

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. YILDIZ DİNÇER

**KOLON KANSERLİ HASTALARDA PRE VE POST-
OPERATİF SERUM c-erbB-2 ONKOPROTEİNİ VE
BÜYÜME FAKTÖRLERİ DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
DR. EYLEM EFE KOÇ

İSTANBUL – 2010

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim süresince bana biyokimyayı sevdiren, bilgisiyle aydınlandığım, güven duyduğum, etkileyici tarzı ve prensipli duruşu ile de her zaman örnek almak isteyeceğim saygı değer hocam, Anabilim Dalı Başkanımız, Sayın Prof. Dr. Gülden Burçak'a,

Tezimin hazırlanmasında bana yol gösteren ve katkılarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Yıldız Dinçer'e

Çalışma arkadaşlarıma ve bana her zaman nezaketle yaklaşan Sayın Prof. Dr. Safiye Kaya'ya,

Eğitimimde emeği bulunan öncelikle Sayın Prof. Dr. Dildar Konukoğlu olmak üzere tüm saygı değer hocalarıma,

Her birini tanımaktan büyük mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarıma ve diğer çalışma arkadaşlarıma,

İş disiplini ve etik anlayışını taktir ettiğim, tezime en büyük katkılardan birini sağlayan başta Genel Cerrah Uzm. Dr. Yeliz Emine Ersoy olmak üzere Uzm. Dr. Yusuf Erzin'e, Uzm. Dr. Adem Karataş'a, Dr. Fırat Yalnız'a, Hemşire Ebru Kırbıyık'a ve tezimin tamamlanmasında emeği bulunan tüm değerli çalışanlara,

Varlığımı ve hayata bakışımı borçlu olduğum, koşulsuz desteğini her zaman yanımda hissettiğim canım anneme, babama ve ablama,

En zor anlarımda sırtına yaslandığım, desteğiyle bana güç veren, yaşantıma güzellik katan sevgili eşim ve tatlı kızım Karya'ya

Teşekkür ederim...

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği tarafından desteklenmiştir. Proje no: 2161

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	iii
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
GRAFİKLER LİSTESİ.....	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. KARSİNOGENEZ	2
2.1.1. Hücre Döngüsü ve Kontrolü	4
2.2. EGF (EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ).....	9
2.2.1. EGF'nin Yapısal Özellikleri ve Fonksiyonları	10
2.2.2. EGF Sinyalizasyonu	12
2.2.3. EGFR Yıkımı	13
2.2.4. Hücrel İşlevlerin EGF ile Kontrolü.....	13
2.3. c-erbB-2 (HER-2 / neu).....	15
2.3.1. c-erbB-2 İsimlendirmesi ve Yapısal Özellikleri	15
2.3.2. c-erbB-2 Sinyal İletim Ağı	16
2.3.3. c-erbB-2 ve Kanser.....	17
2.4. TGF β 1 (DÖNÜŞTÜRÜCÜ BÜYÜME FAKTÖRÜ BETA-1).....	19
2.4.1. TGF β 1 Fonksiyonları	19
2.4.2. TGF β Reseptörleri ve Sinyal İletimi	19
2.4.3. Smad Alt Grupları ve Fonksiyonları	21
2.4.4. Kanserde TGF β Reseptör Mutasyonları.....	21
2.4.5. Kanserde Smad Mutasyonları	22
2.5. IGF-I (İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ-I)	23
2.5.1. IGF'lerin Yapısı ve Moleküler Biyolojisi	23
2.5.2. IGF Reseptörleri (IGFR)	23
2.5.3. IGF Bağlayıcı Proteinler (IGFBP)	24
2.5.4. IGF'nin Fizyolojisi ve Etkileri.....	25

2.5.5. IGF-I ve Kanser	25
2.6. KOLOREKTAL KARSİNOGENEZ.....	27
2.6.1. Kolorektal Kanserde Tanımlanan Genetik Yollar	30
2.7. EPİDEMİYOLOJİ	32
2.8. ETİYOLOJİ.....	32
2.8.1. Yaş	32
2.8.2. Çevresel Faktörler	32
2.8.3. Diyet	33
2.8.4. Sigara.....	33
2.8.5. Alkol.....	33
2.8.6. Enflamatuvar Bağırsak Hastalıkları	33
2.8.7. Pelvik Radyasyon.....	33
2.8.8. Genetik Risk Faktörleri	33
2.8.9. Endokrin Faktörler	33
2.8.10. Üreterosigmoidostomi.....	34
2.9. KALITSAL KOLOREKTAL KANSERLER.....	34
2.9.1. FAP (Familyal Adenomatöz Polipozis)	34
2.9.2. Gardner Sendromu	34
2.9.3. Turcot Sendromu.....	34
2.9.4. AFAP (Azaltılmış Familyal Adenomatöz Polipozis).....	34
2.9.5. Herediter Polipozis Dışı Kolon Kanseri (HNPCC veya Lynch Sendromu).....	34
2.9.6. Familyal Kolorektal Kanseri.....	35
2.10. PROGNOTİK FAKTÖRLER.....	35
2.10.1. Morfoloji	35
2.10.2. Histolojik Tip.....	35
2.10.3. Tümörün Grade'i	37
2.10.4. Tümörün Evresi	37
2.10.5. Lenf Nodu Metastazı.....	40
2.10.6. Anjiyogenez.....	40
2.10.7. Yaş	40
2.10.8. Cinsiyet	40
2.10.9. Tümör Lokalizasyonu	40

2.10.10.	Vasküler İnvazyon.....	40
2.10.11.	Perinöral İnvazyon	41
2.10.12.	Enflamatuvar Yanıt	41
2.10.13.	Rezeksiyon Sınırı	41
2.10.14.	Radiyal Sınır	41
2.10.15.	Genetik Belirteçler	41
2.10.16.	Tümörün Boyutu	41
2.10.17.	DNA Ploidisi.....	41
2.10.18.	CEA (Karsino Embriyonik Antijen) Düzeyi	42
2.10.19.	CA 19-9 (Karbonhidrat Antijen 19-9) Düzeyi.....	42
2.11.	POLİPLER	42
2.11.1.	Neoplastik Olmayan Polipler	43
2.11.2.	Neoplastik Polipler.....	44
3.	GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	46
3.1.	KONTROL VE HASTA GRUPLARININ ÖZELLİKLERİ	46
3.2.	GEREÇLER	47
3.3.	YÖNTEMLER	47
3.3.1.	Serum EGF Düzeyinin Ölçümü	47
3.3.2.	Serum IGF-I Düzeyinin Ölçümü.....	50
3.3.3.	Serum TGF β 1 Düzeyinin Ölçümü	52
3.3.4.	Serum c-erbB-2 Düzeyinin Ölçümü.....	55
3.3.5.	İstatistiksel Değerlendirme	58
4.	BULGULAR.....	59
5.	TARTIŞMA	82
6.	ÖZET.....	94
7.	SUMMARY	95
8.	KAYNAKLAR	96

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. EGFR ailesi ve ligandları	11
Tablo 2.2. Kolorektal karsinomlar için WHO sınıflaması	35
Tablo 2.3. 1932 Dukes evrelemesi	38
Tablo 2.4. 1936 Dukes evrelemesi	38
Tablo 2.5. Astler-Coller evrelemesi.....	38
Tablo 2.6. Kolorektal kanserlerde TNM tanımlaması	39
Tablo 2.7. Kolorektal kanserlerde TNM sınıflaması ve 5 yıllık sağ kalım.....	40
Tablo 4.1. Kontrol grubunda demografik veriler ve tümör belirteçleri düzeyleri....	611
Tablo 4.2. Kolorektal polipli benign grupta demografik veriler, tümör belirteçleri ve tümör karakteristikleri.....	622
Tablo 4.3. Kolorektal kanserli malign grupta demografik veriler, tümör belirteçleri ve tümör karakteristikleri.....	633
Tablo 4.4. Kolorektal polipli benign grup ve kolorektal kanserli malign grupta tümör lokalizasyonuna göre dağılım.....	64
Tablo 4.5. Kolorektal polipli benign grupta tümör histolojisine göre dağılım	64
Tablo 4.6. Kolorektal kanserli malign grupta tümör histolojisine göre dağılım	64
Tablo 4.7. Kolorektal kanserli malign gruptaki hastaların, hastalığın patolojik verilerine göre dağılımı.....	644
Tablo 4.8. Kontrol grubunda, cinsiyet farkı ve sigara kullanımı bakımından serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeyleri.....	65
Tablo 4.9. Kontrol grubu, kolorektal polipli benign grup ve kolorektal kanserli malign gruba ait VKİ ve preoperatif serum CEA ve CA19-9 düzeyleri.....	66

Tablo 4.10. Kontrol grubu ile kolorektal polipli benign grup ve kolorektal kanserli malign gruba ait preoperatif serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeyleri	67
Tablo 4.11. Kontrol grubu ile kolorektal polipli benign grup ve kolorektal kanserli malign gruba ait postoperatif serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeyleri.....	71
Tablo 4.12. Kolorektal kanserli malign grupta tümör çapı, klinik evre, lenfatik invazyon ve invazyon derinliğine göre preoperatif serum EGF, IGF-I, TGF β ve c-erbB-2 düzeylerinin değerlendirilmesi	73
Tablo 4.13. Kolorektal kanserli malign grupta preoperatif CEA ve CA19-9 düzeylerinin tümör çapı, klinik evre, lenfatik invazyon ve invazyon derinliğine göre değerlendirilmesi	74
Tablo 4.14. Kolorektal kanserli malign grupta tümör çapı, klinik evre, lenfatik invazyon ve invazyon derinliğine göre serum EGF, IGF-I, TGF β ve c-erbB-2 düzeylerindeki postoperatif değişimler.....	75
Tablo 4.15. Kontrol grubunda serum parametreleri ile demografik faktörler arasındaki korelasyon katsayı değerleri (r) ve istatistiksel anlamlılık sonuçları	76
Tablo 4.16. Kolorektal polipli benign vaka grubunda serum parametreleri ile demografik faktörler ve tümör çapı arasındaki korelasyon katsayı değerleri (r) ve istatistiksel anlamlılık sonuçları	78
Tablo 4.17. Kolorektal kanserli malign vaka grubunda serum parametreleri ile demografik faktörler ve tümör çapı arasındaki korelasyon katsayı değerleri (r) ve istatistiksel anlamlılık sonuçları	79
Tablo 4.18. EGF, TGF β 1, IGF-I cut off değerleri ve bazı istatistiksel veriler.....	811

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Hücre siklus düzenlenmesinde siklinler, CDK ve CDKI.....	6
Şekil 2.2. Büyüme faktörü etki mekanizması.....	8
Şekil 2.3. Kanserin karakteristik özellikleri.....	9
Şekil 2.4. EGF sinyal yolu	12
Şekil 2.5. EGF'nin karsinogenezde etkileri	14
Şekil 2.6. c-erbB-2'nin, c-erbB ailesinin diğer üyeleriyle etkileşimi ve etkileri.....	17
Şekil 2.7. TGF- β sinyal yolu	20
Şekil 2.8. IGF-I sinyal yolu	24
Şekil 2.9. Fearon ve Vogelstein' in kolorektal karsinom gelişim modeli.....	27
Şekil 2.10. WNT sinyal yolu ve APC'nin, β katenin fonksiyonundaki rolü.....	29
Şekil 2.11. Adenom-karsinom sekansında morfolojik ve moleküler olaylar.....	30
Şekil 2.12. Kolorektal karsinogenezde MSI yolundaki morfolojik, moleküler olaylar	31

