır (37). Hormon bağımlı tümör hücre ve dokularında (özellikle meme, endometrium ve prostat kanseri) GH/IGF-1 aksının otokrin ve parakrin rolleri incelenmiş, premenapozal kadında meme kanseri (38) ve erkekte prostat kanseri gelişmesi (26) ile dolaşan IGF-1 seviyeleri arasında güçlü bir ilişki ortaya konmuştur. GH, mRNA ve protein seviyesinde prostatik kanser hücrelerinde eksprese olur (26). GH reseptör proteini insan prostat tümör asinusunun epitel hücrelerinde gösterilmiştir (39).

GHRH geninin çeşitli dokularda ekspresyonu, somatotrop hipofiz tümörlerinin (adenoma) agresif davranışı ile ilişkilendirilmiştir (40). Akromegalili hastalarda başta meme ve kolon olmak üzere malignite insidansında önemli artışlar tespit edilmiştir (41,42). Akromegalili hastalarda görülen KRK'ler genel popülasyonda görülene göre daha agresif ve metastatik fenotipte görülmektedir (43).

Kanserde Ghrelin ve GHS-R:

Günümüzde Ghrelin/GHS-R aksının kanserdeki rolünü destekleyen birçok çalışma vardır. GHS-R 1a ve 1b izoformlarının somatotrop, mammosomatotrop, laktotrop ve kortikotrop adenomlarda birlikte eksprese edildiği gösterilmiş (44). Ghrelin normal ve adenomatöz hipofiz dokusunda mRNA ve protein seviyesinde eksprese olması ghrelinin hem normal hem kanserli hipofiz bezinde GH salınımında modülatör role sahip olabileceğini gösterir. İnsan hipofiz adenomunda ghrelin ve GHS-R'ün birlikte ekspresyonu, bu adenomlarda üretilen Ghrelin'in GHS-R gelişimine katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. GHS-R mRNA ekspresyonunun bazı somatotrop tümörlerde normal dokudan 200 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu bulgu GHS-R'ün tümörögenizde bir başlatıcı faktör olabileceğini düşündürmektedir (26).

GHS-R mRNA ekspresyonu ektopik ACTH salgılayan timik, pankreatik ve bronşial karsinoid örneklerinde saptanmıştır (26). Ghrelin ve GHS-R ayrıca hipofiz adenomları, nöroendokrin tümörler, tiroid ve meduller tiroid kanserleri, pankreasın ve akciğerin endokrin tümörleri, meme, gastrointestinal sistem (GIS), prostat, serviks, over tümörlerinde de saptanmıştır (18). Ghrelinin hem RNA hem protein seviyesinde gastrik ve intestinal karsinoid dokularında bulunduğu tespit edilmiştir (45). Ayrıca IHC yöntemle duodenum, gastrik, ince barsak ve rektal tümörlerde araştırılmış ve bu dokularda da protein ekspresyonu saptanmıştır (46). Ghrelin gastrik ve özefagus epitelinde de bakılmış ve IHC yöntemle eksprese olduğu bulunmuştur (47).

POLİP KANSER İLİŞKİSİ

Gastrointestinal polipler barsak lümenine doğru büyüyen, anormal hücre proliferasyonu sonucu oluşmuş kitle lezyonlarıdır. Saplı, sapsız olmalarına, büyüklüklerine, gastrointestinal kanaldaki sayılarına göre karakterize edilirler. Genellikle asemptomatiktir fakat daha az sıklıkla kanama, karın ağrısı veya nadiren obstrüksiyon bulgularına sebep olabilirler. Çoğu benign olmasına karşın poliplerle ilgili en büyük sorun malignleşme potansiyelleridir. Kolon kanserlerinin büyük kısmının, daha önceden benign olan adenomatöz polip zemininden geliştiği bilinmektedir.

Kolon polipleri neoplastik ve non-neoplastik olmak üzere iki major grupta incelenirler (Tablo2).

Tablo 2. Kolorektal poliplerin sınıflaması

<u>Neoplastik</u>	<u>Non-neoplastik</u>	<u>Submukozal Lezyonlar*</u>
<u>Mukozal Polipler</u>	<u>mukozal Polipler</u>	-Kolitis sistika profunda
1. Benign(adenoma)	-Hiperplastik	-Pnömatosis sistoides
-Serrated(çentikli) adenom	-Mukozal polipler (polipoid	intestinalis
-Tübüler adenom	görünümde normal mukoza)	-Lenfoid polip
-Tübülovillöz adenom	-Juvenil	-Lipoma
-Villöz adenom	-Peutz-Jeghers	-Karsinoid
2. Malign(karsinoma)	-İnflamatuvar	-Metastatik neoplazmlar
• Noninvaziv		-Diğer lezyonlar
- Karsinoma in situ		
- İntramukozal		
• İnvaziv		

*Submukozal lezyonlar aslında polip olmasalar da üstlerindeki mukozaya polipoid görünüm kazandırdıkları için tabloda yer almaktadırlar.

Neoplastik mukozal polipler

Adenomatöz polipler epitel dokunun benign tümörleridir. Pedinkül (saplı) veya sesil (sapsız) olabilirler. Hücre proliferasyonu ve hücre ölümü (apoptozis) yolakları seyirinde normal işleyişin bozulması sonucu oluşurlar. Adenomatöz poliplerin malignite potansiyeli, poliplerin histolojik tipi, büyüklüğü, displazi derecesi ile koreledir (Tablo 3). Bu üç kriter birbirinden bağımsızdır. Adenomlar büyüklüklerine göre üç grupta incelenirler:

- 1) <1cm,
- 2) 1-2cm
- 3) >2cm

Otopsi serilerinde adenomların yalnızca %13-16'sının 1cm'den büyük olduğu bulunmuştur. Semptomatik ve/veya yüksek kanser riskli hastalara yapılan cerrahi ve kolonoskopik işlemler sonucunda bu oran %26-40 olarak bildirilmiştir (48).

Adenomların neoplastik özelliği bez yapısının histolojik değerlendirmesi ile ortaya çıkar. Histolojik olarak predominant olan bez yapısı temel alınarak tübüler, tübülovillöz, villöz olarak sınıflandırılırlar. Tübüler adenomda bezlerin en az % 80'i dallanarak tübüler ağ oluşturur, en sık rastlanan subgruptur (%80-86), genelde küçüktürler ve hafif displazi içerirler. Villöz tipte ise bezlerin en az %80'i parmak şeklinde çıkıntılar gösteren villöz yapıdadır. Genellikle daha büyük adenomlarda görülür ve ağır displazi ile ilişkilidir. Tübülovillöz adenomlar her iki tipin karışımıdır (48).

Adenomlar ve karsinomlarda hücrel displazi ortak bulgudur. Adenomlar histolojik ve yapısal bulgularına göre hafif, orta, şiddetli olarak üç kategoride değerlendirilir. Son zamanlarda kolorektal adenomlardaki displazi sıklıkla daha pratik olarak low-grade ve high-grade olarak sınıflanır. Low grade displazi, hafif ve orta şiddette displaziye, high grade displazi ise şiddetli displazi ve karsinoma in situyu kapsar. Boyutları daha büyük olan, villöz yapılanması daha fazla olan adenomlarda şiddetli displazi görülme sıklığı daha yüksektir. Ayrıca şiddetli displazi olan adenomlarda invaziv kansere ait odaklar daha çok bulunur. Histolojik tipin adenom büyüklüğü ve displazi derecesi ile ilişkisi tablo 3'de gösterilmiştir (48)

Tablo 3. Nispi adenom frekansı: Histolojik tipin adenom büyüklüğü ve displazi derecesi ile ilişkisi

Adenom Tipi	Adenom Büyüklüğü %			Displazi Derecesi %		
	<1cm	1-2cm	>2cm	Hafif	Orta	Ağır
Tübüler	77	20	4	88	8	4
Tübülovillöz	25	47	29	58	26	16
Villöz	14	26	60	41	38	21

Adenom prevalansı düşük olan ülkelerde bile adenom büyüklüğü yaş ile artar. Ayrıca büyük adenomlar distal kolonda daha sık görülürler (48). Çoğu adenom splenik fleksuranın distalinde ortaya çıktığı halde yaklaşık %40'ı proksimal kolonda saptanır (49).

Kolonda adenom prevalansı, kolon kanser prevalansına paraleldir. Büyük boyuttaki adenomlar ile kolon kanserlerinin lokalizasyonları da benzerdir. Adenomatöz polip prevalansı 4 majör faktöre bağlıdır:

1-Topluluktaki kolon kanser kalıtım prevalansı

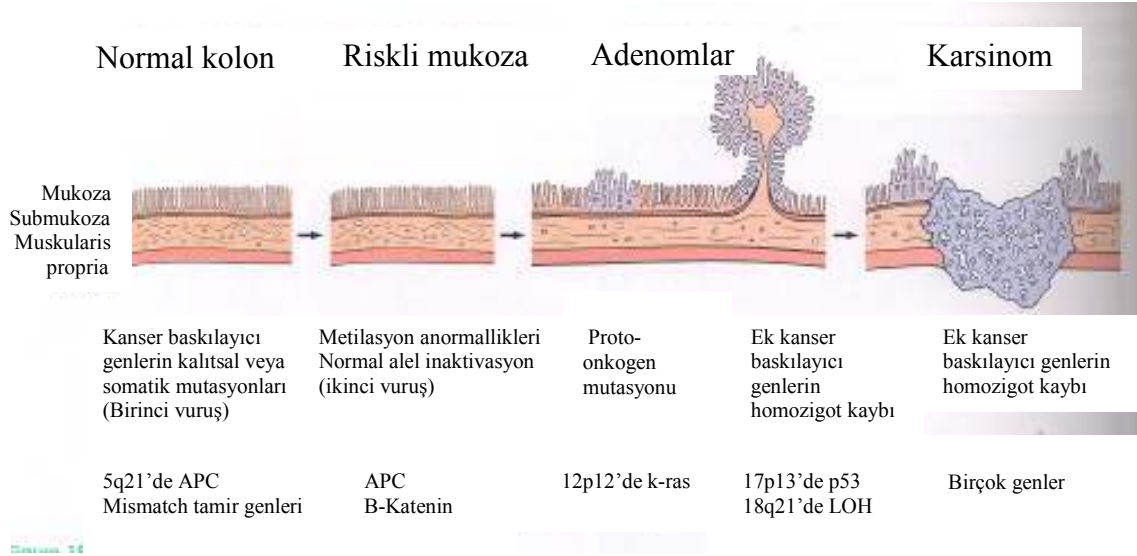
2-Yaş

3-Cinsiyet

4-Kolon kanseri aile hikayesi

Düşük riskli populasyonlardaki adenom prevalansı %12'den düşüktür. Orta riskli topluluklarda ise bu oran %50-60'a kadar çıkabilir. 40-49 yaş arası asemptomatik bireylerin kolonoskopik taramasında %8.7 tübüler adenom, %3.5 AAP (adenoma with advanced pathology) ve kanser saptanmıştır. Kolonoskopik taramalarda aynı yaşta kadınlar ile karşılaştırıldığında erkeklerin 1.5 kat daha yüksek adenom riski taşıdığı ortaya konmuştur. Akromegalisi olan, üreterosigmoidoskopi yapılmış olan ve streptokokkus bovis bakteremisi olan hastalar adenomatöz polip gelişimine daha yatkındırlar. Serum kolesterol düzeyleri, skin tag bulunması, meme kanseri bulunması ve kolesistektomi yapılması ile adenomatöz polip oluşması arasında bir ilişki bulunamamıştır (48).

Adenomlar kolon kanser prekürsörü oldukları için polipektomi ile çıkarılırlar ve bu işlem ile kolon kanseri insidansında belirgin azalma saptandığı bildirilmiştir (49). Kolonoskopi ile saptanan küçük (<1cm) ve tübüler adenom yapısındaki poliplerde kanser insidansında artış olmadığı kabul edilir. Büyük ve villöz yapılar içeren adenomlarda kanser riski artar (48).



Şekil 6. Erken-intermediate-Geç adenom-Karsinoma 'ya dönüşüm (48).

(APC: Adenomatosis poliposis koli, LOH:Loss of heterozygosity (heterozigotluğun kaybı))

ADENOM KARSİNOM DÖNÜŞÜMÜ

Adenom-karsinom dönüşümü olarak adlandırılan tümörögenезin genellikle çok basamaklı bir süreç olduğuna inanılmakla birlikte, tümör başlangıcı (adenom oluşumu); tümör progresyonu (adenomdan karsinoma ilerleyiş) olmak üzere iki kısımda incelenir (Şekil 6). Adenomdan karsinomaya progresyon bir kısım moleküler genetik değişimlerin birikimi sonucunda olur (50).

Bu moleküler değişimler 3 sınıfta incelenebilir:

1-Onkogenlerin aktivasyonu

2-Tümör supresör genlerin inaktivasyonu

3-DNA mismatch tamirinde rol alan stabilite (kararlı durum) genlerinde anormallik (48)

Onkogenler çoğunlukla proto-onkogen adını verdiğimiz normal hücresel genlerin mutant alelleri olmakla birlikte, telomerazları kodlayan veya apoptozisi bloke eden genler de olabilirler. Proliferasyonu uyurma, tümörün kanlanması artırma ve

apoptozisi engelleme gibi mekanizmalarla malign transformasyonu gerçekleştirmektedirler ve proto-onkogenin sadece bir alelinde mutasyon olması hücrenin fonksiyon kaybı için yeterlidir (50).