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 3.1 EGF Standart Eğrisi.....	49
Grafik 3.2 IGF-I Standart Eğrisi.....	52
Grafik 3.3 TGF β 1 Standart Eğrisi.....	55
Grafik 3.4 c-erbB-2 Standart Eğrisi.....	57
Grafik 4.1 Kolorektal polipli benign ve kolorektal kanserli malign gruplarda EGF'nin preoperatif ve postoperatif düzeyleri	68
Grafik 4.2 Kolorektal polipli benign ve kolorektal kanserli malign gruplarda IGF-I'in preoperatif ve postoperatif düzeyleri	69
Grafik 4.3 Kolorektal polipli benign ve kolorektal kanserli malign gruplarda TGF β 1'in preoperatif ve postoperatif düzeyleri.....	70
Grafik 4.4 Kolorektal polipli benign ve kolorektal kanserli malign gruplarda c-erbB-2'nin preoperatif ve postoperatif düzeyleri	70
Grafik 4.5 Kontrol grubunda VKİ-Yaş korelasyonu	76
Grafik 4.6 Kontrol grubunda IGF I-EGF korelasyonu	77
Grafik 4.7 Kontrol grubunda TGF β 1-EGF korelasyonu.....	77
Grafik 4.8 Benign grupta TGF β 1-VKİ korelasyonu.....	78
Grafik 4.9 Benign grupta Tümör Çapı-IGF I korelasyonu	79
Grafik 4.10 Malign grupta CA 19 9-CEA korelasyonu	80
Grafik 4.11 Malign grupta Tümör Çapı-TGF β 1 korelasyonu	80
Grafik 4.12 Serum preoperatif EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 değerleri baz alınarak çizilen ROC eğrileri.....	81

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AFAP	: Azaltılmış familyal adenomatöz polipozis
AJCC	: Amerikan Birleşik Kanser Komisyonu (American Joint Committee on Cancer)
APC	: Adenomatöz polipozis koli
ASCO	: Amerikan Klinik Onkoloji Derneği (American Society of Clinical Oncology)
BMP	: Kemik morfojenik protein
CA 19-9	: Karbonhidrat antijen 19-9
CAP	: Amerikan Patologları Derneği (College of American Pathologists)
CDK	: Siklin bağımlı kinaz
CDKIs	: Siklin bağımlı kinaz inhibitörleri
CDK-S	: Siklin bağımlı kinaz-siklin kompleksi
CEA	: Karsino embriyonik antijen
CI	: Kromozomal instabilite
DCC	: Deleted in colon carcinoma
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
EGFR vIII	: EGFR varyant III
EMT	: Epitelyal-mezenkimal geçiş
FAP	: Familyal adenomatöz polipozis
GH	: Büyüme hormonu
HRP	: Horseradish peroksidaz
HNPCC	: Herediter polipozis dışı kolorektal kanser
IAPs	: Apoptoz proteinleri inhibitörleri
IGF-I	: İnsülin benzeri büyüme faktörü I
IGFBP	: IGF bağlayan protein

IGF-IR	: IGF-I reseptörü
IGF-IIR	: IGF-II reseptörü
LAP	: Latentlikle ilişkili protein
LOH	: Heterozigosite kaybı
LTBP	: Latent TGF β bağlayan protein
MAPK	: Mitojen aktive eden protein kinaz
MMP-9	: Matriks metalloproteinaz-9
MSI	: Mikro satellit instabilite
NGF	: Sinir büyüme faktörü
NPD	: Negatif prediktif değer
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PGE₂	: Prostaglandin E2
PGI₂	: Prostaglandin
PPD	: Pozitif prediktif değer
TGF α	: Dönüştürücü büyüme faktörü alfa
TGF β	: Dönüştürücü büyüme faktörü beta
TβR-I	: TGF β reseptörü tip I
TβR-II	: TGF β reseptörü tip II
TMB	: Tetra metil benzidin
UICC	: Uluslararası Birleşik Kanser Merkezi (Union International Centre Le Cancer)
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü
VKİ	: Vücut kütle indeksi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gastrointestinal traktusun en sık rastlanılan kanseri olan kolorektal kanserler değişik coğrafi topluluklar arasında farklı sıklıkta görülse de en sık görülen kanserler arasında dördüncü sırada yer almaktadır (1).

Son yıllarda, kanser çalışmaları kanserin moleküler mekanizmalarının araştırılması üzerinde yoğunlaşmıştır. Tüm bu çalışmalar kolon kanserinin tedavisine bir miktar katkı sağlasalar bile, hedefe yönelik tedavinin gelişimi açısından başarı sağlayamamıştır. Ancak son yıllarda yapılan birçok çalışma büyüme faktörlerinin kolorektal karsinogenezde önemli rolleri olduğunu ortaya koymuştur. Normal hücreler belli uyarılar tarafından gönderilen spesifik sinyaller sonucu bölünür. Bu uyarılar büyüme faktörleri ve sitokinlerdir. Sitokinler hücrelerel düzenleyici proteinlerdir. Öncelikle hücre bölünmesi ve farklılaşmanın kontrolü olmak üzere hematopoez, bağışıklık sisteminin regülasyonu, yaraların iyileşmesi, kemik formasyonu ve hücrelerel metabolizmanın değiştirilmesi gibi biyolojik olaylarda rol oynarlar. Farklı dokular tarafından, belli uyarıcılara karşı salgılanırlar. Sitokinlerin hücre bölünmesi üzerindeki pozitif ve negatif etkileri hücre tipine göre değişir. Etkileri otokrin, parakrin veya sistemiktir. Sitokinlerin fonksiyonel özelliklerine ve etki mekanizmalarına göre yapılan sınıflandırmada büyüme faktörleri ve TGF β , gruplardan ikisini oluşturmaktadır. Belli bir hücrenin yüzeyindeki reseptörler bu hücrenin hangi faktörlere cevap vereceğini belirlerler.

Büyüme faktörleri veya büyüme faktörlerinin sinyal iletim mekanizmasında yer alan proteinleri kodlayan genlerde oluşan kalıcı değişikliklerin birikimi büyüme üzerindeki kontrolün kaybolmasına ve hücrenin hızla çoğalarak bir tümör hücresine dönüşmesine neden olmaktadır. Pek çok tümör hücresinde büyüme faktörleri veya analogları sentezlenmektedir (2).

Bu çalışmada kolon kanserli ve benign kolon tümörlü hastalarda dolaşımda çözünebilir c-erbB-2 onkoproteini, EGF, IGF-I ve TGF β 1 düzeylerinin ölçülmesi, bu parametrelerin klinik evre, histolojik grade, lokal invazyon ve metastaz ile ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu büyüme faktörlerinin prognostik birer belirteç olup olmadığına ve adenokarsinomlarda tedavinin hedefi olarak belirlenip belirmeyeceğine dair veriler elde edilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KARSİNOGENEZ

Karsinogenezin temelinde ölümcül olmayan genetik hasar vardır. İncelenen tümörlerin çoğunda görülmüştür ki, tümör kitlesi genetik hasara uğrayan tek bir öncü hücrenin çoğalmasıyla oluşmaktadır. Yani tümörler çoğunlukla monoklonaldır. Bununla birlikte zamanla heterojenite kazanırlar.

Genetik hasar dört gen sınıfındaki çoğunluğu mutasyon şeklinde olan değişimler sonucu oluşmaktadır. Bu düzenleyici genler dört grupta toplanırlar:

- A)-Büyüme uyarıcı protoonkogenler
- B)-Büyüme inhibe eden tümör baskılayıcı genler
- C)-DNA onarım genleri
- D)-Apoptozu düzenleyen genler

A) *Protoonkogenler:*

Protoonkogenler normal hücre büyümesi ve diferansiasyonda önemli rolleri olan hücre genleridir. Protoonkogenler büyüme faktörlerinin sinyal iletiminde görev alan tüm proteinleri (reseptörler, sitoplazmik proteinler, transkripsiyon faktörleri) kodlayan genlerdir. Çeşitli mekanizmalarla karsinojenik forma dönüştüklerinde onkogen adını alırlar. Protoonkogenlerin mutasyona uğraması, genin dolayısıyla gen ürününün değişmesine neden olur. Bu da proliferasyon ve diferansiasyon gibi hücrenin fizyolojik aktivitelerinde bozulmalarla birlikte hücre bölünmesinde kontrolün kaybolması ve malign oluşumlarla sonuçlanır.

Protoonkogenlerin onkogenlere dönüşüm mekanizmaları:

-DNA dizilerindeki tek bir bazın değişmesi veya eklenmesiyle ortaya çıkan nokta mutasyonu: En iyi bilinen örneği ras protoonkogeninin nokta mutasyon ile sürekli aktif ras onkogenine dönüşmesidir.

-Kromozomal translokasyon veya delesyon sebebiyle oluşan kromozomal yeniden düzenlenme: Genellikle protoonkogenlerin aşırı ekspresyonu ile sonuçlanır.

-Bir genin çok sayıda kopyasının yapılmasıyla karakterize gen amplifikasyonu

-İnsersiyonal mutagenез: Retroviral genomun bir parçasının hücre genomu ile kaynaşması sonucu kaynaştığı bölgedeki gen için promotör fonksiyon göstererek genin aktivasyonuna neden olması.

Protoonkogenler hücre seviyesinde dominant etkiye sahiptirler. Malign transformasyon için protoonkogenin tek bir allelinin mutasyona uğraması yeterlidir.

Bazı hücrelerde embriyogenez, büyüme ve doku onarımı sırasında proliferasyon, anjiyogenez ve doku invazyonu gereklidir. Ancak bu süreçlerin fizyolojik kontrolleri için sınırlayıcı mekanizmalar da mevcuttur.

B) Tümör baskılayıcı genler

Büyüme inhibisyonuna neden olan sinyal yolları, büyüme uyarısı yapanlardan daha az açıklığa kavuşmuştur. Mitojenik sinyale benzer şekilde, büyümeyi inhibe eden sinyaller hücre dışından kaynaklanır, reseptör, sinyal ileticileri ve transkripsiyon düzenleyicileri kullanarak etkilerini gösterirler. Tümör baskılayıcı genler bu büyümeyi inhibe eden yolun değişik bileşenlerini kodlarlar. Bu genlerin kaybı veya inaktivasyonu karsinogenezde büyük önem taşımaktadır. Tümör baskılayıcı genlerin mutasyonları çekinik karakterdedir. Kanser hücrelerine dönüşüm için her iki allelin de mutasyona uğraması gereklidir.

Tümör baskılayıcı genlerden ilk belirlenen Rb (retinoblastom) genidir. Çocukluk çağıının nadir bir tümörü olan retinoblastomun incelenmesiyle bulunmuştur. Bununla birlikte günümüzde meme kanseri, akciğer kanseri, özofagus kanseri gibi çeşitli tümörlerle ilişkili olduğu tespit edilmiştir (3).

Hücre büyümesinin kontrolünde görev alan bir diğer protein p53'tür. p53'ün normal alleli, hücrelerin G1 evresinden S evresine geçişini düzenleyen bir tümör baskılayıcı gendir (4). Tüm kanserlerin %50'sinde mutant olduğu görülmektedir. p53 proteininin hücre fonksiyonlarındaki rolü; gen transkripsiyonu, DNA sentez ve tamiri, genetik stabilitenin korunması, hücre siklusunun duraklatılması, büyümeyi sonlandırma ve programlı hücre ölümüdür (5). Esas olarak p53 strese uğrayan hücreyi uygun cevaba yönlendiren santral stres monitörü olarak görev yapar.

C) DNA onarım genleri

Hasarlı DNA'nın onarımında görev alan proteinleri kodlayan genler daha önceleri tümör baskılayıcı genler sınıfına dahil edilmekteydi. Ancak son zamanlarda karsinogenezde sorumlu olan ayrı bir gen ailesi olarak tanımlanmaktadır. Bu büyük gen ailesi endojen veya çevresel kaynaklı DNA hasarının onarımından ve genomik bütünlüğün sağlanmasından sorumludur. DNA onarım genlerinin fonksiyonel kaybı, protoonkogenler ve tümör baskılayıcı genler de dahil olmak üzere pek çok gende mutasyon hızının artmasına neden olmaktadır. Yanlış baz eşleşmesinin onarımından

sorumlu genlerdeki mutasyonların kolorektal karsinogenezdeki rolü açıkça gösterilmiştir (6).

D) Apoptozu düzenleyen genler:

Apoptoz genetik olarak düzenlenen programlı hücre ölümüdür. Apoptoz embriyonik gelişme sürecinde, immun sistemin kontrolünde, yaşamsal fonksiyonunu yitiren hücrelerin eliminasyonunda görev alan fizyolojik bir mekanizmadır. Apoptozu uyaran düzenleyici mekanizmalar aynı zamanda hücre döngüsünü düzenleyen bazı proteinleri de içermektedir. Apoptoz, hücrelerde mitozun aşırı hasarlı DNA ile devam etmesini engelleyen temel mekanizma olduğundan, apoptotik süreçte yer alan proteinleri kodlayan genlerdeki defektler karsinogenezde son derece kritik önem taşırlar.

Apoptozun başlatıcıları kaspaz adı verilen proteaz ailesidir. İki temel moleküler ara yol kaspazlar üzerinden apoptozu uyarır; bunlar mitokondriyal ara yol ve ölüm reseptörü ara yoludur.

Mitokondriyal membranların geçirgenliği apoptotik işlemlerin başlayıp başlamayacağını belirler. Düzenleyici proteinlerin Bcl-2 ailesi proapoptotik proteinler (Bax, Bad, Bak) ile antiapoptotik proteinleri (Bcl-2, Bcl-xL) içerir. Bcl-2 proteininin aktivasyonu mitokondride gerçekleşir ve membran geçirgenliğini düzenler. Büyüme faktörleri PI3-K/Akt sinyal yolu üzerinden proapoptotik Bad'ı inaktive ederler (7).

Ölüm reseptörü ara yolunda görevli ölüm reseptörlerine ligandlar bağlandığında (Fas-FasL gibi) apoptoz sinyali başlamış olur. Apoptoz proteinleri inhibitörleri (IAPs) bu iki ara yolu da inhibe etme özelliğine sahiptirler.

2.1.1. Hücre Döngüsü ve Kontrolü

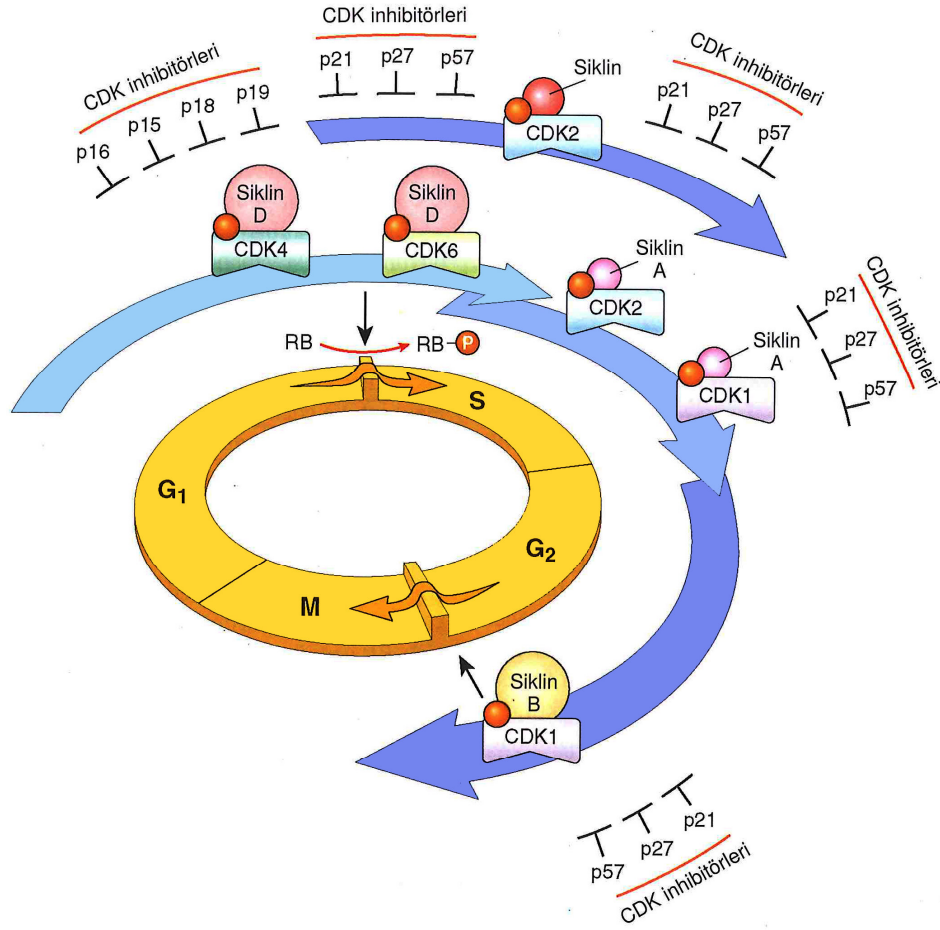
Normal hücreler belli uyaranlar tarafından gönderilen spesifik sinyaller sonucu bölünürler. Bu uyaranlar protoonkogenler tarafından kodlanan büyüme faktörleri ve sitokinlerdir. Sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin fonksiyonları hücre tipine göre değişmektedir. Örneğin TGF β (dönüştürücü büyüme faktörü beta) normal insan melanositlerinin büyümesini inhibe ederken melanoma hücrelerinde daha az etki gösterir (8).

Hücre büyümesi birbirini izleyen fazlardan oluşan döngülerle gerçekleşir.

- *G0 fazı (dinlenme fazı)*: İki bölünme arasındaki sessiz dinlenme evresidir. Hücreler genellikle spesifik bir işlevi görmek üzere programlanırlar.
- *G1 fazı (interfaz)*: Spesifik hücre fonksiyonları için gereken proteinler ve RNA sentezlenir.
- *S fazı (DNA sentezi fazı)*: Hücre içindeki DNA'nın miktarı ikiye katlanır.
- *G2 fazı*: Bu mitoz hazırlık fazında DNA sentezi durur, protein ve RNA sentezi devam eder.
- *M fazı (mitoz)*: Protein ve RNA sentez hızı aniden yavaşlar, genetik materyal oluşan iki yeni hücreye dağılır. Mitozu takiben oluşan yeni hücreler ya G0 ya da G1 fazına girerler.

Diferansiasyon ya da hasar nedeniyle bölünme yeteneğini kaybetmiş hücrelerle birlikte birçok yetişkin dokudaki hücreler bölünmeyen durumdadır. Bu faz hücre döngüsünün G0 fazı olarak adlandırılır. Bölünen hücreler interfaz (G1, S, G2) ve M fazlarından geçerler. Döngü içindeki ilerleme, kontrol noktaları olarak bilinen intrinsik kontrol mekanizmaları ile sağlanır. Kontrol noktaları hasarlı hücrenin DNA replikasyonu veya mitozunu engeller ve geçici olarak hücre siklusunu durdurarak DNA onarımına olanak tanır ya da geri dönüşsüz olarak hasarlı hücrenin apoptoz ile ölümüne neden olur. Hücre döngüsünün denetlendiği bu noktalar: G1 kısıtlama noktası, G1/S döngüye giriş ve G2/M ilerleme noktalarıdır (7). Denetleme bazı düzenleyici moleküllerin sentezi, yıkımı, fosforilasyonları ve defosforilasyonları ile yapılır. Bu moleküllerden bazıları büyüme faktörleri (EGF, IGF...), döngü inhibitörleri (Rb, p53, TGF β ...), siklinler ve siklin bağımlı kinazlardır (CDK).

Hücre siklusu yapım ve yıkımı siklik tabiatta olduğu için siklin olarak adlandırılan proteinlerin bağlanması ile aktive olan CDK ile düzenlenir (7) (şekil 2.1).



Şekil 2.1 Hücre siklus düzenlenmesinde siklinler, CDK ve CDKI

CDK-siklin kompleksi Rb proteinini gibi hedef proteinleri fosforile eder ve hücre siklusunu ilerletir. Bu görevin tamamlanması ile hızla siklin düzeyi düşer.

Siklin D-CDK4, siklin D-CDK6 ve siklin E-CDK2 G1-S geçişini düzenlerken, siklin A-CDK2 ve siklin A-CDK1 S fazında aktiftir. Siklin B-CDK1 G2-M geçişini düzenler.