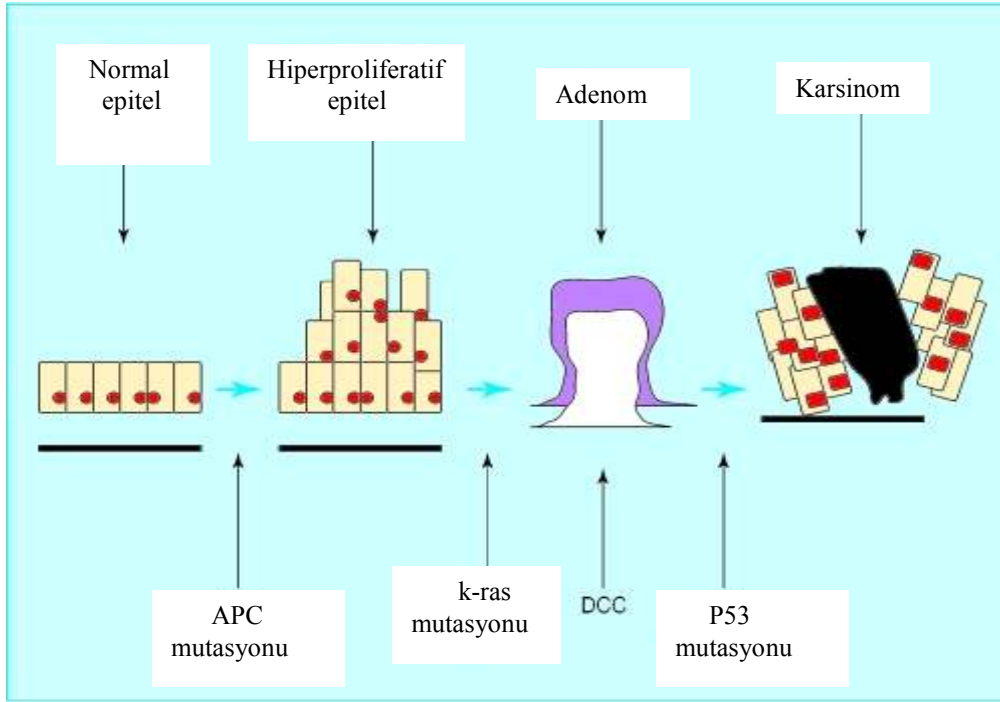
Normal hücre siklusunda tümör supresör genler onkogenleri dengeler. Tümör supresör genler hücre büyümesini düzenleyerek tümör gelişimini engelleyen genlerdir. Genin her iki alelinde kayıp veya hasar olduğu zaman, tümör supresör gen işlev göremez ve hücre büyümesi kontrol edilemez (51). Tümör supresör genler tablo 4'te gösterilmiştir.

Hücre bölünmesi sırasında spontan ya da çevresel etkilerle birçok DNA hasarı oluşur. Çoğu replikasyon hataları da DNA polimerazın 3', 5' ekzonükleaz aktivitesi ile hemen düzeltilir. Bu onarımdan kaçan hatalar ise mismatch repair (MMR) (DNA tamir genleri) denilen bir sistem yolu ile onarılır. DNA tamir genleri, ışın ve mutajenik kimyasalların sebep olduğu DNA hasarının tamirinden ve hücrenin genomik yapısının kontrolünden sorumludur. Bu genlerin disfonksiyonu hücrede mutasyonların birikmesine neden olur (50). Herediter non polipozis kolorektal kanser (HNPCK) ailelerinde MMR' ye ait olan gen mutasyonları %80, sporadik kanserlerde %12-15 oranında saptanmıştır.

Sporadik ve kalıtsal kolon neoplazmlarında bir takım moleküler genetik değişimler saptanmıştır. Bu genetik değişimler belirgin iki yolu içerir (50):

1)Çoğu kolon kanserinde birinci yoldaki genetik değişimler olarak 5q kromozomu üzerindeki APC geni delesyonu, K-ras protoonkogeninin nokta mutasyonu, DCC (deleted in kolon kanser geni) kaybı ve 17 q kromozomu üzerindeki p53 geninin kaybı bulunmaktadır (Şekil 7) (52).

2)DNA replikasyon hataları (hipermetilasyon gibi), mikrosatellite instabilite, somatik mutasyonlardan olan mismatch tamir genlerindeki mutasyonlar ise ikinci yolda yer alır (Şekil 8).



Şekil 7. Genetik alterasyonların birikimi (48). (APC:Adenomatozis polipozis koli, DCC:Deleted in kolon kanser geni)

Sporadik KRK'in büyük bölümünde APC mutasyonları bulunur. Tümörögenizde mutasyonların başlaması çoğunlukla APC tümör supresör gen lokusunda (5q21-22) gerçekleşir. Adenomların %10'u, şiddetli displazi gösteren adenomların %50'si bu değişikliği içerir (49). Tümör oluşabilmesi için APC tümör supresör geninin iki alel kopyasının da inaktive olması gerekir ve bu inaktivasyon Knudsen'in çift vuruş teorisi olarak bilinir. Adenomadaki düzensiz çoğalma sürecinde önce çoğalan hücreler kript yüzeyine taşınır. Bölünme arttıkça kontrolsüz çoğalan hücreler kript derinlerine de girer. Histopatolojik seviyede en erken saptanabilen tümör, aberran kript odağı olabilir. K-ras geni kolon kanser patogenezinde rol alan bir proto-onkogendir (50). Onikinci kromozomun kısa kolunda yerleşir. Sitoplazma zarının içinden efektör moleküllere sinyal iletimini sağlayan intrinsek GTP-az aktivitesine sahip bir protein kodlar. Hücre büyümesini ve bölünmesini uyarı ile K-ras geni GTP'ye bağlanır ve aktif hale geçerek uyarıyı hücre içi ileti yollarına aktararak hücre büyüme ve bölünmesinde fizyolojik rol oynar. K-ras mutasyonu ile GTP-az aktivitesi ortadan kalkar ve hücre proliferasyonu

düzensizleşir(53). Kanserlerin %40'ında K-Ras'ı inaktive eden mutasyonlar bulunur (49). KRK gelişiminden sorumlu genler arasında yer alan p53 geninin inaktivasyonu ise KRK'in %49-70'inde oluşmaktadır (8).

Tablo 4.Tümör supresör genler

Gen	Lokusu	Hüresel yeri	Hareketi	Organ veya doku orjinleri veya tümör
RB (retinoblastoma)	13q14	nükleus	Hücre siklusunu ve gen aktivitesini düzenler	Göz,kemik,meme,özefagus, prostat,mesane,böbrek,serviks
P53	17p13.1	nükleus	Hücre siklusunu ve gen aktivitesini düzenler	Meme,kolon,mesane,over, beyin,testis,yumuşak doku, mesane,böbrek,deri,kan, akciğer,pankreas,mide, özefagus,karaciğer,prostat
DCC(deleted in kolon kanser) geni	18q21.3	Hücre membranı	Hücre adezyonu ve sinyal transdüksiyonu	Kolon,mide,ağız,özefagus, uterin,kan,testis,prostat, pankreas
APC(adenomatozis polipozis koli) geni	5q21	sitozol	Mikrotübül yönetimi	Kolon,akciğer,mide,özefagus, ağız,meme,over,prostat
MCC(mutated in colorectal cancer) geni	5q21	sitozol	bilinmiyor	Kolon,akciğer,mide,meme, özefagus,over,prostat
WT-1(wilms tümör) geni	11q13	nükleus	Gen aktivitesini düzenler	Böbrek,mesane,göz, yumuşak doku,akciğer,over
NF-1 (nörofibratozis) geni	17q11	CM-ilişkili	P21(ras) sinyal yolunu düzenler	Sinir,kemik,deri
NF-2	22q12	CM-ilişkili	bilinmiyor	Sinir,kolon,meme,deri
VHL(Von hippel-lindau)	3p25	CM-ilişkili	bilinmiyor	SSS,göz,meme,akciğer, böbrek,over,deri,yumuşak doku
MST-1(multiple tumor supressor 1) geni	9p21-22	nükleus	CDK inhibe eder ve hücre siklusunu düzenler	Deri,özefagus,pankreas,burun akciğer, mesane, böbrek, beyin, kan, yumuşak doku
BRCA-1(breast cancer 1)geni	17q21	nükleus	Transkripsiyon Faktörü	Meme,yumurtalık,prostat

SSS:santral sinir sistemi,CDK:cyclin-dependent kinaz,CM:sitozol membran (54)

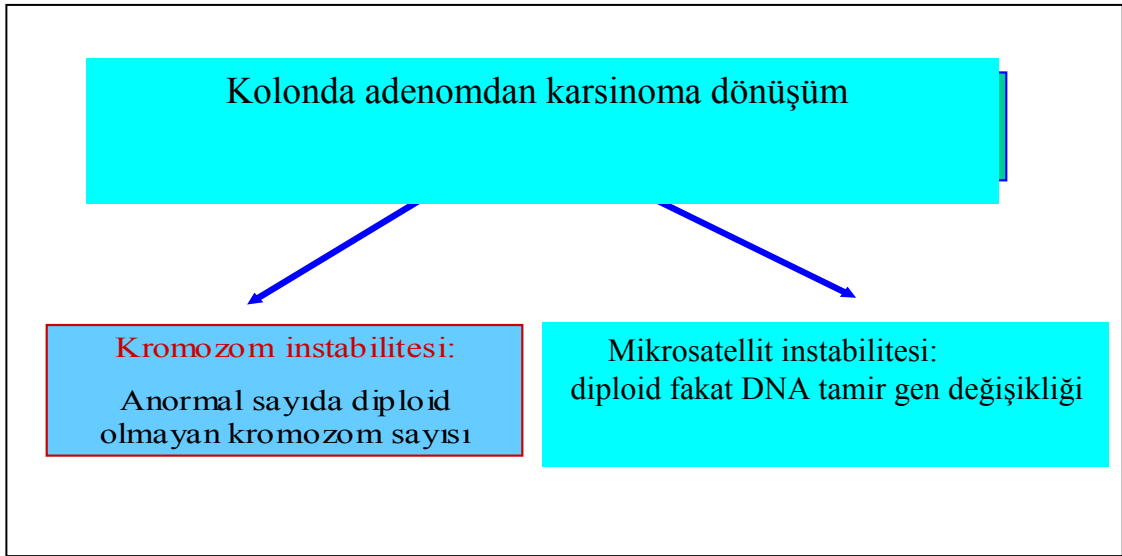
P53 geni bir transkripsiyon aktivitörüdür. Aktive ettiği genlerin çoğu hücre büyümesini inhibe eder ve P53'ün kaybı olduğunda tümörler kontrolsüz çoğalırlar.

APC, K-Ras, p53 yolağı kolon kanseriyle sonuçlanan bir çeşit induksiyon yolağıdır (Şekil 7).

Bu yolakta birbiri üzerine eklenen mutasyonlar sonucu polipler malign fenotip kazanırlar ve bu olay genom instabilitesi (kararsızlığı) olarak bilinir (49). İki bileşeni olduğu ileri sürülmüştür (Şekil 8):

1)Kromozomal instabilite: KRK'in %75-80'inde bulunur ve anöploidi, kromozomal materyalin kazanımı ve kaybı, translokasyonlar ile karakterizedir.

2)Mikrozomal instabilite: Bazı kanserler polipoid displastik aşamayı yaşamadan doğrudan kansere dönüşürler. Mikrosatellite instabilite KRK'in %20-25'inde, adenomların %15'inde bulunur (55) Mikrozomal instabilite tekrarlayan DNA sekanslarındaki büyük değişimler ile karakterizedir ve DNA mismatch onarımında defekte neden olur (56).



Şekil 8. Adenomdan karsinoma dönüşümün etyolojisi (49)

KRK'lerde DNA metilasyonunda, özellikle genlerin promoter bölgelerinde hipermetilasyon gibi anormallikler olması genom instabilitesi ile ilişkilendirilebilir. Bu bazı tümör supresör genlerin inaktivasyonu için major mekanizmadır. Adenomların gelişiminde DPC4 ve DCC mutasyonları ise geç dönemde saptanırlar. DCC geni (18q) hücre-hücre adezyonunu ve hücre matriks ilişkisini düzenler. DCC

kaybının APC ve K-ras mutasyonundan sonra oluştuğu düşünülmektedir. DCC mutasyonlarının saptanması kötü prognoz işaretidir. Karaciğer metastazı olan hastaların çoğunda DCC kaybı olması ise DCC'nin, aynı zamanda bir metastaz süpresör gen olarak tanımlanmasına yol açmaktadır (49).