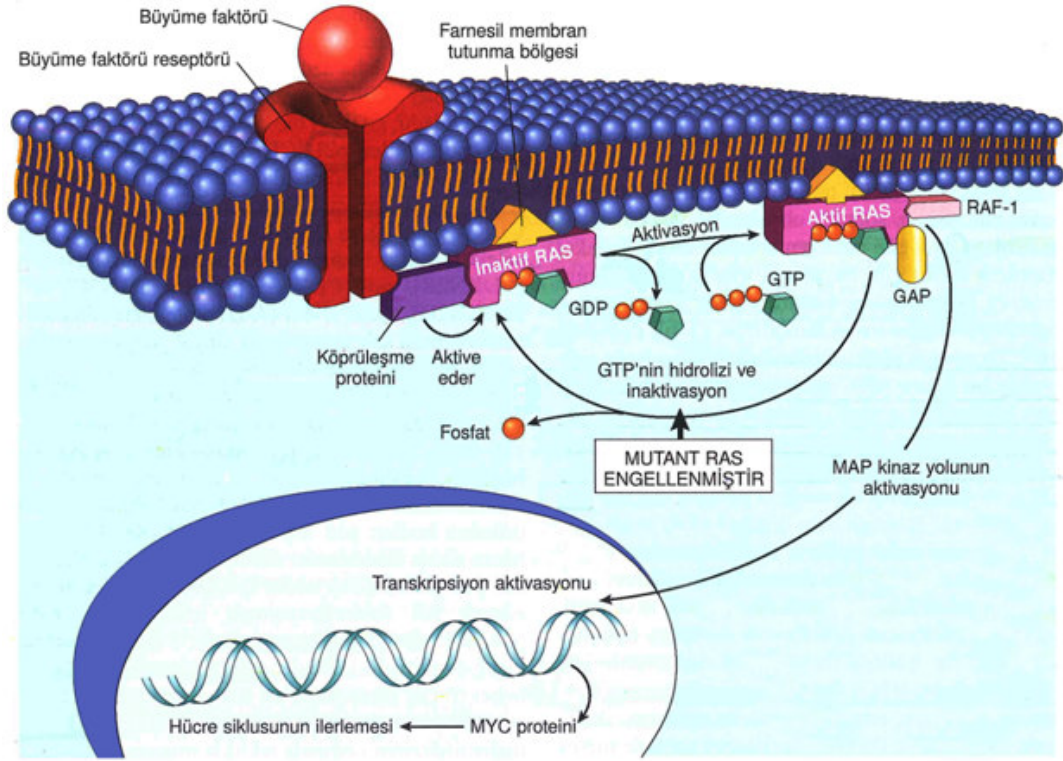
CDKIs (siklin bağımlı kinaz inhibitörleri) ise CDK-S (siklin bağımlı kinaz-siklin kompleksi) aktivitesini inhibe ederek hücre siklusunun ilerlemesini önler. P21, p27 ve p57'den oluşan bir CDKIs ailesi tüm CDK-S'leri inhibe edebilir (7).

Rb gen ürünü hemen her hücreden salınan, G1 fazından S fazına geçişini kontrol eden E2F adlı transkripsiyon faktörüne bağlanarak onu inhibe eden bir proteindir. Fosforile olduğunda inaktif, hipofosforile olduğunda aktif halde bulunur. Rb proteinini bu mekanizma ile hücre siklusunun G1-S geçişini kontrol ederek antiproliferatif etki

gösterir. Hemen hemen bütün kanserler, Rb fonksiyonunu etkileyen siklin D, CDK4 ve CDKIs gibi genlerin mutasyonu nedeniyle G1 kontrol noktasında bozuklukla birlikte dir.

G0 durumundaki hücrelerin G1 fazına geçmesi ve hücre döngüsünü tamamlaması için bir çok genin ekspresyonu gereklidir. Bu genlerin regülasyonu büyüme faktörlerine duyarlı protoonkogenlerin aktive edilmesiyle gerçekleştirilir. Çoğu kez hücre bölünmesi birden fazla büyüme faktörünü gerektirir (9).

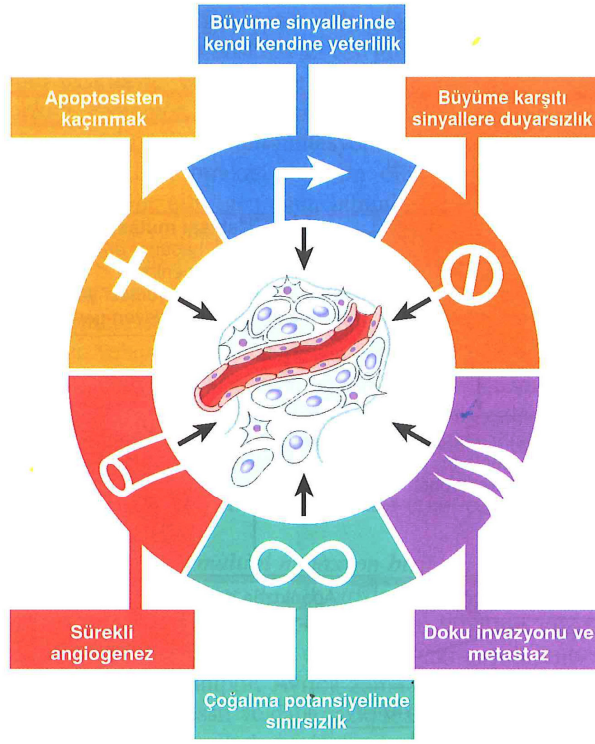
Hücre büyümesi, büyüme faktörünün hücre yüzeyinde bulunan spesifik reseptörüne bağlanmasıyla başlar. Büyüme faktörünün bağlanması ile reseptör dimerize olur ve reseptör-ligand kompleksi oluşur. Reseptörün dimerizasyonunu reseptör otofosforilasyonu takip eder ki bu fosforilasyon sitozolik proteinlerin bağlanması için bölge oluşturur. Reseptör-ligand kompleksi dimerize ve fosforile olduktan sonra köprü proteinlere bağlanır bunu takiben hücre membranının iç yüzünde bulunan ve protoonkoprotein olan ras proteinini aktive eder. Ras proteininin GTPaz aktivitesi vardır. GDP bağlı iken inaktif olan ras proteini, GTP bağladığında aktif hale gelir. Aktive olan ras proteini, raf'a bağlanır bu da MAPK (mitojen aktive eden protein kinaz) uyarı sistemini aktive ederek uyarının nükleusa iletilmesini sağlar. Uyarı nükleusa ulaştınca transkripsiyon faktörleri olan c-fos ve c-jun fosforilasyona uğrar. Bu uyarılarla DNA sentezi başlar ve hücrenin, siklusun S fazına girmesi sağlanır (7) (şekil 2.2).



Şekil 2.2 Büyüme faktörü etki mekanizması

Tek bir genin mutasyonu kanser oluşumu için yeterli değildir. Karsinogenez, çok sayıda gende mutasyon birikimi sonucu kansere özgü fenotipik ve genetik değişikliklerin oluşumuyla çok basamaklı olarak gerçekleşir. Her kanserde kısmi veya tam olarak aşağıdaki malign fenotipik değişiklikler gözlenmektedir (7) (şekil2.3).

- Büyüme sinyallerinde kendi kendine yeterlilik
- Büyüme inhibisyonu yapan sinyallere duyarsızlık
- Apoptozdan kaçınma
- Sınırsız proliferasyon yeteneği
- Sürekli anjiyogenez
- İnvazyon ve metastaz yeteneği
- DNA tamir defektinden kaynaklanan genomik stabilite kaybı



Şekil 2.3 Kanserin karakteristik özellikleri

KontROLSÜZ proliferasyona sebep olan onkogenler sayesinde kanser hücrelerinin çoğu ihtiyaç duyduğu büyüme faktörlerini kendisi sentezleyebilirler ya da aşırı eksprese olmuş veya mutasyona uğramış büyüme faktörü reseptör proteinleri ile ortamda büyüme faktörü olmasa bile hücreye devamlı mitojenik sinyaller iletirler. Bunlardan meme tümörlerinde aşırı ekspresyonu gösterilen c-erbB-2 onkoproteininin yüksek düzeyleri kötü prognoz göstergesidir.

Ras geni gibi sinyal molekülü kodlayan genlerdeki mutasyon devamlı sinyal iletimiyle kontROLSÜZ proliferasyona neden olur.

Siklin gibi bölünmeyi uyaran genlerin salınımını düzenleyen myc, myb, jun, fos gibi transkripsiyon faktörlerinin onkogenik türleri sürekli proliferasyona neden olurlar.

2.2. EGF (EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ)

Kanser hücresinin proliferasyonu, metastaz yeteneği kazanması ve sağkalımı için EGF'nin sinyal iletim ağlarını aktive etmesi temel unsurlardan biridir.

EGF 1962 yılında Dr. Stanley Cohen tarafından erkek farelerin submandibular bezi ve insan idrarından elde edilmiştir. Stanley Cohen bu başarısından ötürü 1986 yılında Nobel Fizyoloji ve Tıp ödülünü almıştır. Cohen, NGF'yi (sinir büyüme faktörü) izole etmek için yaptığı çalışmalar sırasında elde ettiği maddenin NGF'den farklı etkide olduğunu gözlemlemiştir. Bu maddeyi yeni doğan farelere hergün verdiğiğinde göz kapaklarının erken açıldığını ve dişlerinin erken çıktığını saptamıştır. Bu maddeye, epidermin gelişimini hızlandırdığı için epidermal büyüme faktörü adını vermiştir (10,11).

2.2.1. EGF'nin Yapısal Özellikleri ve Fonksiyonları

EGF'nin tam olarak belirlenmesi ve aminoasit diziliminin ortaya konulması 1972 yılında olmuştur. EGF 53 aminoasitlik 6kDa molekül ağırlığında üç disülfid bağı içeren tek zincirli bir polipeptid olup, birçok vücut sıvısında ve dokuda varlığı gösterilmiştir. EGF; idrarda, mide ve pankreas sıvısında, seminal ve prostat sıvısı, süt ve kan ile duodenumun Brunner bezleri, over, tiroid, özofagus, böbrek, karaciğer ve akciğerde bulunur.

EGF, epitelyal ve mezotelyal kökenli hücrelerde mitojenik etkiye sahiptir. Etkin olduğu hücrelerde iyon alınımını, glikolizi, DNA ve RNA sentezini arttırıcı özelliği vardır (26,27). EGF ile uyarılan hücre, sonuçta DNA sentezi ve hücre bölünmesine yol açan bir dizi olayı başlatır. Hücre döngüsünün denetimi G1 evresinde yapılır. Bu evrede hücre, çevreden aldığı tüm bilgileri toplar, değerlendirir ve büyüme konusunda karar verir. EGF'nin etkisinde yaklaşık 10-24 saat sonra hücre DNA sentezine yol açan hızlı bir biyokimyasal ve fizyolojik sürece girer. Ancak DNA sentezinin oluşumu için, sentez öncesi G0/G1 evresi süresince (8-10 saat) EGF varlığı gereklidir (11).

EGF fetal tavşanlara uygulandığında akciğer gelişimini hızlandırıcı etki gösterir. Annedeki EGF plasentadan geçemez, erişkinde de kan-beyin bariyerini aşamaz (11). Anne sütünde özellikle prematür doğumlarda daha fazla bulunur. Amniyon hücrelerinde PGE2 (Prostaglandin E2) sentezini, endotel hücrelerinde ise PGI2 (prostasiklin) sentezini arttırır. Trombositlerde de varlığı gösterilmiştir.

EGF, tümöral dokuların gelişiminde de etkilidir. Meme tümörü implantasyonu yapılan farelerde, EGF uygulanması tümör gelişimini hızlandırırken, EGF antikorunun verilmesi gelişimi yavaşlatmaktadır.

Normal hücrelerin kanserli hücelere dönüşümünde de etkilidir. EGF varlığında kendi kendine gelişen tümörlerin oluşumunda immünolojik önleyici etki kaybolur. EGF'nin vücuda antijen verilmesinden bir gün önce uygulanması antikor yapımının baskılanmasına neden olur. T_h (yardımcı T) hücreleri EGF'nin asıl hedefleridir. EGF'nin dalak, timus, kemik iliği hücrelerinde DNA sentezini azalttığı gösterilmiştir (11).