KOLOREKTAL KANSER

KRK'ler kanserle ilgili morbidite ve mortalitenin önemli sebebidir. Tüm kanserlerin yaklaşık olarak %12'sini oluşturur. Yeni tanı konulan kanserler içinde prostat, meme ve akciğer (AC) kanserinden sonra 4. sırada gözlenir. KRK erkekte 4. (%0,166) ve kadında 3. en sık (%0,147) görülen kanserdir. 2006 ABD verilerine göre kanserler içinde AC kanserinden sonra 2. ölüm sebebidir. Gelişmiş ülkelerde (ABD, Avusturalya, Yeni Zelanda) sık, gelişmekte olan ülkelerde daha az oranda görülür. KRK gelişimini çok sayıda demografik faktör etkiler (Tablo 5) (48). Bunlar içinde diet ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Batı tipi beslenme ile kanser riski artar. Yüksek kalorili dietler ve aşırı et tüketimi, özellikle hayvansal yağ içeren dietlerin kanserdeki rolü birçok çalışmada vurgulanmıştır (49). Beslenme-kolon kanseri gelişme riski ile ilgili muhtemel mekanizmalar, hemolitik aminlerin ve reaktif oksijen radikallerinin üretimi, artmış insülin seviyeleridir (49). Diğer çevresel faktörler içinde ise yaş, adenom/ karsinom anamnezi, predispozan hastalıklar (Ülseratif kolit, Crohn hastalığı) ve aile hikayesinde polipozis sendromları veya kolon kanseri bulunması yer alır.

Erken tanı konduğu zaman KRK'de beş yıllık beklenen yaşam süresi %90, geç evre tümörlerde ise %10'dur (48). Farklı popülasyonların karşılaştırıldığı çalışmalarda bol miktarda meyve, sebze ve bir takım vitaminler ile beslenen toplumlarda KRK riskinin düşük olduğu bulunmuştur. Lifli besinler intestinal transit zamanını kısaltır, diyetteki veya lümeninde oluşabilecek karsinojenleri emer. Barsak mikroflorasını düzenleyerek, lümendeki kısa zincirli yağ asitlerini arttırıp kolon pH'sını düşürerek kolonda koruyucu etki gösterdikleri bilinmektedir. Yağ ve kırmızı etten yoğun diyetle beslenenlerde, yağ, bakterilerle yıkılır, endojen safra asitleri ve nötral steroidler serbest kalır.

Bu maddelerin kolorektal karsinogenezisi uyardığı düşünölmektedir. Günlük 2 gram kalsiyumun ise kolonda hücre proliferasyonunu azalttığı ve karsinojenik etki yapabilen safra ve yağ asitlerini bağladığı bilinmektedir.

Vaka kontrol ve kohort çalışmalarında aspirin ve diğör non-steroid anti-inflamatuar ilaçların (NSAİİ), apoptozisi indükleyip, araşidonik asit miktarını arttırarak kolorektal kanser mortalitesini %40-50 azalttıkları saptanmıştır (48). KRK'li hastalarda siklooksijenaz-2 (COX-2) enziminin ekspresyonu artmıştır ve COX-2 inhibitörleri kolon kanserlerinde koruyucu etki göstermektedir. Ayrıca NSAİİ, COX-2 inhibitörlerinin özellikle FAP (Famıyal adenomatozis polipozis) hastalarında polip gelişimini önlediğı ispatlanmıştır (48). Tablo 5'de bu faktörlerin KRK ile ilişkisi özetlenmektedir. KRK'lerin büyük çoğunluğu bir adenom zemininde gelişir, az bir kısmı doğrudan epitelden kanser olarak başlar.

Bütün faktörler içinde yaş en güçlü risk faktörüdür ve KRK'ler predominant olarak geç orta yaş ve yaşlı bireylerin hastalığıdır. 50 yaştan sonra kanser insidansı belirgin olarak artar. 40 yaşından önce ise yalnızca %2 oranında ortaya çıkarlar (49).

Adenomun büyüklüğü, histolojik olarak villöz yapıların olması ve high grade displazi bulunması malign potansiyeli ile ilgili bağımsız kriterlerdir. Bu kriterleri içeren adenomlarda invaziv kanser odaklarına daha sık rastlanır. Kolorektal polipler ise çoğunlukla asemptomatiktirler. Elli yaşından büyük semptomsuz bireylerde adenom frekansı yaklaşık %29'dur. Bir polibin KRK'e ilerlemesi en az 5 yıl ve çoğunlukla da 10 yıldan daha uzun süre aldığı için polip saptandığı zaman çıkarılmalıdır. Polipektomi sonrasında nüks oranı yaklaşık %20 olup adenom büyükse ve villöz yapılar içeriyorsa bu oran anlamlı olarak arttığı için çıkarıldıktan 3-6 ay sonra kolonoskopi işlemleri tekrarlanmalı ve hastalar KRK gelişim riskleri nedeniyle belli aralıklarla takip edilmelidirler (48).

Tablo 5. Kolorektal karsinogenezi potansiyel etkileyen faktörler*

RİSK FAKTÖRLERİ	KORUYUCU FAKTÖRLER
<p>A) Yüksek ihtimalli risk faktörleri:</p> <ul style="list-style-type: none">• Yüksek oranda yağ ve düşük lifli diyet• Kırmızı et tüketimi• Yaş	<p>C)Yüksek ihtimalli koruyucu faktörler</p> <ul style="list-style-type: none">• Bol lifli diyet• Fiziksel aktivite• Vücut kitle indeksi düşüklüğü• Aspirin ve diğer NSAİI**• Kalsiyum• Hormon replasman tedavisi (östrojen)
<p>B)Muhtemel risk faktörleri</p> <ul style="list-style-type: none">• Bira tüketimi (özellikle rektumca için)• Diyetle selenyum azlığı• Çevresel karsinojenler ve mutajenler, heterosiklik aminler	<p>D)Muhtemel koruyucu faktörler</p> <ul style="list-style-type: none">• Sebze, karotenden zengin yiyecekler• C,E ve D vitamini• Siklooksijenaz-2 inhibitörleri

*Epidemiyolojik gözlemlere dayalı bilgilerdir

** NSAİİ: non-steroidal anti inflamatuvar ilaç

P53

1970'lerin sonlarında keşfedilen tümör supresör geni p53 (TP53) 17. kromozomun kısa kolu üzerinde 17p13 bölgesinde yerleşmiştir (9). İnsan kanserlerinde en sık (%50-60) mutasyona uğrayan genidir (57-59). Sporadik KKK'lerin ise yaklaşık %80-90'ında p53 mutasyonu saptanır (60). Hücre proliferasyonu ve programlı hücre ölüm mekanizmaları arasındaki dinamik denge, tümör biyolojisini en doğru şekilde anlamamızı sağlar. Kanser patogenezinde p53'ün etkinliği kesinlik

kazanmamıştır. Hücre siklusunun kontrolünde, programlı hücre ölümünde, DNA sentezi ve tamirinde rol oynadığı düşünülmektedir (61-63). P53 istirahatteki hücrelerde tespit edilemeyecek kadar düşük düzeydedir (64). Fakat transforme hücrelerde ve aktif olarak proliferasyon yapan hücrelerde saptanabilmektedir. Normal p53 geni (wild tip), genetik hasar taşıyan hücrelerin çoğalmasını önleyen nükleer bir fosfoproteini kodlar. Bu protein normal hücrelerin çekirdeklerinde bulunan 393 aminoasitlik, 4-5 fonksiyonel kısım içeren intraselüler yoğunluğu düşük bir fosfoproteindir. Fizyolojik koşullarda P53 proteininin 6-20 dakika gibi kısa bir yarı ömrü vardır, immünohistokimya boyama ile saptanamaz ve normal hücre bölünmesinde rolü yoktur. Fakat özellikle DNA hasarı sonrası hücre seviyeleri çok çabuk yükselir. DNA üzerinde kendisini tanıyan sekanslara bağlanır, hücre siklusu ve apoptozisi düzenlemede önemli rol oynar (63,65). S fazına giriş öncesi normal P53'ün uyarısı ile G1 (proliferatif büyüme fazı) kontrol noktasında hücre siklusu frenlenir (66,67). Hücre DNA tamirine gider, eğer tamir mümkün değilse hücre apoptozis ile ortadan kaldırılır (63). Bu şekilde wild tip P53 genetik hasara uğramış hücrelerin proliferasyonunu engelleyerek malign klonların oluşmasını önler (60).

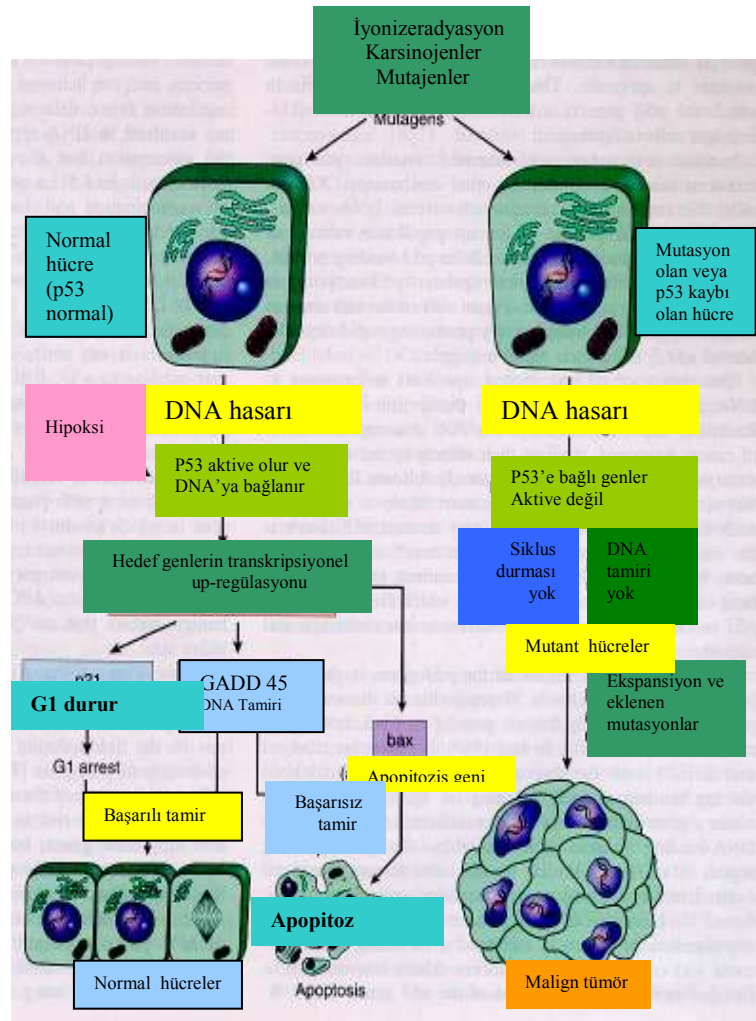
P53 genindeki fonksiyon kaybı nokta mutasyonu, delesyon, viral veya hücre onkogenler aracılığıyla olabilir. Nokta mutasyonları içinde en sık missense mutasyonlarına rastlanır. Sonuçta P53 proteinin konformasyonu değişir ve kararlılığı artar, hücre çekirdeğinde birikir ve yarı ömrü 3-6 saate kadar uzar (68). Bu nedenle normal P53'ten farklı olarak, oluşan mutant P53 immünohistokimyasal yöntemle saptanabilir. Normal p53, DNA'da spesifik bölgelere bağlanarak bir transkripsiyon faktörü olarak etki eder ve hücre siklusunu durdururken mutant p53 DNA'ya bağlanamaz ve DNA hasarını takiben hücre siklusunu G1 fazında durduramaz. Benzer şekilde, delesyon olduğunda P53 ekspresyonunda ve oluşan proteinin fonksiyonunda azalma, kayıp olur ve hücre çoğalmasının kontrolü bozulur (69-71).

Çoğalan hücrelerin çekirdeklerinde mutant P53'ün immünohistokimyasal boyaması, kansere cevabın bir prediktörü olabilir. Bu antijenlerin varlığı P53'ün tespiti ile birleştirildiğinde hücre proliferasyonu hakkında önemli ek bilgiler sağlar. Yapılan bir çalışmada P53 mutasyonu ve immünohistokimya ile gösterilen p53 proteininin birikimi arasındaki korelasyon %67 olarak bildirilmiştir (9). Kolon, meme, mesane,

beyin, akciğer, uterus gibi pek çok organa ait tümörde p53 geninde mutasyon bildirilmiştir (9,10,59,72,73). Meme, kolorektal, gastrik, endometrial karsinomlar, lenfomalar, lösemiler gibi kanser türlerinde p53'ün aşırı ekspresyonunun prognostik önemi olduğu gösterilmiştir (9-12).

İnsan tümörlerinde P53:

- 1) Moleküler analiz (Genetik olarak p53 ekspresyonunun tespitine dayanır)
- 2) İmmünohistokimyasal analiz (Tümöral dokularda p53 tespitine dayanır)
- 3) Serolojik analiz (Kanda p53 proteininin tespitine dayanır) ile tespit edilir. En güvenilir yöntem moleküler analizdir.



Şekil 9. P53'ün tümör patogeneziindeki rolü (54)

HASTALAR VE YÖNTEM

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Gevher Nesibe Hastanesi'ne başvuran hastalarda yapılan kesitsel bir çalışmadır. Erciyes Üniversitesi Etik Kurul onayı alındıktan sonra (etik kurul karar numarası: 05/391) 26.10.2005 –28.06.07 tarihleri arasında gastroenteroloji bölümü ve patoloji bölümü işbirliği ile gerçekleştirilmiştir.

HASTALAR

Çalışma grubu Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Gevher Nesibe Hastanesi Gastroenteroloji Bölümü'nde değerlendirilerek rektoskopi ya da kolonoskopi endikasyonu koyulan hastalardan oluşturuldu. Endoskopik işlem yapılmadan önce hastalar çalışma hakkında bilgilendirilerek yazılı onam formu alındı.

Endoskopik işlem sırasında; endoskopik görünümü kolon kanseri ile uyumlu lezyonlardan ve lezyona yakın normal görünen mukozadan biyopsiler alınan 25 hasta 1. grup olarak alındı. Benzer şekilde endoskopik işlem sırasında 1 cm'den büyük görülen poliplerden ve lezyona yakın normal görünen mukozadan biyopsiler alındı. Patoloji bölümünde değerlendirilerek tübüler, tübülovillöz, villöz adenom tanısı alan 25 hasta 2. grubu oluşturdu. Bu tanılar dışında kalan polipli hastalar çalışmaya alınmadı.

Çalışmaya alınan hastaların (1. grup 25, 2.grup 25 hasta olmak üzere toplam 50 hasta) lezyona yakın mukozalarından alınan biyopsiler (toplam 50 biyopsi) kontrol grubu olarak kabul edildi.

YÖNTEM

Çalışmaya alınan hastalarda fiberoptik rektosigmoidoskop veya fiberoptik kolonoskop kullanılarak (Olympus of type 40 L 2401166) endoskopi yapıldı. Lezyonlar görüldüğünde her lezyondan ve lezyona yakın normal mukozadan doku örneği alındı. Örnekler %10 formollü solüsyon içinde patoloji bölümüne ulaştırıldı. Alınan örneklerden hazırlanan kesitler hematoksilin-eosin, p53 ve ghrelin antikoları kullanılarak immünohistokimyasal yöntemle boyandı.

İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi:

Mikrotom cihazında, endoskopik biyopsilerden hazırlanmış bloklardan 4 mikronluk kesitler alındı. Pozitif kontrol olarak normal mukozadan alınan biyopsiler kullanıldı. Kesitler etüvde 60°C derecede 1 saat bekletilerek deparafinizasyon sağlandı. Ksilol ve derecesi giderek azalan alkollerden (%99, %96, %70) geçirilerek distile suda yıkandı. Antijen retrieval (geri kazanımı) işlemi için kesitler pH 6'da 10 nM sitrat tampon içerisine konularak mikrodalga fırında 20 dk boyunca 700 watt ısıya tabi tutuldu. Daha sonra preparatlar 20 dk oda ısısında soğumaya bırakıldı ardından aynı işlem tekrarlandı. Oda ısısında soğutulmuş olan preparatlar % 0.3 hidrojen peroksit ile 10 dk muamele edilerek peroksidaz blokajı yapıldı. Kesitler fosfat ile tamponlanmış salin solüsyonunda (PBS) yıkandı.

Ghrelin antikoru ile boyama:

Hazırlanan kesitlere oda sıcaklığında Ghrelin primer antikoru ile 60 dk inkübasyon uygulandı. 10 dk PBS'de yıkandı. Streptavidin-Biotin immünperoksidaz boyama için Biotinylated anti-mouse ve anti-rabbit immünglobulin (Linker reagent, sarı solüsyon) 10 dakika uygulandı. Kesitler PBS ile yıkandıktan sonra Streptavidin peroksidaz konjugatı (Tracer reagent, kırmızı solüsyon) ile 10 dakika muamele edilip tekrar PBS'de yıkandı. 10 dakika DAB Kromojen uygulandı ve deiyodize su ile

Tablo 6. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü

SIRA	İŞLEM	SÜRE
1	4 Mikronluk kesitlerin polilizinli lama alınması	
2	60° C etüv	1 saat
3	Ksilen,oda ısısı	15 dk
4	Dehidrasyon,%99'luk alkol	5 dk
5	Dehidrasyon,%96'lık alkol	5 dk
6	Dehidrasyon,%70'lik alkol	5 dk
7	Distile suda yıkama	5 dk
8	%10 Citrat ile antijen retrieval	20dk
9	Oda ısısında soğutma	20 dk
10	%10 Citrat ile antijen retrieval	20 dk
11	Oda ısısında soğutma	20 dk
12	Distile suda yıkama	5 dk
13	%3 Hidrojen Peroksit	10 dk
14	Distile suda yıkama	10 dk
15	PBS	10dk
16	Primer antikor	60 dk
17	PBS	10dk
18	Bağlayıcı antikor(biyotinize sekonder antikor)	10 dk
19	PBS	10 dk
20	Label(Streptavidin)	10 dk
21	PBS	10 dk
22	Kromojen(DAB)	10 dk
23	Distile suda yıkama	10 dk
24	Mayer Hematoksilen	3-4 dk
25	Distile suda yıkama	5 dk
26	Rehidrasyon %70 alkol	5 dk
27	Rehidrasyon %96 alkol	5 dk
28	Rehidrasyon %99 alkol	5 dk
29	Ksilen,oda ısısı	15 dk
30	Balsam ile kapama	

yıkandıktan sonra Mayer hematoxilen ile kontrast boyama uygulandı. Ardından yıkanan preparatlar balsam damlatılıp lamel ile kapatıldı.

P53 antikoru ile boyama:

Aynı işlemler antijen retrieval aşamasının iki sefer yapılması dışında p53 antikor boyaması için de tekrarlandı.

DEĞERLENDİRME

Histopatolojik değerlendirme aynı patoloji uzmanı tarafından yapıldı.

*HE ile boyanan preparatlar, ışık mikroskobu ile değerlendirilerek histopatolojik tanı verildi.

*Ghrelin ile boyanmanın değerlendirilmesinde diffüz sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi. Diffüz boyanma olmayanlar negatif olarak değerlendirildi.

*P53 boyanması için nükleer boyanma dikkate alındı. Sitoplazmik boyanmalar nonspesifik olarak kabul edildi. %10'dan daha az olan nükleer boyanmalar negatif , %10'dan fazla nükleer boyanma pozitif olarak kabul edildi.

İstatiksel Analizler

İstatiksel değerlendirme için SPSS 11.0 bilgisayar istatistik programı kullanıldı. Parametrik koşulu sağlayan verilerin dağılımı $X \pm sd$ (ortalama \pm standart sapma) olarak tanımlandı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile yapıldı. İki grup arasındaki farklılığa Student t testi ile bakıldı.

Nitel veriler ise % olarak tanımlandı. Gruplar arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi için Ki-kare (X^2) testi uygulandı. $p < 0,05$ istatiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tanı kriteri olarak değişkenlerin sensitivite ve spesivite hesaplamaları aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

	Hasta	Sağlam
Pozitif	a (gerçek pozitif)	b (yalancı pozitif)
Negatif	c (yalancı nefatif)	d (gerçek negatif)

$$\text{Hassasiyet} = \frac{\text{Gerçek pozitif}}{\text{Gerçek pozitif} + \text{yalancı negatif}} \times 100$$

$$\text{Özgüllük} = \frac{\text{Gerçek negatif}}{\text{Gerçek negatif} + \text{yalancı pozitif}} \times 100$$

BULGULAR

Birinci gruptaki olguların yaş ortalaması 62.8 ± 10 yıl; 2.gruptaki olguların 58.1 ± 13.6 yıl olarak saptandı. Çalışma gruplarının yaş ortalamaları tablo 7’de görülmektedir. Grupların yaş ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$).

Tablo 7. Çalışma gruplarının yaş açısından karşılaştırılması

	Yaş ortalaması $X \pm sd$
1. Grup	$62.8 \pm 10,1$ (52.8-72.8)
2. Grup	$58.1 \pm 13,6$ (44.5-71.7)

t:1.3 p:0.17

Kanserli vakalardan oluşan 1. gruptaki toplam 25 olgunun 15 tanesi (%60) erkek, 10 tanesi (%40) kadındı. İkinci grupta ise 17 erkek (%68), 8 kadın (%32) olmak üzere 25 olgu vardı. Çalışma gruplarının cinsiyete göre dağılımı tablo 8’de görülmektedir. Gruplarının cinsiyete göre dağılımında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Tablo 8. Çalışma gruplarının cinsiyete göre dağılımı

	Erkek sayı(%)	Kadın sayı (%)	Toplam Sayı (%)
1. Grup	15 (60)	10 (40)	25 (100)
2. Grup	17 (68)	8 (32)	25 (100)

$$X^2=0,384 \quad p=0,769$$

Kolon kanserli hastalarda tümörlerin %70'i sol kolonda yerleşmişti ve hepsi iyi diferansiye adenokanserdi. Kanserli dokulardan hazırlanan örneklerin %80'i Ghrelin ile boyanırken, %20'sinin boyanmadığı görüldü. Normal görülen dokulardan alınan biyopsilerde ise boyanmayanların sayısı 19 (%76) idi. Birinci grubu oluşturan hastalarda endoskopik olarak kanserli ve normal görülen dokulardan alınan örneklerin Ghrelin ile boyanma özellikleri değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p:0,0001). Ghrelin'in kanserli grup için duyarlılığı %80, özgüllüğü ise %78 olarak saptandı. Kanserli dokunun ghrelin ile boyanma özelliği tablo 9'da görülmektedir.

Tablo 9. Kanserli dokuların ghrelin ile boyanması

Ghrelin ile Boyanma	Kanserli doku Sayı (%)	Normal mukoza Sayı (%)	Toplam sayı(%)
G (+)	20 (80)	6 (24)	26 (52)
G (-)	5 (20)	19 (76)	24 (48)
Toplam*	25 (100)	25 (100)	50 (100)

$$X^2 : \text{Fisher exact } p:0,0001 \quad * \text{Sütun yüzdeleri esas alınmıştır.}$$

Polipli hastalardan oluşan 2.grupta poliplerden alınan örneklerin %32'si ghrelin ile boyanmadı, boyanan doku örnekleri ise 17 (%68) idi. Polipli hastalar poliplerin histopatolojik yapıları dikkate alınmaksızın ghrelin ile boyanma özelliklerine göre

değerlendirildiklerinde polip-normal mukoza arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p:0,0001). Polip grubunda Ghrelin'in duyarlılığı %68, özgülüğü %92 olarak hesaplandı. Bu grubun Ghrelin ile boyanma durumu tablo 10'da görülmektedir. Poliplerin %66'sı sol kolonda yerleşmektedir. Ghrelin ile boyanan poliplerin; %12'si villöz adenom, %16'sı tübülovillöz adenom, %40'ı tübüler adenomdu (tablo 11). Polipler boyutlarına göre değerlendirildiklerinde villöz adenomlar ortalama 1,33 cm, tübülovillöz adenomlar 1,75 cm, tübüler adenomlar 2 cm idi. Grup içindeki villöz-tübülovillöz-tübüler adenom sayıları yetersiz olduğu için istatistiksel değerlendirme yapılamadı.

Tablo 10. Polipli dokuların ghrelin ile boyanması

Ghrelin ile boyanma	Polip Sayı (%)	Normal mukoza Sayı (%)	Toplam Sayı (%)
G (+)	17 (68)	2 (8)	19 (38)
G (-)	8 (32)	23 (92)	31 (62)
Toplam	25 (100)	25 (100)	50 (100)

X^2 :Fisher exact p:0,0007

Tablo 11. Poliplerin alt gruplarının ghrelin boyanma özellikleri

	G ile boyanma(+) <u>Sayı (%)</u>	G ile boyanma (-) <u>Sayı (%)</u>	Toplam <u>Sayı (%)</u>
Villöz adenom	3 (12)	2 (8)	5 (20)
Tübülovillöz adenom	4 (16)	5 (20)	9 (36)
Tübüler adenom	10 (40)	1 (4)	11 (44)
Toplam	17 (68)	8 (32)	25 (100)

Kanser ve polipli gruplarda lezyonlardan alınan biyopsiler ghrelin ile boyanma açısından karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Kolon

kanseri tanısı alan hastaların kanserli doku örneklerinin 20 (%80) tanesi Ghrelin antikoru ile boyanırken 5 (%20) tanesi boyanmamıştı. Grup 2’de 25 hastanın poliplerinden hazırlanan kesitlerin ise 17 (%68) tanesi boyanmaktaydı ve 8 (%32) tanesinde boyanma yoktu. Gruplar arasında ghrelin ile boyanması açısından istatistiksel olarak fark bulamadık (p:0.52) (tablo 12)

Tablo 12. Kanserli ve polipli hasta gruplarının ghrelin ile boyanma özellikleri

Ghrelin ile boyanma	1.Grup Sayı (%)	2.Grup Sayı (%)	Toplam Sayı (%)
Ghrelin (-)	5 (20)	8 (32)	13 (26)
Ghrelin (+)	20 (80)	17 (68)	37 (74)
Toplam	25 (100)	25 (100)	50 (100)

$X^2:0.26$ p:0.52

Ghrelin ile boyanan ve boyanmayan kanserli dokular ile normal mukozanın boyanma özellikleri değerlendirildiğinde:

- * 4 hastada hem kanser hem normal doku (-) boyandı.
- * 15 hastada kanserli doku ghrelin ile (+) boyanırken normal mukoza boyanmadı.
- * 1 hastada normal mukoza ghrelin ile (+) boyanırken kanserli doku boyanmadı.
- * 5 hastada ise hem kanserli doku hem de normal mukoza ghrelin ile (+) boyandı.

Tablo 13’de Ghrelin ile boyanan ve boyanmayan kanserli dokularla normal mukozanın ghrelin ile boyanma oranları karşılaştırıldı.