EGF hem in vivo hem de in vitro ortamdaki çeşitli hücreler üzerinde bölünme ve diferansiasyonu arttırıcı güçlü bir etkiye sahiptir. EGF'nin hücre yüzeyine lokalize olan reseptörü (EGFR) kanserle ilişkili bulunan ilk hücre yüzeyi reseptördür (12). EGFR yapısal olarak birbirine benzeyen ancak fonksiyonel olarak farklı c-erbB-1 (HER1:EGFR), c-erbB-2 (HER2/neu), c-erbB-3 (HER3), c-erbB-4 (HER4) olarak adlandırılan dört adet reseptörden oluşan reseptör tirozin kinaz ailesinin ilk üyesidir. Tüm bu reseptörler intrinsik tirozin kinaz aktivitesine sahiptirler. Reseptörler ve ligand ilişkileri tablo 2.1'de gösterilmiştir. Bu ligandlardan TGF α (transforme edici büyüme faktörü alfa) insanlarda en yaygın olarak eksprese edilendir ve spesifik olarak EGFR ile etkileşmektedir.

Tablo 2.1. EGFR ailesi ve ligandları

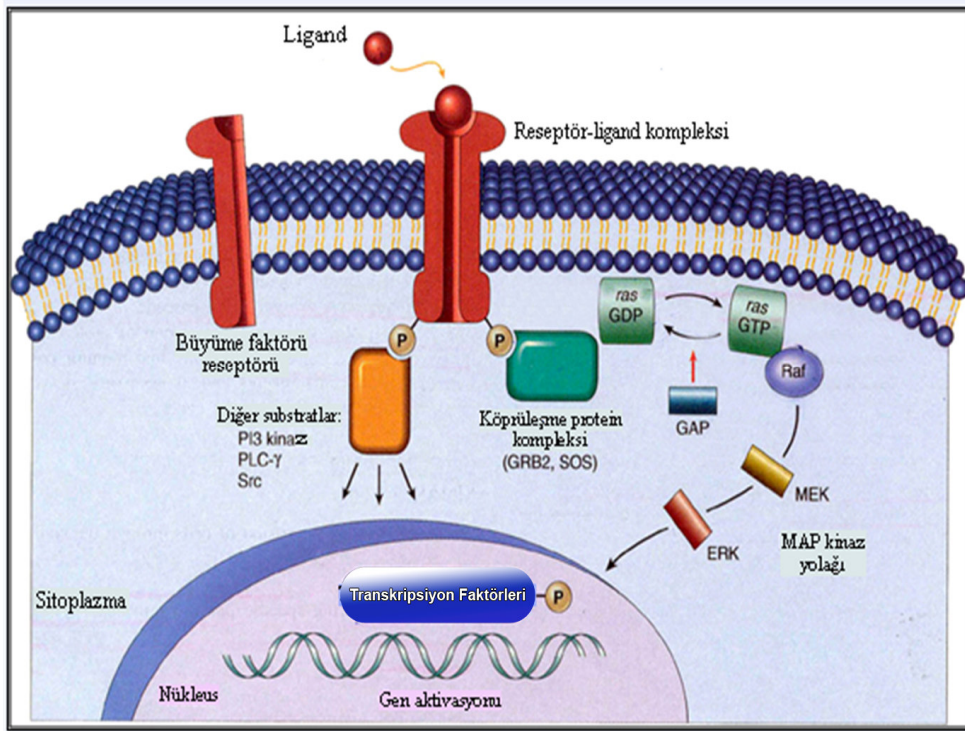
Reseptörler	Ligandlar
HER1 (c-erbB-1) (EGFR)	EGF, TGF α , Amfiregülin, Betasellülin, Heparin Bağlayıcı EGF benzeri büyüme faktörü, Epiregülin
HER2 (c-erbB-2)	Bilinmiyor
HER3 (c-erbB-3)	Neuregulin 1, Neuregulin 2
HER4 (c-erbB-4)	Neuregulin 1, Neuregulin 2, Neuregulin 3, Neuregulin 4, Betasellülin

Bu reseptörlerin tamamı yapısal olarak üç ana bölgeye ayrılmıştır.

- Ekstrasellüler bölge: büyüme faktörlerini bağlayan, sisteinden zengin bölgedir.
- Transmembran bölge
- İntrasellüler bölge: tirozin kinaz aktivitesi içerir. Bu bölgede özgün tirozin içeren aminoasit dizilimleri ve fosforile olduklarında, SH2 içeren sinyal proteinleri için bağlanma bölgeleri oluştururlar.

2.2.2. EGF Sinyalizasyonu

EGFR sinyal iletimi normal hücrelerde reseptör-ligand etkileşimi sonucu gelişen, çok evreli bir yolak ile meydana gelir. Ligand ekstrasellüler bölgeye bağlandığında reseptör dimerize olur. Dimerizasyon reseptör ailesinin değişik üyeleri arasında homodimerizasyon veya heterodimerizasyon şeklinde olabilir. Ligand bağlanmasının ardından, reseptörün intrasellüler kısmının otofosforilasyonu gerçekleşir, tirozin kinaz aktive olur ve intrasellüler bir dizi olay zinciri başlar. Bu da nükleusdaki genleri aktive ederek hücresel cevabı indükler. EGFR kompleksi sinyal transdüksiyon ağı, ras/MAPK ve fosfotidilinositol-3-kinaz (PI3-K)/Akt yollarını içerir (13). Kolon karsinogenezinde özellikle polipler büyüdükçe ras onkogeninde mutasyon daha sık görülmektedir (14). EGFR ras/MAPK yoluyla ya da (PI3-K)/Akt yoluyla kolon karsinogenezine katkıda bulunabilir (şekil 2.4).



Şekil 2.4 EGF sinyal yolu

Bunun yanı sıra EGFR'nin ligand olmaksızın çapraz etkileşim veya transaktivasyon aracılığıyla da kendiliğinden aktive olabildiği gösterilmiştir. Stres, membran depolarizasyonu, radyasyon, oksidan ve alkilleyici ajanlar gibi çeşitli

fizyolojik olmayan uyarılara bağlı olarak ortaya çıkan transaktivasyon EGFR üzerindeki tirozin kalıntılarını fosforilleyebilir. Yine G protein reseptörleri, sitokin reseptörleri ve integrinler de EGFR tirozin fosforilasyonunu indükleyebilir ve sinyal ileti yollarını aktive edebilir. Örneğin sitokin reseptörlerinin GH (büyüme hormonu) tarafından indüklenmesinin, Jak2 kinaz tarafından EGFR tirozin rezidülerinin fosforilasyonuna yol açtığı gösterilmiştir. EGFR transaktivasyonunun, MAPK kaskadının aktivasyonuna ve sonuç olarak gen transkripsiyonuna yol açtığı gösterilmiştir. Tümörde EGFR ekspresyonu, çok sayıda farklı mekanizmanın EGFR ve ligandlarını etkilemesiyle oluşabilmektedir. İnsan kanserlerinde en sık görülen mekanizma, normal EGFR'nin aşırı ekspresyonu ve gen amplifikasyonu veya transkripsiyon anormallikleri ve otokrin aşırı EGF ve TGF α üretimidir (15).

EGFR ekspresyonunda artışa yol açan bir diğer mekanizma da mutasyonlar nedeniyle ligand bağlanmaksızın EGFR'nin aktivasyonudur. İn-vivo çalışmalarda ligand olmaksızın kendiliğinden EGFR aktivasyonunun transgenik hayvanlarda tümör oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir (16). En yaygın mutasyon EGFR vIII (EGFR varyant III) mutasyonudur. Bu hem EGFR ekspresyon düzeyini hem de reseptör fonksiyonunu etkiler ve sonuç olarak reseptörün tirozin kinaz bölgesi kendiliğinden aktive olur (17).

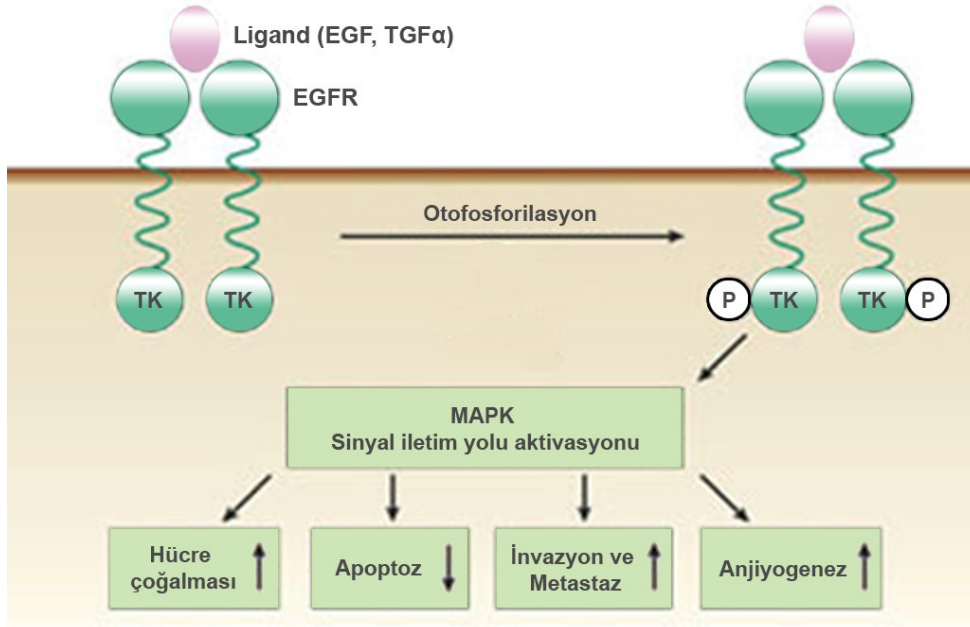
2.2.3. EGFR Yıkımı

Ligandın bağlanmasından sonraki iki saat içinde reseptörlerin %80'i hücre yüzeyinde tespit edilemez, ligandın ayrılmasından 9 saat sonra reseptör düzeyleri normale döner.

Vezikül oluşumu gibi çeşitli yollarla EGFR-ligand kompleksi hızla hücre içine alınır ve burada reseptörler ya yıkıma uğrar ya da hücre yüzeyine geri dönerler (18,19).

2.2.4. Hücresel İşlevlerin EGF ile Kontrolü

Normal hücrelerde EGF'nin oluşturduğu sinyal hücresel bölünme, göç ve diferansiasyona yol açarken kanser progresyonunda proliferasyon dışında anjiyogenez, invazyon, metastaz ve apoptozun inhibisyonuna katkıda bulunur (20) (şekil 2.5).



Şekil 2.5 EGF'nin karsinogenezde etkileri

Ras-MAPK yolunun EGF aracılı aktivasyonu, nükleusta, CDK4 ve CDK6 gibi siklin bağımlı kinazları aktive eden, siklin D birikimiyle sonuçlanır. Bu sayede Rb proteini fosforile olur ve hücre G1 fazından S fazına geçer (21,22). PI3-K-Akt yolu aracılığıyla hücre siklus inhibitörü p27 düzeyi azaltılarak hücre bölünmesi uyarılır (23,24). Aktive olmuş ve fosforillenmiş Akt, p27 transkripsiyonunu azaltır. Böylece CDK-siklin kompleksine bağlanıp G1 fazında hücre bölünmesini durduran p27 seviyesi azalır (25,26).