Tablo 13. Kanserli dokuların ve normal mukozanın ghrelin ile boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

	G (-) kanserli Doku %	G (+) kanserli Doku %	Toplam Sayı (%)
G (-) normal mukoza	4(80)	15(75)	19(76)
G (+) normal mukoza	1(20)	5(15)	6(24)
Toplam	5 (100)	20 (100)	25 (100)

Benzer şekilde polipli hastalar değerlendirildiğinde

* 7 hastada hem polip hem normal dokuda G (-)

* 1 hastada hem polip hem normal mukozada G (+)

* 16 hastada polipli dokuda G (+); normal mukoza G (-)

* 1 hastada polipli dokuda G (-), normal mukoza G (+) boyandı. Tablo 14’de sonuçlar gösterildi.

Tablo 14. Polipli dokuların ve normal mukozanın ghrelin ile boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

	G (-) polip Sayı (%)	G (+) polip Sayı %	Toplam Sayı (%)
G (-) normal mukoza	7 (87)	16 (94)	23 (92)
G (+) normal mukoza	1 (13)	1 (6)	2 (8)
Toplam	8 (100)	17 (100)	25 (100)

Her iki gruptaki hastalarda lezyonlardan alınan doku örnekleri p53 ile de boyanarak karşılaştırıldı. P53 antikoru ile kanserli mukozanın 14 tanesi (%56) boyandı. Normal dokunun ise 21 tanesinde (%84) boyanma olmadı. Birinci grubu oluşturan hastalardan alınan örneklerinin P53 ile boyanma özellikleri değerlendirildiğinde endoskopik olarak kanser ve normal görülen dokular arasında istatistiksel olarak

anlamli fark bulundu (p:0,007) (tablo 15). P53 için kanser grubunda duyarlılık %56, özgülük %84 olarak saptandı.

Tablo 15. Kanserli dokuların p53 ile boyanma özellikleri

P53 ile boyanma	Kanser Sayı (%)	Normal mukoza Sayı (%)	Toplam Sayı (%)
P53 (+)	14 (56)	4 (16)	18 (36)
P53 (-)	11 (44)	21 (84)	32 (64)
Toplam	25 (100)	25 (100)	50 (100)

X^2 :Fisher exact p:0,007

İkinci grupta endoskopik olarak görülen poliplerden alınan biyopsilerden 16'sı (%64) p53 ile boyandı. 9 hastada (%36) boyanma gözlenmedi. İkinci grupta polip ve normal dokudan alınan örnekler değerlendirildiğinde p53 ile boyanma açısından anlamlı fark bulundu (p:0,0001) Polip grubunun p53 boyaması için duyarlılığı %64, özgülüğü %88 olarak hesaplandı (Tablo 16).

Boyanma görülen biyopsilerin %4'ü villöz adenom, %16'sı tübülovillöz adenom, %44'ü tübüler adenomdu. Alt grupların p53 boyanma özellikleri tablo 17'de görülmektedir.

Tablo 16. Polipli hastaların P53 ile boyanma özellikleri

P53 ile boyanma	Polip Sayı (%)	Normal mukoza Sayı (%)	Toplam Sayı (%)
P53 (+)	16 (64)	3 (12)	19 (38)
P53(-)	9 (36)	22 (88)	31 (62)
Toplam	25 (100)	25 (100)	50 (100)

X^2 :0,0 p:0,0001

Tablo 17. Poliplerin alt gruplarında P53 boyanma özellikleri

	P53 (+)	P53 (-)	Toplam
	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)
Villöz adenom	1 (4)	4 (16)	5 (20)
Tübülovillöz adenom	4 (16)	5 (20)	9 (36)
Tübüler adenom	11 (44)	-	11(44)
Toplam	17(68)	8 (32)	25 (100)

Kanserli ve polipli hastalarda lezyonlardan alınan biyopsi örnekleri p53 antikoru ile boyanma açısından karşılaştırıldı. Grup 1’de 14 (%56) biyopsi örneği p53 ile boyanırken, 11’inde (%44) boyanma yoktu. Grup 2’de 16 (%64) biyopsi örneği p53 ile boyandı. p53 ile boyanma özelliği açısından iki grup arasında istatistiksel fark yoktu (p:0.77). Tablo 18’de kanser ve polipli hastalardan alınan örneklerin p53 ile boyanma özellikleri gösterildi.

Tablo 18. Grupların p53 boyanması açısından karşılaştırılması

P53 ile boyanma	Grup 1	Grup 2	Toplam
	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)
P53 (-)	11 (44)	9 (36)	20 (40)
P53 (+)	14 (56)	16 (64)	30 (60)
Toplam	25 (100)	25 (100)	50 (100)

$X^2:0.38$ p:0.77

P53 antikoru ile boyanan ve boyanmayan normal mukoza karşılaştırıldığında:

- * 11 hastada hem kanser hem normal doku p53 ile (-) boyandı.
- * 10 hastada kanserli mukoza p53 ile (+), normal mukoza (-) boyandı.
- * p53 ile boyanmayan kanserli hastalarda normal mukoza da boyanmadı.
- * 4 hastada hem kanser hem normal doku p53 ile (+) boyandı. Sonuçlar tablo 19'da gösterildi.

Tablo 19. Kanserli dokuların ve normal mukozanın p53 ile boyanma oranlarının karşılaştırılması

	P53 (-) kanserli doku (%)	P53 (+) kanserli doku (%)	Toplam Sayı (%)
P53 (-) normal mukoza	11 (100)	10 (71)	21 (84)
P53 (+) normal mukoza	-	4 (29)	4 (16)
Toplam	11 (100)	14 (100)	25 (100)

Benzer şekilde polipli hastalar değerlendirildiğinde:

- * 9 hastada hem polipli hem normal mukoza (-) boyandı
- * 13 hastada polipler p53 ile (+) boyanırken normal mukoza boyanmadı
- * p53 ile boyanmayan polipli hastaların normal mukozaları da boyanmadı.
- * 3 hastada hem polipli dokular hem de normal mukoza p53 ile (+) boyandı. Sonuçlar tablo 20'de gösterildi.

Tablo 20. Polipli dokuların ve normal mukozanın p53 ile boyanma oranlarının karşılaştırılması

	P53 (-) polip (%)	P53 (+) polip (%)	Toplam Sayı (%)
P53 (-) normal mukoza	9 (100)	13 (81)	22 (88)
P53 (+) normal mukoza	-	3 (19)	3 (12)
Toplam	9 (100)	16 (100)	25 (100)

TARTIŞMA

Çalışmamızda ghrelinin hücre proliferasyonu üzerine etkisini dikkate alarak, kolon polip ve kanserlerinde, ayrıca lezyona komşu mukozada IHC yöntemle ghrelin varlığını göstermeyi amaçladık. Duxbory ve ark, pankreas adenokanserli hastalarda iştahı artırıcı etkisi olduğu bilinen ghrelinle kaşeksi tedavisini planladıkları çalışmalarında invitro ortamda 72 saat 10nM dozda ghrelin tedavisinin, hücre proliferasyonuna yol açtığını göstermişlerdir. Aynı dozda hücre invazyonun ve migrasyonun da arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada daha yüksek dozların ise proliferasyonu inhibe ettiği bulunmuştur (2). Çalışmamızda 1 cm.den büyük poliplerden ve komşu normal mukozadan alınan örneklerin ghrelin ile boyanmaları karşılaştırıldığında, poliplerin istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek oranda (% 68) ghrelin ile pozitif boyandığını bulduk. Sonuçlarımız önceki çalışmayla uyumlu olarak, ghrelinin hücre proliferasyonunda önemli rolü olduğunu düşündürdü. KRK'li hastalarda da, lezyonların çoğunlukla prekanseröz kabul edilen adenomlardan geliştiği göz önüne alınarak, kanser hücrelerinde ve lezyona yakın normal mukozada da ghrelin varlığını değerlendirdik. Normal mukozada ghrelin ile boyanma % 24 iken kanserli dokularda istatistiksel olarak anlamlı yüksek (% 80) bulundu. Bulgularımız ghrelinin hücre proliferasyonunu artırdığı düşüncesini destekledi.

Poliplerin büyüklükleri, sayıları ve histolojik yapıları kolon karsinogenezinde önemlidir. Özellikle çok sayıda, 1 cm.den büyük ve villöz yapıdaki poliplerin kanserleşme riski % 17'dir. Çalışmamızda tübüler, tübülovillöz ve villöz

adenomların tümü ghrelin ile boyandı. Sayılar yetersiz olduğu için poliplerin alt gruplarının boyanma özelliklerini birbirleriyle karşılaştıramadık.

Polip-kanser dokuları arasında ghrelin ile boyanma farklılığı olup olmadığını araştırdık. Hem poliplerde hem de kanserli dokuda ghrelin boyanması vardı ve aralarında istatistiksel fark bulamadık. Bu nedenle polip-kanser ayırımında ghrelinin prediktif önemi olmadığını, hücre proliferasyonunda rol oynadığını düşündük.

Ghrelinin % 65-77 oranında midedeki endokrin hücrelerden sentezlendiği, GH salınımını artırdığı bulunduğu için öncelikle birçok endokrin organda etkinliği, proliferasyondaki rolü araştırılmıştır (47). Gastrointestinal ve pankreastan kaynaklanan çeşitli endokrin neoplazmlarda ghrelin varlığı gösterilmiştir (3,45). Korbonits ve ark normal hipotalamus ve hipofizde ghrelin sentezlendiğini, hipofiz adenomlarında da ghrelin bulunduğunu göstermişlerdir (74). Biz de çalışmamızda normal kolon mukozasında ghrelin boyanması yokken endokrin hücre olmamasına rağmen adenomatöz poliplerde ghrelin varlığını tespit ettik. Ancak dokuda ghrelin mRNA bakamadığımız için kolonda ghrelin sentezi ile ilgili yorum yapamadık. Kanserli dokularda ghrelin bulunmasını hücre proliferasyonu ile ilişkilendirdik. Fransa'dan bildirilen bir çalışmada pankreas adacık hücrelerinde ve endokrin tümörlerinde ghrelin ve GHS-R varlığı araştırılmış. Hem endokrin tümörlerin hem adacık hücrelerinin ghrelin sentezlediği, dolayısı ile ghrelinle boyandığı, ancak ghrelinle boyanmanın tümör hücrelerinin % 30'unu geçmediği, örneklerin salkımlar halinde boyandığı dikkati çekmiş. Boyanma farklılığının kullanılan boyama teknikleriyle ilişkili olabileceği düşünülmüş. Kontrol grubu olarak alınan non-nöroendokrin adenokarsinomalar ise ghrelin ile boyanmamıştır (3). Bu çalışmaya benzer şekilde medullar tiroid kanserli hücre serilerinde yapılan çalışmada, kesin rolü bilinmemekle birlikte tiroid C hücrelerinin ghrelin sentezlediği için kanserli dokuda normal dokudan daha fazla bulunduğu öne sürülmüştür (6).

Bir başka çalışmada adrenal bez medullasında ve feokromasitomada ghrelin varlığı gösterilmiştir. Medulladaki özellikle enterokromaffin hücrelerinin ghrelin ile boyandığı tespit edilmiştir (75).

Pankreasın endokrin tümörlerinin incelendiği çalışmada, hastaların %68' inde ghrelin peptidi immünohistokimyasal yöntemle gösterilmiştir (76). Mottershead ve ark 10 gastrik adenokanserli hastanın kanserli ve lezyona komşu normal mukozalarında,

ghrelin mRNA ve peptid ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında, adenokanser dokusunun ghrelin ile boyanmadığını, buna karşın tümöre yakın normal mide mukozasının ghrelin ile pozitif boyandığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, mide adenokarsinomunun diffüz olduğunu, mukozal epitel doku ve bez yapılarının yıkıldığını, adenokanser dokunun normal dokunun yerini aldığı için, az miktarda kalan non-neoplastik dokunun ghrelin sentezleyemediğini, kanserli dokuların bu nedenle ghrelinle boyanmadığını ne srmşlerdir (47).

Bütün bu çalışmaların ortak yönü, sadece endokrin hücreler içeren tümör dokularında ghrelin varlığı ve/veya sentezinin çalışılmış olmasıdır. Sonuç olarak endokrin hücrelerden kaynaklanan tümörlerde ghrelin daha fazla bulunurken endokrin organlarda yerleşmiş diğer kanserli dokuda (rneğin adenokanser vb) ghrelin az boyanmış veya hiç gösterilememiştir. Endokrin hücrelerin ghrelin sentezleme özellikleri nedeniyle bu hücrelerden kaynaklanan tümörlerde ghrelin boyanması beklenen bir durumdur. Çalışmamızda ise yukarda özetlenen çalışmalardan farklı olarak, endokrin hücre içermeyen kolon adenomları ve adenokanserlerinde ghrelin varlığını gösterdik. Prolifere olan kolonun adenom ve kanserli dokularında, ghrelin sentezi olmadığı halde, ghrelinin muhtemelen endokrin yol ile ilgili reseptörlere bağlanarak etkidiğini, dolayısıyla bu dokularda boyandığını düşündük.

Çalışmamıza benzer şekilde hiperplastik ve karsinomlu prostat dokusunda ghrelin varlığı araştırılmış ve hem malign hem de benign prostat hücre serilerinde ghrelin mRNA gösterilmiştir. Normal prostat dokusundan örnek alınmadığı için, normal dokunun ghrelin içeriği hakkında bilgi edinilemedi. Aynı çalışmada prostat kanserli bazı hücre serilerinde ise aile ve desaile ghrelinin inhibitör etkisi olduğu, dolayısı ile ghrelin ve desaile formunun neoplastik hücre proliferasyonunda muhtemel rolü olduğu öne sürülmüştür (7).

Çalışmamızda 4 kanserli hastada, 7 polipli hastada dokuların ghrelin ile boyanmadığı görüldü. Ghrelin etkisini reseptörler üzerinden gösterir. Çeşitli çalışmalarla gösterilen bildiğimiz GHS-R 1a ve GHS-R 1b olmak üzere 2 reseptör vardır (14). Boyanmayan kanser ve polip dokularında bildiğimiz GHS-R 1a ve 1b'den farklı GHS-R olabileceğini ve ghrelin bu reseptörlere bağlanamadığı için IHC yolla gösterilememiş olabileceğini düşündük. Çalışmamızda dokularda reseptör çalışması

yapılmadı. Reseptör özelliklerini gösteren daha ayrıntılı çalışmalara gereksinim vardır.

Aydın ve ark mukoepidermoid tükrük bezi tümörleri ve normal mukozada ghrelin varlığını araştırdıkları çalışmalarında, normal dokuda ghrelin varlığı gösterilirken, kanserli dokuda gösterilememiş olmasını, tümör hücrelerindeki hücresel hasar ve etkilenen hücrelerdeki beslenme bozukluğu nedeniyle olabileceğini iddia etmişlerdir (5). Bu çalışmadan farklı olarak tümör diferansiasyonunun, ghrelinle boyanmada anlamlı olmadığını gösteren çalışmalar da vardır. Papotti ve ark, duodenum, ince barsak, apendix ve kolon-rektumda yerleşmiş karsinoid tümörlerde ghrelin varlığını göstermişler ve ghrelin yoğunluğu ile, tümör agresivliği arasında ilişki bulunmadığını bildirmişlerdir (45). Bizim çalışmamızda kanserli dokular iyi diferansiye adenokarsinomdu. Bir kısmının ghrelinle boyanmaması Aydın ve ark.nın öne sürdüğü gibi hücresel yıkımla ilgili olabilir. Polipli hasta grubunda ise polipler histolojik yapılarına göre bakıldığında villöz adenomların % 12'si, tübülövilöz adenomların % 16'sı, tübüler adenomların ise % 40'ının ghrelin ile boyandığı dikkati çekti. Bulgularımız Papotti ve ark.nın çalışmasında olduğu gibi hücre farklılaşması ile ghrelin boyanması arasında ilişki olmadığını düşündürdü. Adenomların boyutları değerlendirildiğinde, tübüler adenomların daha büyük olduğu görüldü. Ortalama villöz adenomlar 1,33 cm, tübülövilöz adenomlar 1,75 cm, tübüler adenomlar ise 2 cm idi. Daha büyük boyutlu adenomların daha yüksek oranda ghrelinle boyanması ghrelinin proliferasyon ilişkili olduğu görüşümüzü destekledi.

P53 tümör supresör geni KRK'leri de kapsayan malign tümörlerde en sık mutasyona uğrayan genidir (77). Wild tip p53, DNA replikasyonunu, hücre proliferasyonunu ve apoptozu düzenleyerek neoplastik transformasyonu baskılar. KRK'lerde p53 gen mutasyonu sıklıkla gösterilmiştir (78). Çalışmamızda kolon kanser ve poliplerinde p53 varlığını değerlendirmeyi ve polip-kanser dönüşümünde p53 boyanma özelliklerinin belirteç olup olamayacağını araştırdık.

Kolon kanserli hastalarda p53 ekspresyonunun prognostik bir gösterge olabileceğini öne süren çeşitli çalışmalar vardır (79). Çalışmamızda 1 cm.den büyük poliplerden ve komşu normal mukozadan alınan örneklerin p53 ile boyanmaları karşılaştırıldığında, poliplerin istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek oranda

(%68) p53 ile pozitif boyandığını bulduk. Polipe yakın endoskopik olarak normal görünen mukozadan alınan biyopsilerde ise p53 ile boyanma olmadı. Chen ve ark yaptıkları çalışmada da çalışmamıza benzer şekilde normal mukozada boyanma olmazken adenom tespit edilen hastaların % 16.6'sında p53 ile boyanma gösterilmiştir. Aynı çalışmada kolon adenokanserlerinin % 54'ünde p53 varlığı gösterilmiştir (79). Önceki çalışma ile uyumlu olarak kanserli dokuların % 56'sında p53 ile boyanma tespit ettik.

Çalışmamızda 11 adet kanserli dokuda (%44), 9 adet polip dokusunda (%36) p53 ile boyanma olmadığı tespit edildi. Hilska ve ark. yaptıkları çalışmada tümör göstergelerinde farklı boyanma oranları tespit etmişler ve bu farklılığın doku içinde tümör hücrelerinin heterojen dağılımından kaynaklandığını öne sürmüşlerdir (77). Kesit sayısı arttıkça yani birden fazla tümöral doku kesiti incelendikçe, tümör dokusunun patolojisinin daha doğru değerlendirilebileceğini, boyanmayan dokuların tümör hücrelerinin heterojen dağılımından kaynaklanabileceğini düşündük.

Adenomdan karsinoma değişimin, polip büyüklüğü, histolojik tipi ve epitelyal displazinin ağırlığı gibi bağımsız kriterler ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Carneiro ve ark poliplerin histolojik tipi ile p53 IHC ekspresyonu arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmalarında 30 adenomun 8'inde p53 ekspresyonu gözlemişlerdir, fakat adenomun histolojik tipi (tübüler, tübülovillöz, villöz) ile p53 ekspresyonu arasında anlamlı korelasyon bulamamışlardır (80). Çalışmamızda polip dokusu normal mukozadan anlamlı olarak yüksek oranda boyandı ve boyanma en fazla tübüler adenom grubundaydı. Bir cm.den büyük olan tümörlerde malignite oranı %3, villöz olanlarda ise %17 olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda tübüler adenomların daha büyük oldukları için p53 ile daha fazla oranda boyandıkları, buna bağlı olarak p53'ün bir proliferasyon göstergesi olabileceği fikrimizi güçlendirdi. Bizim çalışmamızda villöz adenom sayısı az olduğu için oranların klasik bilgiden farklı bulunduğunu, daha fazla sayıda örnekler içeren çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşündük. Aynı çalışmada 30 olgudan oluşan adenokanser grubunda p53 ekspresyonu 12'sinde tespit edilmiş, adenokanser diferansiyasyon derecesi ile (az, orta, iyi) p53 ekspresyonu arasında fark bulunamamıştır. Çalışmamızda tüm kanser dokuları iyi diferansiyasyon idi ve aynı oranda p53 ile boyandı.

Cristi ve ark. 50 kolon kanseri olgusunda IHC olarak p53 ekspresyonuna baktıkları çalışmalarında hızlı çoğalan tümörlerde, yavaş çoğalanlara göre anlamlı daha yüksek oranda p53 boyanması tespit etmişlerdir (81). Bir başka çalışmada KRK'deki klinikopatolojik parametreler ile p53 ilişkisi değerlendirilmiş, p53 ekspresyonunun büyük boyutlu olan ve rektumda lokalize olan tümörlerde daha yüksek oranda bulunduğu (%64,4) saptanmıştır (82). Bizim çalışmamızda da polip ve %70'i sol kolonda yerleşen KRK dokusu normal mukozadan anlamlı olarak daha yüksek oranda boyandı. Bulgularımız yukardaki çalışmayla uyumlu olarak normal mukozaya göre hızlı çoğalan tümörlerde, p53 mutasyonu sonucu daha fazla proliferasyon olduğunu, dolayısıyla daha fazla boyanma olduğunu destekler.

Birçok çalışmada p53'ün KRK'deki etkisi araştırılmıştır. KRK'de p53 varlığı gösterilmiş ve çalışmaların çoğunda tümör büyüklüğü ve diferansiasyon derecesi ile ilişkisi incelenmiştir. P53 kolon karsinogenezinde geç safhada yer alıyor olmasından dolayı kötü prognoz ile ilişkili olduğu iddia edilmiştir. Çalışmamızda p53 varlığı hem kanser hem polip dokusunda normal dokudan anlamlı yüksek olarak tespit edildi. Kanser ve polip dokuları arasında p53 ile boyanma açısından istatistiksel fark bulamadık. Bu bulgular p53'ün kolon karsinogenezine etkisinin yanı sıra proliferasyon göstergesi olarak da önemli olduğunu düşündürdü.

SONUÇLAR

- 1) Kanserli dokuda normal mukozaya kıyasla daha yüksek oranda ghrelin varlığı gösterildi (normal mukoza % 24, kanserli doku % 80).
- 2) Polip dokusu ile normal mukoza arasında ghrelin boyanması açısından istatistiksel fark bulundu (poliplerde % 68, normal mukozada % 8).
- 3) Kanserli dokusu ile polip dokusu arasında ghrelin boyanması açısından anlamlı fark bulunmadı.
- 4) Kanserli olgularda p53, normal mukozaya göre immünohistokimyasal olarak daha fazla oranda boyandı (kanserli doku % 56, normal mukoza %16).
- 5) Polip ile normal mukoza arasında p53 boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (poliplerde % 64, normal mukozada % 12).
- 6) Kanser dokusu ve polip dokusu arasında p53 ile boyanma sıklığı arasında fark gözlenmedi.
- 7) CRC ve polip dokuları arasında ghrelinle boyanma özelliği açısından fark görülmezken normal doku ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olması, ghrelinin bir proliferasyon göstergesi olduğunu düşündürmektedir.
- 8) P53 antikoruna; normal mukozada kanser ve polip dokuları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük bulunurken, kanser ve polip dokuları arasında fark göstermemesi p53'ün de ghrelin gibi proliferasyonda rol oynadığı düşündürdü.
- 9) Çalışmamız kolon kanseri ve kolon poliplerinde ghrelin boyanma özelliğini araştıran ilk çalışmadır. Ghrelinin hücre proliferasyonuna etkisinin ve karsinogenezdeki rolünün daha iyi anlaşılabilmesi için daha çok sayıda örnekleme yapılması gerektiği kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Guan XM, Yu H, Palyha OC, et al. Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagog receptor in brain and periferal tissues. *Brain Res Mol Brain Res* 1997 ;48 Suppl 1 :23-9.
2. Duxbury MS, Waseem T, Ito H, et al. Ghrelin promotes pancreatic adenocarcinoma cellular proliferation and invasiveness. *Biochem and Biophys Res Commun* 2003;309:464-468.
3. Volante M, Allia E, Gugliotta P, et al. Expression of ghrelin and the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumours. *J Clin Endocri Metab* 2002;87:1300-1308.
4. Broglio F, Gottero C, Benso A, et al. Ghrelin and the endocrine pancreas. *Endocrine* 2003; 22 Suppl 1: 19-24.
5. Aydın S, Ozercan IH, Dağlı F, et al. Ghrelin immunohistochemistry of gastric adenocarcinoma and mukoepidermoid carsinoma of salivary gland. *Biotech and Histochem* 2005;80 (3 Suppl 4):163-168.
6. Kanamoto N, Akamizu T, Hosoda H, et al. Substantial production of ghrelin by a human medullary thyroid carsinoma cell line. *J Clin Endocri Metab* 2001;86:4984-4990.
7. Cassoni P, Ghe C, Marrocco T, et al. Expression of ghrelin and biological activity of spesific receptors for ghrelin end des-acyl ghrelin in human prostate neoplasms and related cell lines. *Eur J Endoc* 2004;150:173-184
8. Kuwabara A, Watanabe H, Ajioka Y, et al. Alteration of p53 clonality accompanying colorectal cancer progression. *Jpn J Cancer Res* 1998;89 Suppl 1:40-46.

9. Ribeiro-Silva A, Ramalho LNZ, Garcia SB, et al. The relation between p63 and p53 expression in normal and neoplastik breast tissue. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:336-340.
10. Martinazzi M, Crivelli F, Zampatti C, et al. Relation between p53 expression and prognostik factors in human breast carsinoma. An immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol* 1993;100:213-217.
11. Sung CJ, Zheng Y, Quddus MR, et al. P53 as a significant prognostic factor in endometrial carsinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2000;10:119-127.
12. Rogriguez MA, Ford RJ, Goodacre A, et al. Chromosome 17p and p53 changes in lymphoma. *Br J Haematol* 1991;79:575-582.
13. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocri Metab* 2002 ;87 Suppl 6 :2988-97.
14. Toogoog AA, Torneth MO. Ghrelin not just another growth hormone secretagog. *Clin Endocrinol* 2001;55:589-91.
15. Howard AG, Feighner SD, Cully DF, et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 1996;273 Suppl 5277 : 974-7.
16. Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402 Suppl 6762 : 656–660.
17. Ueno H, Yamaguchi H, Kangawa K, et al. Ghrelin a gasrik peptid that regulates food intake and energy homeostasis. *Regul Pept* 2005;126 Suppl 1 :11-9.
18. Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, et al. Ghrelin- a hormone with multiple functions. *Front Neuroendocrinol* 2004;25: 27–68.
19. Malagon MM, Luque RM, Ruiz-Guerrero E, et al. Intracellular signaling mechanisms mediating ghrelin stimulated growth hormone release in somatotropes. *Endocrinol* 2003; 144 Suppl 12: 5372–5380.