EGF sinyali embriyonal gelişmede ve normal dokuların muhafaza edilmesinde farklılaşma için gereklidir. EGF sinyalinin iletimi, embriyogenez sırasında dokuların gelişimi ve yara iyileşmesinde rekonstrüksiyon için gerekli olan hücre motilitesini düzenlemektedir. Ras-MAPK ve PI3-K-Akt yolları aracılığıyla sinyalizasyon epitel hücre göçünü uyarmaktadır (27,28).

EGFR her üç germ hücre tabakasından kaynaklanan sağlıklı hücrelerden (deri, karaciğer, gastrointestinal sistem) eksprese olur (29). EGFR, malign hücrelerden de (kolon, baş-boyun, küçük hücreli olmayan akciğer, böbrek, meme, over, pankreas, mesane kanserleri ve gliyoma) eksprese olur. Normal hücrelerde EGFR ekspresyonu hücre başına 40-100 bin reseptör iken malign epitelyal hücrelerde bu sayı artmıştır; meme kanserinde hücre başına 2 milyon EGFR'den bahsedilmektedir (30). Fizyolojik

olarak c-erbB-1 ve c-erbB-2'nin eksprese olduğu hücre grubu oldukça geniştir. Ancak c-erbB-3 ekspresyonu daha çok epitelial ve nöroektodermal hücrelerde sınırlıdır.

EGF sinyali anjiyogenezi ve kollajen sentezini uyarır (31). EGF sinyalinin tümör hücrelerinin büyük bir kitle oluşturabilmesi için gerekli olan anjiyogenik dönüşümde temel rolü vardır (32). EGF anjiyogenezi ile birlikte tümör hücre motilitesi, adhezyonu ve invazyonunu da etkiler. Bu etki anti EGFR tedavi ile engellenebilmektedir (19). Sonuç olarak bu bulgular artmış EGF ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğunu ve de kanser tedavisinin yeni hedefi olduğunu destekler niteliktedir. Preklinik çalışmalarda hem kimyasal olarak indüklenmiş kolon tümörü modellerinde hem de farelerde adenom gelişiminde EGFR aşırı ekspresyonunun rolü gösterilmiştir (27).

EGFR aktivasyonunun hasara uğramış veya malign özellik kazanmış hücrelerde apoptozu inhibe ettiği düşünülmektedir. Bu nedenle anti EGFR monoklonal antikoları, ligand bağlanmasını ve reseptör aktivasyonunu engelleyerek belli kanser hücre hatlarında apoptozu indükleyebilir (18). Yine EGFR tirozin kinaz inhibitörleri ile veya antisense EGFR tedavisi ile EGFR sinyal iletim sistemi bloke edilerek apoptoz indüklenebilir. Anti EGFR tedavi ile DNA hasarı yapan sitostatiklerin kombinasyonunun, hücre siklusunun progresyonunu inhibe edip apoptozu indükleyerek sinerjistik antitümöral etkiye yol açtığı gösterilmiştir (33).

Bazı insan kanserlerinde diferansiyasyon azaldıkça EGFR ekspresyonunun arttığı gözlemlenmiştir. Nitekim EGFR'nin monoklonal antikor aracılığıyla ya da tirozin kinazın inhibisyonuyla bloke olması insan skuamöz karsinom hücrelerinde terminal diferansiyasyonu arttırmıştır (27,34).

2.3. c-erbB-2 (HER-2 / neu)

İnsan c-erbB-2 (HER-2/neu) protoonkogeni 17. kromozomun uzun kolunda lokalize olmuştur. Bu gen, c-erbB-2 reseptörü veya p185 olarak da adlandırılan 185 kDa ağırlığında büyüme faktörü reseptörü olarak fonksiyon gören bir transmembran glikoproteini kodlar (35,36).

2.3.1. c-erbB-2 İsimlendirmesi ve Yapısal Özellikleri

c-erbB-2 (HER-2/neu) geni ilk olarak rat nöroblastomundan izole edildiği için rat neu gen olarak adlandırılmıştır. Diğer isimlendirmeler tavukta eritroblastomaya homolog (erb) genlerin ve insan büyüme faktörleri kodlayan genlerin (HER) keşfinin bir sonucudur. c-erbB proteinlerin insan embriyogenezinde önemli rolleri vardır. İnsan

fetüsünde c-erbB-2 sinir sisteminde, kemik, kas, deri, kalp, akciğer ve intestinal epitelde saptanmıştır.

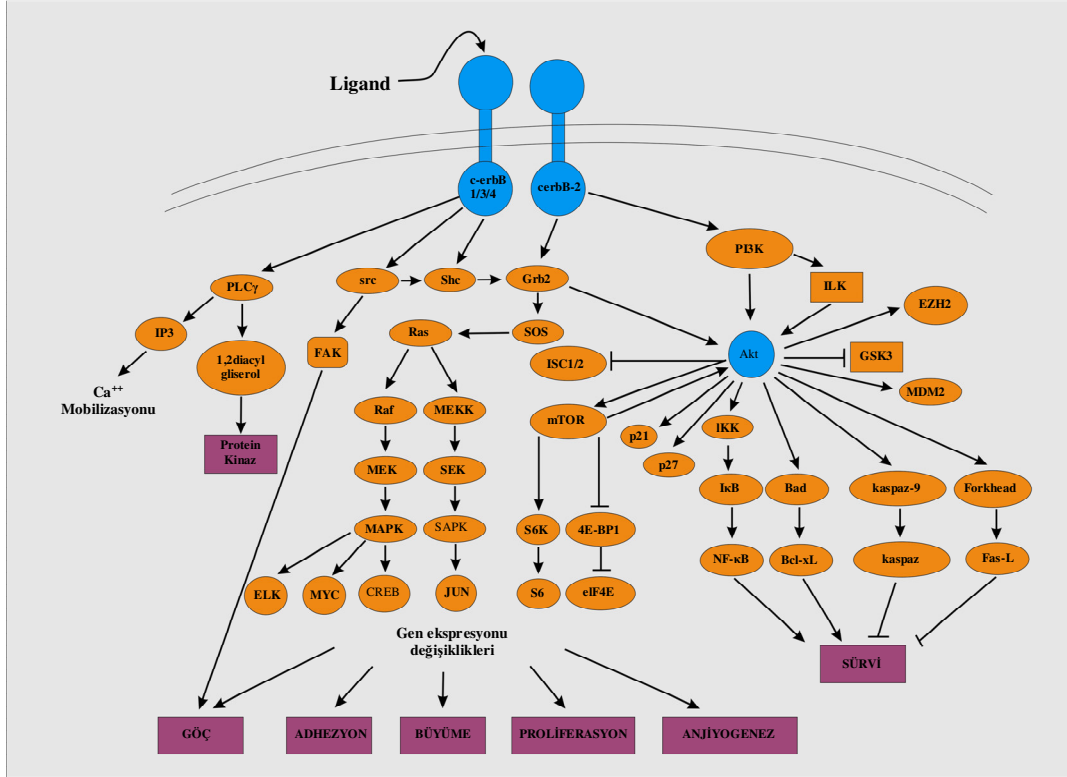
c-erbB-1 (EGFR), c-erbB-2, c-erbB-3, c-erbB-4'ten oluşan dört üyeli EGFR ailesinin ikinci üyesi olan c-erbB-2 (HER-2) reseptörü bu ailede anahtar role sahiptir. Diğer üç c-erbB reseptörlerinde farklı olarak c-erbB-3'ün proteinkinaz aktivitesi zayıftır. Bu reseptörlerin tamamı hücre membranında lokalize olmuşlardır ve hepsi büyüme faktörü bağlayan sisteinden zengin bir ekstrasellüler segment, lipofilik bir transmembran segment ve tirozinkinaz aktivitesine sahip düzenleyici karboksiterminal bölgesi olan intrasellüler segment içerir. p105 olarak da isimlendirilen çözünebilir c-erbB-2, c-erbB-2'nin metalloproteazlarca proteolitik olarak yıkılıp dolaşıma geçen ekstrasellüler bölgesidir (37).

c-erbB reseptörleri plazma membranında monomerler şeklinde bulunur. Ligandın bağlanmasıyla bu dört farklı reseptör birbirleriyle ilişki kurarak, homodimer (c-erbB-1/c-erbB-1) veya heterodimer (c-erbB-1/c-erbB-2) formunda 10 farklı reseptör dimeri oluşturabilir. EGFR ailesi içinde ligandı bilinmeyen tek üye c-erbB-2'dir (36,38). Ayrıca EGFR ailesi içinde birçok farklı homodimer ve heterodimer kombinasyonları oluşurken, oluşumu görülmeyen tek kombinasyon c-erbB-2 homodimerizasyonudur. c-erbB-2 sadece heterodimer oluşturabilir. Bu nedenlerle c-erbB-2'nin spesifik ligand yokluğunda sinyal iletimine katılan ko-reseptör olduğu düşünülmektedir (39). c-erbB-2/c-erbB-3 heterodimeri en yüksek mitojenik potansiyele sahiptir ve epitelyal kanserlerde en sık görülen c-erbB dimeri olduğu düşünülmektedir (36,38). c-erbB-2 heterodimerleri daha yüksek bir ligand bağlama ve sinyalleme potansiyeline sahiptir. c-erbB-2 heterodimerleri ile sinyallenme daha uzun sürelidir ve MAPK yolunun artmış aktivasyonuna neden olur.

2.3.2. c-erbB-2 Sinyal İletim Ağı

c-erbB-2 sinyal iletim ağı, bir stromal girdi tabakası (ligandlar ve büyüme faktörleri), bir sellüler bilgi yapılandırma tabakası (reseptörler, transkripsiyon faktörleri) ve bir çıktı tabakasını (hücre büyümesi, diferansiasyonu ve göçü) içerir. Reseptör dimerizasyonu, biyolojik mesajların bir çevrim sırası ile iletilmeleri için esastır. Bu modele göre tüm ağın koordinasyonu c-erbB-2 tarafından yapılır. Dimerizasyon, reseptörlerin sitoplazmik alanında tirozin kinaz aktivasyonuna neden olur. Daha sonra reseptörlerin intrasellüler alanındaki tirozin kalıntılarının fosforilasyonu sinyal iletimini

başlatarak nukleusa çoğalma sinyalleri gönderir (36) (şekil 2.6). Reseptör yıkım için hücre içine alındıktan sonra dahi yıkılmayıp membrana dönerek yüksek oranda yeniden siklusa girer. Bu güçlü sinyallenme, artmış hücre proliferasyonu ve malign transformasyon ile sonuçlanır (36).



Şekil 2.6 c-erbB-2'nin, c-erbB ailesinin diğer üyeleriyle etkileşimi ve etkileri

2.3.3. c-erbB-2 ve Kanser

c-erbB-2 aşırı ekspresyonu, reseptörün liganddan bağımsız olarak aktivasyonuna ve artmış mitojenik sinyal iletimine neden olur. Bu etkinin yanısıra proapoptotik uyarılara direnç gelişimine, artmış hücre göçüne ve matriks metalloproteinaz aktivitesine neden olur, hücrelerin invazyon yeteneğini artırır. Anjiyogenezi ve hücrelerin metastaz yeteneğini arttırmak suretiyle de karsinogenezde etkin rol oynamaktadır.