20. Banks WA, Tschop M, Robinson SM, et al. Extent and direction of ghrelin transport across the blood–brain barrier is determined by its unique primary structure. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 302 : 822–827.
21. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, et al. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 279 Suppl 3:909–913.
22. Broglio F, Benso A, Gottero C, et al. Non-acylated ghrelin does not possess the pituitary and pancreatic endocrine activity of acylated ghrelin in humans, *J Endocrinol Invest* 2003;26:192–196.
23. Bednarek MA, Feighner SD, Pong SS, et al. Structure and function studies on the new growth hormone releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. *J Med Chem* 2000;43: 4370–4376.
24. Date Y, Kojima M, Hosoda H, et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinol* 2000; 141 Suppl 11: 4255– 4261.
25. Kojima M, Hosoda H, Kangawa K, et al. Ghrelin, a novel growth-hormone-releasing and appetite-stimulating peptide from stomach. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2004;18 Suppl 4 : 517–530.
26. Jeffery PL, Herington AC, Chopin LK, et al. The potential autocrine/ paracrine roles of ghrelin and its receptor in hormone-dependent cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003;14: 113–122.
27. Date Y, Murakami N, Toshinai K, et al. The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterol* 2002 Oct;123 Suppl 4 :1120-8,
28. Nakazato M, Murakami N, Date Y, et al. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001 ;409 Suppl 6817:194-8.
29. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, et al. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 ;86 Suppl 12:5992.

30. Geloneze B, Tambascia MA, Pila VF, et al. Ghrelin: a gut brain hormone: Effect of gastrik bypass surgery. *Obes Surg* 2003 ;13 Suppl 1 :17-22.
31. Haqq AM, Farooqi IS, O’Rahilly S, et al. Serum ghrelin levels are inversely correlated with body mass index, age and insulin concentrations in normal children and remarkably increased in Prader-Willy sendrome. *J Clin Endocri Metab* 2003 ;88 Suppl 1:174-8.
32. Tschop M, Smiles DL, Heiman ML, et al. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000 ;407 Suppl 6806:908-13.
33. Nagaya M, Kojima M, Uematsu M, et al. Hemodynamics and hormonal effects of human ghrelin in healty volunteers. *Am J Physiol Regul Integ Comp Physiol* 2001 ;280 Suppl 5 :1483-7.
34. Nagaya M, Uematsu M, Kojima M, et al. Chronic administration of ghrelin improves left ventricular disfunction and attenuates development of kardiac cachexia in rats with heart failure. *Circulation* 2001 ;104 Suppl 12:1430-5.
35. Van der Velde M, Delhanty P. Ghrelin and Bone. *Vitam Horm* 2008;77: 239-58.
36. Granada M, Priego T. Anti-inflammatory effect of the Ghrelin agonist GHRP-2 in arthritic rats. *Am J Endocri Metab* 2005 ;288 Suppl 3:486-492.
37. Maison P, Balkau B, Simon D, et al. Growth hormone as a risk for premature mortality in healthy subjects: data from the Paris prospective study. *Br Med J* 1998;316:1132–3.
38. Hankinson SE, Willet WC, Colditz GA et al. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer. *Lancet* 1998; 351: 1393–6.
39. Chopin LK, Veveris-Lowe TL, Philipps AF, et al. Co-expression of GH and GHR isoforms in prostate cancer cell lines. *Growth Horm IGF Res* 2002;12 Suppl 2 :126-33.

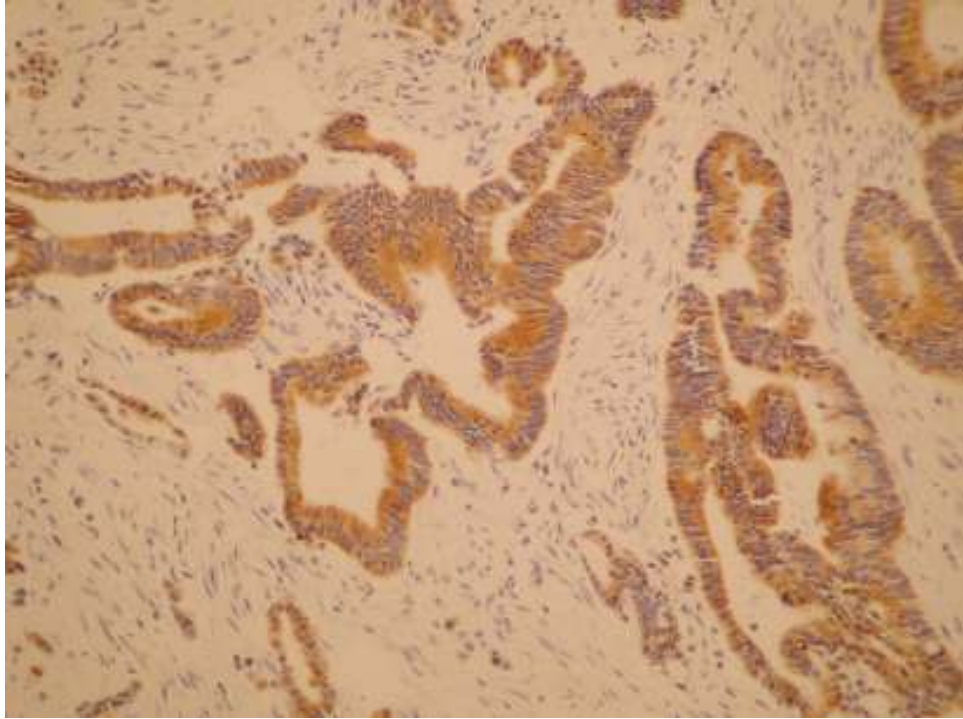
40. Thapar K, Kovacs K, Stefaneanu L, et al. Overexpression of the growth hormone releasing hormone gene in acromegaly associated pituitary tumours. An event associated with neoplastic progression and aggressive behaviour. *Am J Pathol* 1997;151 Suppl 3 :769–84.
41. Popovic V, Damjanovic S, Micic D, et al. Increased incidence of neoplasia in patients with pituitary adenomas. The Pituitary Study Group. *Clin Endocrinol* 1998;49:441–5.
42. Jenkins PJ, Besser M. Clinical perspective: acromegaly and cancer: a problem. *J Clin Endocri Metab* 2001;86:2935–41.
43. Bustin SA, Jenkins PJ. The growth hormone-insulin-like growth factor-I axis and colorectal cancer. *Trends Mol Med* 2001;7:447–54.
44. Barlier A, Zamora AJ, Grino M, et al. Expression of functional growth hormone secretagogue receptors in human pituitary adenomas: polymerase chain reaction, triple in situ hybridisation and cell culture studies. *J Neuroendocrinol* 1999;11:491–502.
45. Papotti M, Cassoni P, Volante M, et al. Ghrelin-producing endocrine tumours of the stomach and intestine. *J Clin Endocri Metab* 2001;86:5052-5059.
46. Ekeblad S, Nilsson B, Lejonklou MH, et al. Gastrointestinal tumors express the orexigen ghrelin. *Endocr Relat Cancer* 2006; 13: 963-970.
47. Mottershead M, Karteris E, Barclay JY, et al. Immunohistochemical and quantitative mRNA assesment of ghrelin expression in gastrik and oesophageal adenocarcinoma. *J Clin Pathol* 2007;60:405-409.
48. Itzkowitz SH, Kim YS. Colonic polyps and polyposis syndromes. In: Feldman M, Scharschmidt B.F, Sleisenger M.H (eds). *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease (7th ed)*, W.B. Saunders Company pres, 2003, pp.1865-1942.
49. Mark R. Epithelial neoplasms of the large intestine. In: Odze RD, Goldblum JR, Crawford JM (eds). *Surgical pathology of the GI tract, Liver, Bilier Tract and Pancreas (1st ed)*, Elsevier pres, 2004, pp.441-472.

50. Worthley DL, Whitehall VL, Spring KJ, et al. Colorectal carcinogenesis: road maps to cancer. *World J Gastroenterol* 2007;13 Suppl 28 :3784-3791.
51. Rupnarain C, Dlamini Z, Naicker S, et al. Colon cancer: genomics and apoptotic events. *Biol Chem* 2004 ;385 Suppl 6:449-464.
52. Rashid A, Zahurak M, Goodman SN, et al. Genetic epidemiology of mutated K-ras proto-oncogene, altered suppressor genes, and microsatellite instability in colorectal adenomas. *Gut* 1999;44 Suppl 6:826-833.
53. Conlin A, Smith G, Carey FA, et al. The prognostic significance of K-ras, p53, and APC mutations in colorectal carcinoma. *Gut* 2005;54 Suppl 9:1283-1286.
54. Gao X, Honn KV. Recessive oncogenes:current status. *Pathol Oncol Res* 1995;1 Suppl 1:7-22.
55. Hardy RG, Meltzer SJ, Jankowski JA, et al. ABC of colorectal cancer. Molecular basis for risk factors. *BMJ* 2000 ;321 Suppl 7265:886-889.
56. Kambara T, Simms LA, Whitehall VL, et al. BRAF mutation is associated with DNA methylation in serrated polyps and cancers of the colorectum. *Gut* 2004 ;53 Suppl 8:1137-44.
57. Holstein M, Sideransky D, Volgenstein B, et al. P53 mutations in human cancers. *Science* 1991;253:49-53.
58. Osman I, Drobnjak M, Fazzari M, et al. Inactivation of the p53 pathway in prostatic cancer: impact on tumour progression. *Clin Cancer Res* 1999;5:2082-2088.
59. Porter PL, Gown AM, Kramp SG, et al. Widespread p53 overexpression in human malignant tumours: an immunohistochemical study using methacarn fixed, embedded tissue. *Am J Pathol* 1992;140:145-153.
60. Spitz FR, Giacco GG, Hess K, et al. P53 immunohistochemical staining predicts residual disease after chemoradiation in patients with high-risk rectal cancer. *Clin Cancer Res* 1997;3:1665-1690.
61. Lianes P, Orlow I, Zhang ZF, et al. Altered patterns of MDM-2 and TP53 expression in human bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:1325-1330.

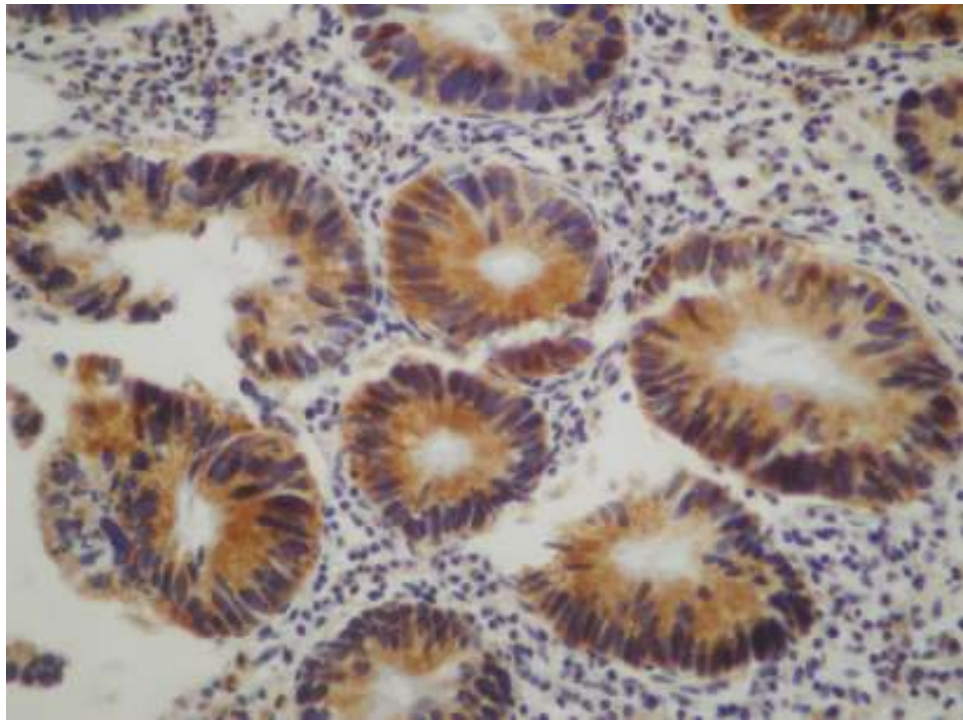
62. Teng DHF, Hu R, Lin H, et al. MMAC1/PTEN mutations in primary tumour spesimens and tumour cell lines. *Cancer Res* 1997;57:5221-5225.
63. Theorodescu D, Broder SR, Boyd JC, et al. P53, bcl-2 and retinoblastoma proteins as long term prognostik markers in localized carcinoma of the prostate. *J Urol* 1997;158:131-137.
64. Oren M. P53: The ultimate tumour supressor gene. *FASEB J* 1992 ; 6:3169-3176.
65. Burton JL, Oakley N, Anderson J.B, et al. Recent advances in the histopathology and molecular biology of prostate cancer. *BJU International* 2000;85:87-94.
66. Merrit AJ, Potten JS, Kemp CJ, et al. The role of p53 in spontaneous and radiation induced apopitozsis in the gastrointestinal tract of normal and p53 deficient mice. *Cancer Res* 1994;54 Suppl 3:614-617.
67. Waldman T, Kinzler KW, Vogelstein B, et al. P21 is necessary for the p53 mediated G1 arrest in human cancer cells. *Cancer Res* 1995;55 Suppl 22:5187-5190.
68. Soussi T, Lozano G. P53 mutation heterogeneity in cancer. *Biochem and Biophys Res Commun* 2005;331:834-842.
69. Shin DM, Lee JS, Lippman SM, et al. P53 expression:predicting recurrence and second primary tumours in head and neck squamous cell carsinoma. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:519-529.
70. Nakashima T, Wang XF, Masida M, et al. Overexpression of p53 nuclear protein in premalignant and malignant laringeal lesions. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1999;256:56-59.
71. Dowell SP, Hall PA. The p53 tumour supressor gene and tumour prognosis: is there a relationship. *J of Pathol* 1995;177:221-224.
72. Chang K, Ding I, Kern FG, et al. Immunohistochemical analysis of p53 and Her-2/neu proteins in human tumours. *J Histochem Cytochem* 1991;39:1281-1289.