Proteinin artmış ekspresyonu ile gen amplifikasyonu kanserde en sıklıkla saptanmış c-erbB-2 anormalliğidir (40). c-erbB-2 tükrük bezi, over, pankreas, akciğer,

mesane, prostat gibi karsinomlarda aşırı ekspresyona sahiptir. Bununla birlikte, en fazla çalışma meme ve mide adenokarsinomları üzerine yapılmıştır. Gastrik kanserde %10-16 olan c-erbB-2 gen amplifikasyonu ve protein aşırı ekspresyonu intestinal karsinomda daha yaygın olarak rapor edilmiştir (36). Meme kanserinde hastalıktan bağımsız ve kapsamlı sağkalım oranı azalması ile ilişkilendirilmiş olduğu rapor edilmiştir (36). c-erbB-2 (HER2/neu) geni amplifikasyonu veya c-erbB-2 protein aşırı ekspresyonu meme kanserlerinin %10-34'ünde görülmekte olup, kötü prognozla ilişkilidir (41). c-erbB-2'nin, az diferansiye, hormon reseptörü negatif, lenf nodu pozitif, yüksek proliferasyon oranı gösteren tümörlerde, duktal karsinoma in situ'da (DCIS), özellikle yüksek grade'li varyantlarda, daha yüksek oranda ekspresyona sahiptir bildirilmektedir (41). c-erbB-2 aşırı ekspresyonu veya amplifikasyonu, meme kanserinde prognostik ve prediktif belirleyici olarak kullanılmaktadır. Prognostik belirleyici olarak, hastalığın gidişini tayin etmede kullanılır. Prediktif belirleyici olarak, hastaların adjuvan kemoterapi ve endokrin tedaviye yanıtını belirlemede ve anti- c-erbB-2 monoklonal antikoru (Herceptin) immunoterapisi için hasta seçiminde kullanılır.

Spesifik olarak c-erbB-2'yi hedefleyen insan monoklonal antikoru herceptin, c-erbB-2 aşırı ekspresyona sahip tümörlerde büyümeyi inhibe etmesi nedeniyle c-erbB-2 pozitif meme kanserli vakalarda sağkalıma fayda sağlayacağı düşünülerek kullanım için uygun bulunmuştur (40). Nitekim bu hastalarda Herceptin'le tedavinin, tümör hacmini azalttığı, kemoterapötik etkisini artırdığı, primer ve metastatik meme kanseri hastalarında sağ kalımı artırdığı saptanmıştır (42).

Meme kanserinde anti- c-erbB-2 antikoru ile iyi klinik sonuçlar alınması, diğer solid tümörlerde c-erbB-2 ekspresyonlarının araştırılmasına yol açmıştır. Over kanserlerinin yaklaşık 1/3'ünde c-erbB-2 aşırı ekspresyonu saptanmış olup, kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (43). Akciğerde, c-erbB-2'nin küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde daha çok ekspresyona sahiptir ve akciğer adenokarsinomlarında azalmış sağkalımla ilişkisi olduğu belirtilmektedir (44). Prostat karsinomunda, c-erbB-2 gen amplifikasyonu, tümör derecesi, evresi ve diploid olmayan DNA ile ilişkili bulunmuştur (45). Ancak endometrial karsinomlarda, c-erbB-2 aşırı ekspresyonunun iyi bir prognostik belirteç olmadığı da bildirilmiştir (46).

2.4. TGF β 1 (DÖNÜŞTÜRÜCÜ BÜYÜME FAKTÖRÜ BETA-1)

Yapısında bir disülfid köprüsü bulunan, yaklaşık 25 kDa molekül ağırlığında, protein yapılı bir homodimerdir. TGF β ailesinin bilinen beş üyesi olmasına rağmen memelilerde TGF β 1, TGF β 2 ve TGF β 3 olmak üzere üç izoformu saptanmıştır. TGF β hücrede inaktif propeptid şeklinde sentezlenir. Hücreden LTBP (latent TGF β bağlayan protein) ile kompleks oluşturularak inaktif TGF β formunda salgılanır. Propeptidin N terminalinde LAP (latentlikle ilişkili protein) olarak adlandırılan bir dizi bulunur (47,48).

Hücre proliferasyonu karşıtı sinyalleri düzenleyen moleküllerin en önemlilerinden biri olan TGF- β süper ailesi, organizmanın gelişimini çok yönlü kontrol eden ekstrasellüler büyüme faktörlerinin büyük bir grubudur. Organizmanın tüm dokularının gelişiminde, homeostazisinde ve onarımında çok önemli rol oynayan TGF- β ailesi, yapısal olarak ilişkili çok sayıda polipeptid yapıda büyüme faktörleri içerir. Bunların her biri hücrenin proliferasyonu, diferansiasyonu, motilitesi, adhezyonu ve ölümü gibi hücresel süreçleri düzenleme yeteneğine sahiptir (48).

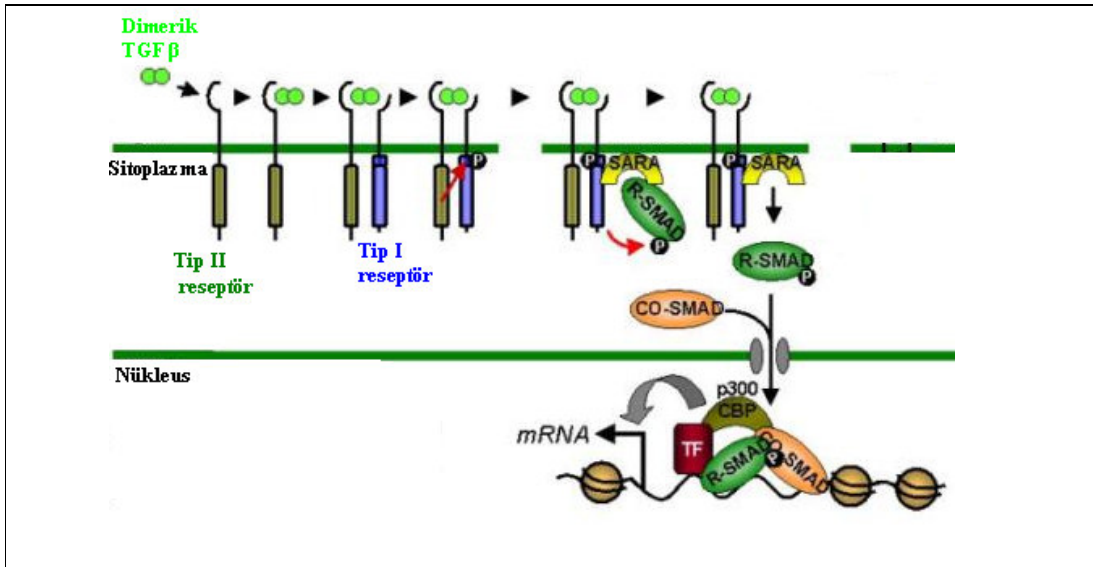
2.4.1. TGF β 1 Fonksiyonları

Hedef hücrenin uyarıya verdiği yanıtı bağli etkiler gösteren TGF β , mezenkimal hücre proliferasyonu ve diferansiasyonunun kontrolü, ekstrasellüler matris üretimi gibi birçok fizyolojik olayda görevlidir. Bilinen en güçlü immun baskılayıcılardan biridir. Bununla birlikte epitel ve hemopoetik hücrelerde antiproliferatif etkisi vardır ve hücre siklusunun G1 fazında durmasını sağlamaktadır (49). Bu antiproliferatif etkiye ilave olarak TGF β , CDK inhibitörleri olan p15 ve p21 proteinlerin sentezini aktifler (50,51). Ayrıca transkripsiyon faktörü olan c-myc ve diferansiasyon inhibe edici faktörler olan Id1, 2 ve 3 genlerinin inaktivasyonunu sağlar (52,53). Bazı hücre tiplerinde TGF β , henüz tam olarak aydınlatılmamış bir mekanizma ile apoptozu indüklemektedir. Mide karsinom hücrelerinde TGF β , Fas reseptörüne bağlanarak sitozolde çeşitli kaspazları aktive etmekte ve hücrenin apoptoza uğramasını sağlamaktadır (54).

2.4.2. TGF β Reseptörleri ve Sinyal İletimi

Hücre membranında TGF β tip I (T β RI) ve TGF β tip II (T β RII) olmak üzere iki tip reseptör bulunur. Endoglin ve betaglican olarak da adlandırılan TGF β tip III reseptörleri (T β RIII) TGF β 'nın ilk iki tip reseptörüne bağlanmasını kolaylaştırır. Reseptöre bağlanma iki şekilde olmaktadır. TGF β için karakteristik olan birinci

bağlanma şeklinde TGF β , tip II reseptörün ekstrasellüler bölgesine, sonra da tip I reseptörüne bağlanır. Oluşan ligand-reseptör kompleksi ikişer T β RI ve T β RII içeren bir heterotetramerdir. T β RI ve T β RII serin/treonin kinaz özelliğine sahiptir. TGF β 'nın T β RII'ye bağlanması, bu reseptörün kinaz aktivitesinin ortaya çıkmasını ve tip I reseptörün fosforilasyonunu sağlar. Bu şekilde aktiflenen T β RI sitozolde bulunan Smad proteinlerini fosforiller (55). Smad'lar, hücre çekirdeği içine sinyal taşıyan ve özel olarak DNA'ya bağlanma yeteneği ile transkripsiyonel kompleks oluşturan orjinal bir protein ailesidir (48). Smad'lar, N terminalindeki MH1 bölgesi ile DNA'ya bağlanırken, C terminalindeki MH2 bölgesi ile R-Smad'a bağlanır. Bu MH2 bölgesi Smad-reseptör, Smad-Smad ve Smad-transkripsiyon faktör etkileşimlerine aracılık eder (56). Smad4'ün MH2 bölgesi, aktif T β RI tarafından fosforilasyonla aktive edildikten sonra R-Smad ile bağlanır. R-Smad-Smad4 kompleksi, nükleoporinlerin aracılığıyla sitozolden nükleusa aktarılır. Nükleusta R-Smad-Smad4 kompleksi 400'e yakın genin promotör bölgesine bağlanarak transkripsiyonu düzenler (57,58). R-Smad-Smad4 kompleksinin DNA'ya bağlanması çeşitli kofaktörler tarafından kolaylaştırılır ve kontrol edilir (59). (şekil 2.7).



Şekil 2.7 TGF- β sinyal yolu

Özetle tip II reseptör aracılığı ile tip I reseptörün aktivasyonu, TGF- β sinyallerinin başlamasına neden olur. Bu aktive olan tip I reseptör, hücre çekirdeğine sinyal taşıyan Smad proteinlerini fosforiller ve aktive eder. Smad ailesine ait proteinler,

reseptör sinyallerinin hücre çekirdeğindeki hedef genlere iletiminde merkezi bir rol oynar (60).