73. Hensel CH, Xiang RH, Sakaguchi AY, et al. Use of the single strand conformation polymorphism technique and PCR to detect p53 gene mutations in small cell lung cancer. *Science* 1990;249:912-915.
74. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M, et al. The expression of the Growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumours. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:881-887.
75. Raghay K, Caballero GT, Bravo S, et al. Ghrelin localization in the medulla of rat and human adrenal gland and in pheochromocytomas. *Histol Histopathol* 2008;23:57-65.
76. Ekeblad S, Lejonklou MH, Grimfjard P, et al. Co-expression of ghrelin and its receptor in pancreatic endocrine tumours. *Clin Endocrinol* 2007;66: 115-122.
77. Hilska M, Collan YU, Laine VJO, et al. The significance of tumour markers for proliferation and apoptosis in predicting survival in colorectal cancer. *Dis Colon Rec* 2005;48:2197-2208.
78. Lebe B, Sarioğlu S, Sökmen S et al. The clinical significance of p53, p21 and p27 expressions in rectal karsinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2005;13:38-44.
79. Chen WC, Lin MS, Zhang BF, et al. Survey of molecular profiling during human colon cancer development and progression by immunohistochemical staining on tissue mikroarray. *World J Gastroenterol* 2007;13 suppl 5:699-708.
80. Carneiro PF, Ramalho LNZ, Garcia SB, et al. Immunohistochemical expression of P16, p53 and p63 in colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Dis Colon Rec* 2006;49:588-594.
81. Cristi E, Perrone G, Toscano G, et al. Tumour proliferation, angiogenesis and ploidy status in human colon cancer. *J Clin Pathol* 2005;58:1170-1174.
82. Demirbaş S, Sücüllü İ, Yıldırım S, et al. Influence of the c-erb B-2, nm23, bcl-2 and p53 protein markers on colorectal cancers. *Turk J Gastroenterol* 2006; 17 Suppl 1: 13-19.

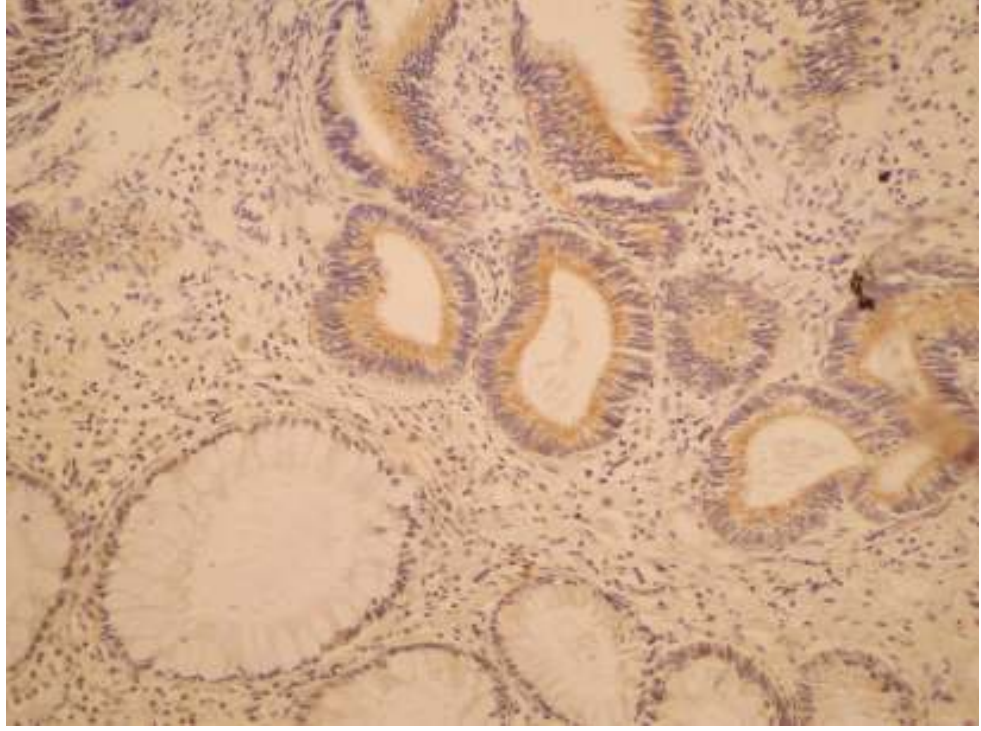
EKLER



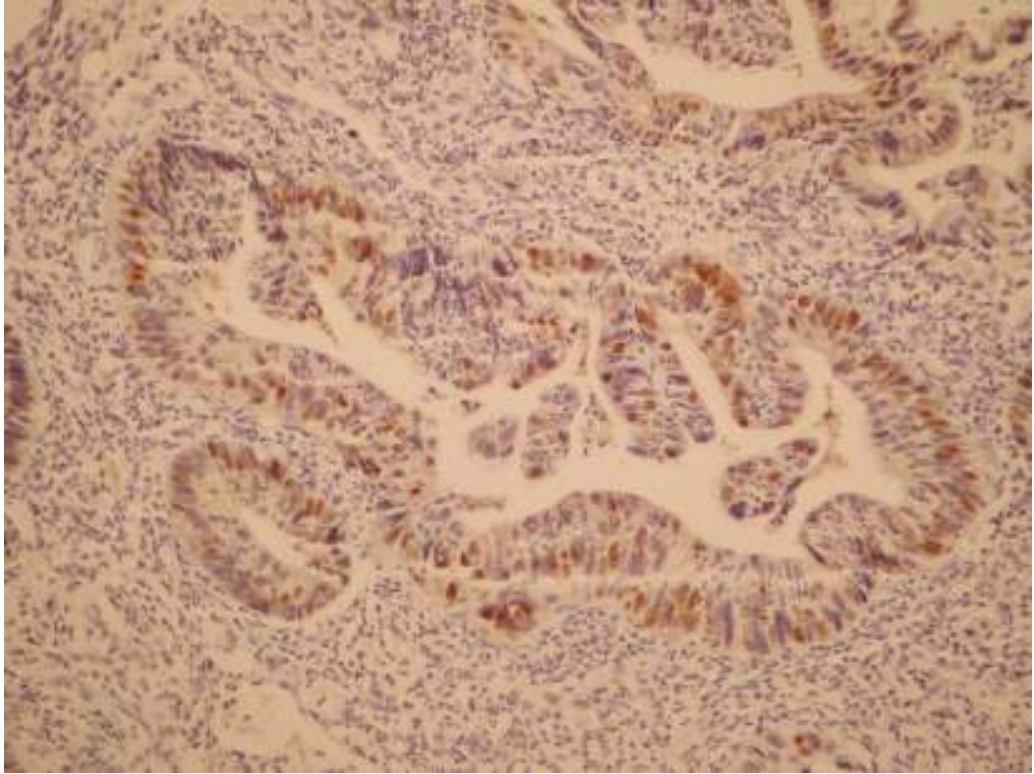
Ek 1. Kanser Ghrelin



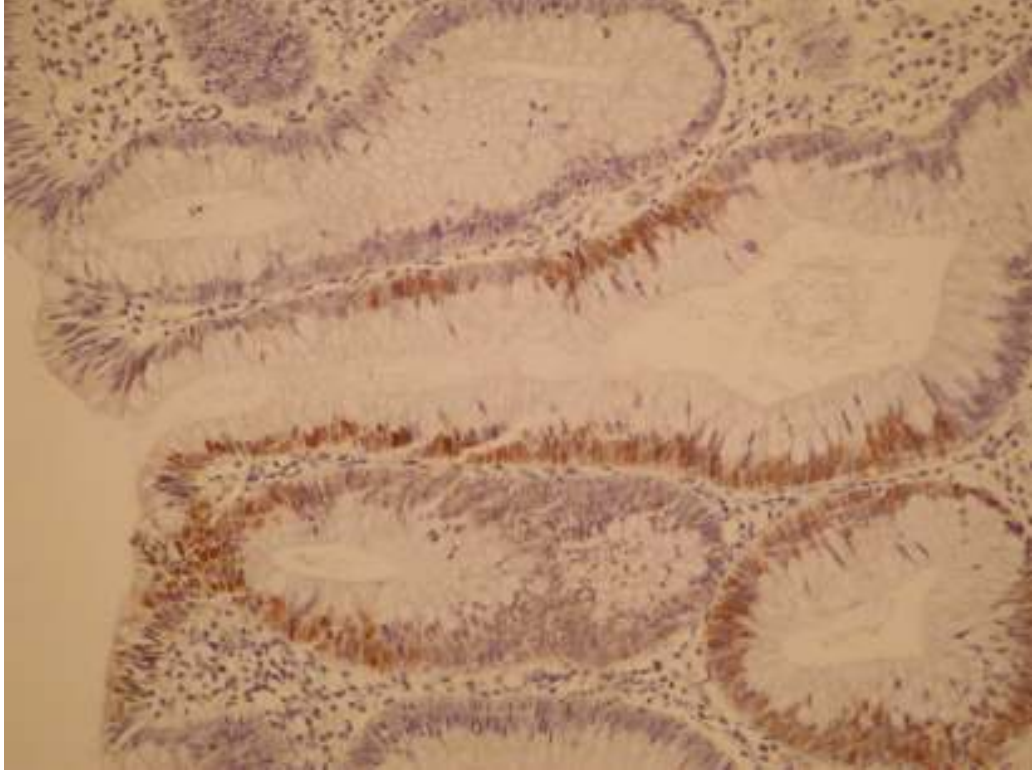
Ek 2. Polip Ghrelin



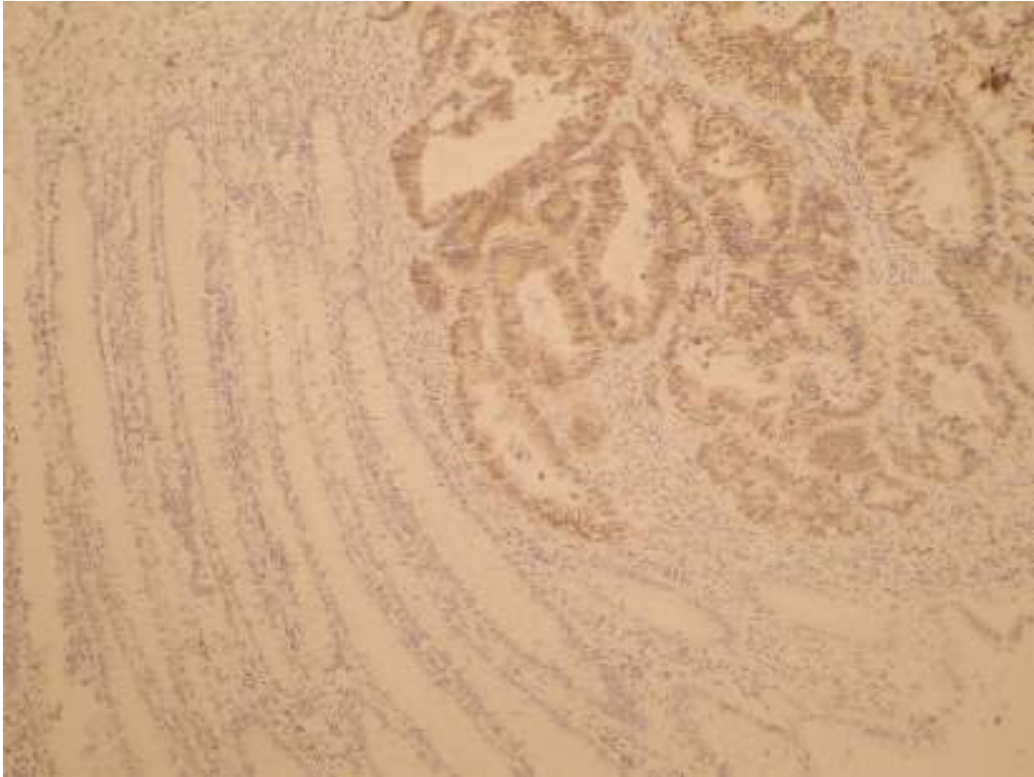
Ek 3. Normal Mukozanın Ghrelin Boyaması



Ek 4. Kanser P53



Ek 5. Polip P53



Ek 6. Normal Mukoza P53 Boyaması

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Nilüfer OĞUZHAN'a ait "Kolon Kanseri ve Poliplerinde Ghrelin ve P53'ün Değeri" adlı çalışma, jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:

İmza

Başkan ... *Prof. Dr. F. İsmail Bayraktar* İmza

Üye..... *Prof. Dr. Ali Kemal* İmza

Üye..... *Prof. Dr. Oktay Aydın* İmza

Üye..... *Doç. Dr. İlhan Gürsoy* İmza

Üye..... *Yard. Doç. Dr. Ali DOĞAN* İmza