İkinci bağlanma çeşidinde ise tip I ve tip II reseptörler liganda beraber bağlanırlar.

Son yıllarda TGF- β 'nın; MAPK ve PI3K-Akt gibi Smad proteinlerinin dahil olmadığı başka sinyal yollarını da kullandığı ileri sürülmüştür (59,61,62,63).

2.4.3. Smad Alt Grupları ve Fonksiyonları

Yapısal ve fonksiyonel etkenler göz önünde tutulduğunda, Smad'lar 3 ayrı alt gruba ayrılırlar:

a. Reseptör ile regüle edilen Smad'lar (R-Smad'lar); R-Smad'lar BMP (Kemik morfojenik protein) Smad'lar ve TGF- β /aktivin Smad'lar olmak üzere iki alt gruptan oluşmaktadır. R-Smad'lar sinyal iletimi görevlerini yerine getirmek için Co-Smad'a ihtiyaç duyarlar.

TGF- β Smad'lardan olan Smad2 ve 3, T β R-I'in substratlarıdır. Memeli epitel hücrelerinde Smad2 ve 3, gelişimin inhibisyonuna ve TGF- β transkripsiyonunun aktivasyonuna aracılık ederler (64,65).

b. Common-partner Smad'lar (Co- Smad'lar); Smad 4 bu grupta yer almaktadır. Smad 4, ligand-reseptör kompleksi tarafından değil de R-Smad'ların etkisiyle fosforillenerek sinyal iletimine katılmaktadır.

c. İnhibitör Smad'lar (ISmad'lar); Diğer 2 grubun sinyal foksiyonunu inhibe eden antagonist Smad'lardır (66). Smad 6 ve Smad 7 bu gupta yer almaktadır (56).

İnhibitör Smad'lar, negatif geri bildirim sürecine katılarak TGF- β yanıtının şiddetini ve süresini düzenlerler. Böylece TGF- β 'nın yanıtıyla Smad7 ekspresyonu hızlı bir şekilde artar (48).

2.4.4. Kanserde TGF- β Reseptör Mutasyonları

Hücrenin G1 evresinde durdurulması, terminal diferansiasyonun artışı veya apoptozun indüklenmesi TGF- β 'nın hedef hücreler üzerindeki etkileridir (67). İnsan tümöründen üretilmiş hücre soylarında bu tip uyarılardaki eksiklik birçok çalışmada tanımlanmıştır. TGF- β sinyal iletiminin aksaması nedeniyle kansere yatkınlık veya kanser oluşabilmektedir (68).

İnsan T β R-II proteininin ekstrasellüler kısmını kodlayan gen dizisinde, 709. nükleotidden başlayan 10 baz çiftlik poliadenin tekrarları bulunur. Bu tekrarlara 1 veya

2 bazın eklenmesi veya silinmesi çoğu sporadik kolon kanserlerinde ve mikrosatellit instabiliteli gastrointestinal kanserlerde meydana gelir (69). T β R-II poliadenin tekrarındaki mutasyonlara HNPCC'li (herediter polipozis dışı kolorektal kanser) hastalarda da rastlanmıştır. Endometriyum, pankreas, akciğer ve meme kanserlerinde T β R-II'nin poliadenin tekrarındaki mutasyonlar nadirdir. T β R-I geninde oluşan mutasyonlara over, özofagus, baş-boyun bölgesi kanserlerinde sık rastlanılmaktadır.

2.4.5. Kanserde Smad Mutasyonları

TGF β sinyal yolundaki kilit rollerine rağmen kanserde R-Smad genlerinde daha az mutasyonlara rastlanır. Kolon, mide kanserleri ve lenfomaların çok küçük bir kısmında Smad2 ve Smad3 proteinlerinin ekspresyonu azalmıştır (70,71). Smad2 ve Smad3'ün aksine pankreas karsinomlarının %50 ve kolon kanserlerinin %10'unda Smad4 geninde bir mutasyon söz konusudur (70,71). TGF β sinyal yolunda inhibitör etkili Smad6 ve Smad7 genlerinin artmış ekspresyonu da endometriyum ve tiroid kanserine neden olabilmektedir (72,73). Smad4, pankreas ve kolon kanserlerinde sıklıkla, diğer kanser türlerinde ise daha az sıklıkla inaktive edilmiştir (74,75). Smad2 ise kolon ve akciğer kanserlerinde tümör baskılayıcı olarak bildirilmiştir (76).

Kolon kanserinde TGF- β 'nin uyarı kabiliyetinin kaybolmasına, muhtemelen T β R-II, Smad2 veya Smad4/DPC4'teki mutasyonlar neden olmaktadır (48).

Kanserde TGF- β 'nin antitümöral immun cevabı baskılanır. TGF- β bir onkogen gibi davranmaya başlar. TGF- β 'nin hücre-hücre etkileşimi üzerindeki kontrol mekanizması bozulur ve TGF- β 'nin etkisi ile hücre-hücre adhezyon reseptörü olan E kadherin sentezi baskılanır. Birçok kanser tipinde E kadherin geninin baskılandığı bildirilmiştir (77). Hücreler arası adhezyonun bozulması ile birlikte hücreler motilite kazanır ve metaplazi, displazi ve anaplaziye öncülük eden epitelyal-mezenkimal geçiş süreci (EMT) başlatılmış olur. Ayrıca TGF- β Id1 genini aktive ederek, hücre diferansiyasyonunu baskılar. TGF- β hücre-hücre adhezyonunda görevli olan Par-6 ve SNAIL ve SLUG gibi transkripsiyon faktörleri aracılığı ile progenitör hücrelerin hareket özelliği yüksek olan kanser hücrelerine dönüşümünü sağlar (78).

2.5. IGF-I (İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ-I)

IGF ailesi, 3 ligand (insülin, IGF-I, IGF-II), 3 reseptör (insülin reseptörü, IGF-I reseptörü ve mannoz-6-fosfat IGF-II reseptörü) ve 6 insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinden (IGFBP) oluşmaktadır. IGF'ler diğer adıyla somatomedinler, büyüme hormonunun anabolik ve mitojenik etkilerinin çoğunun ortaya çıkmasına aracı olan bir peptid ailesidir.

2.5.1. IGF'lerin Yapısı ve Moleküler Biyolojisi

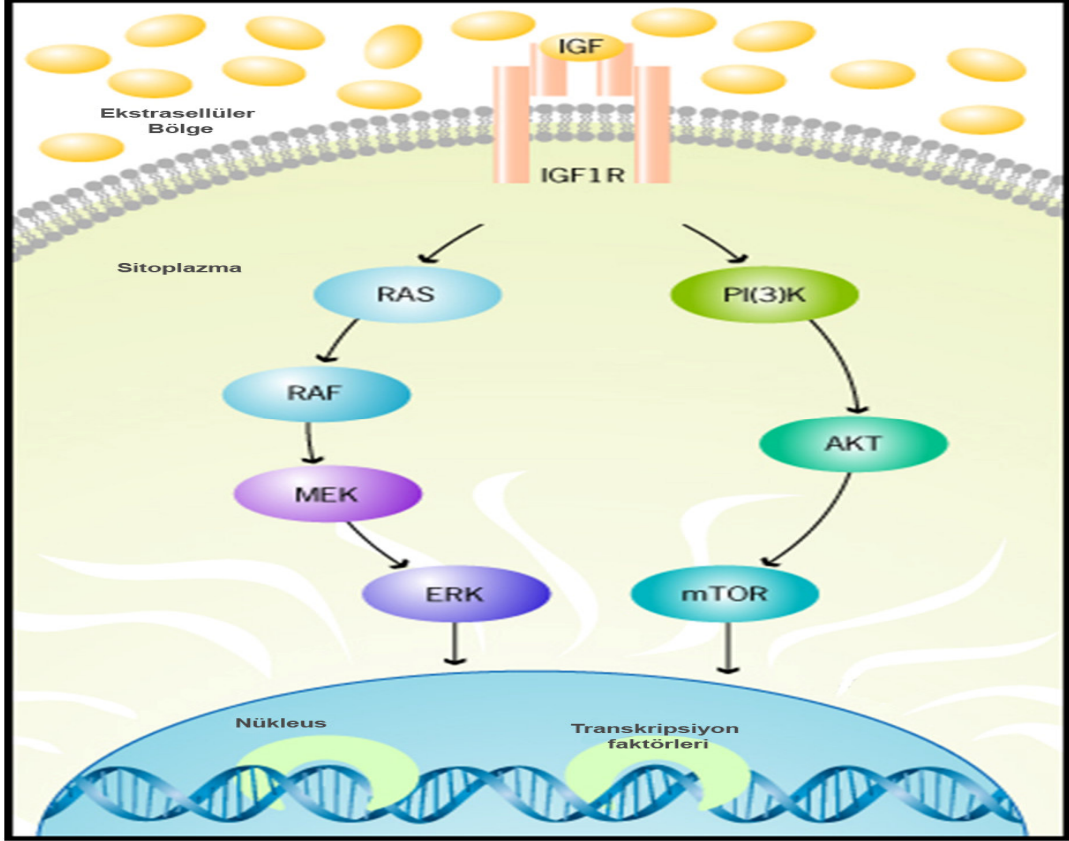
IGF'ler tek zincirli polipeptidlerdir. IGF-I, molekül ağırlığı 7649 kDa olan 70 aminoasit içeren bazık bir peptiddir. IGF-II ise molekül ağırlığı 7471 kDa olan, 67 aminoasit içeren hafifçe asidik bir peptiddir. Her iki IGF molekülü proinsüline benzer olarak A ve B zincirlerine sahiptirler ve bu zincirler birbirlerine C peptidi adı verilen disülfid bağlarıyla bağlıdır. IGF-I ve IGF-II'nin aminoasit dizilimleri sırasıyla %43 ve %41 oranında proinsülin ile homoloji gösterirler. Proinsülinde farklı olarak IGF'ler karboksi terminalinde D bölgesi içermektedir. Proinsüline olan bu yapısal benzerlik her iki IGF molekülünün insülin reseptörlerine düşük afinite ile bağlanmasını açıklar. Diğer yandan yapısal farklılıklar insülinin IGF bağlayan proteinlere bağlanmasını önler (79).

2.5.2. IGF Reseptörleri (IGFR)

IGF'ler protein yapıda olduklarından hücre membranını geçememekte ve etkilerini membrandaki reseptörlerine bağlanarak göstermektedirler. Üç farklı reseptörü tanımlanmış olup bunlar insülin reseptörü, IGF-I reseptörü ve IGF-II reseptörüdür.

IGF-I reseptörü (IGF-IR): Hücre dışı 2 alfa ünitesi ve 2 transmembran beta ünitesi içeren bir glikopeptiddir. Alfa ve beta subünitleri disülfid bağları ile birbirine bağlanmıştır. Yapısal ve fonksiyonel olarak insülin reseptörüne benzer. Bu reseptörler benzer ligandları spesifik olarak bağlar. IGF-IR, IGF-I'i insüline göre 100 kat daha fazla afinite ile bağlar. IGF-IR tirozin kinaz ailesine ait olup sinyal ileti mekanizması, insülin reseptörü etki mekanizmasına benzer. Alfa subünit tümüyle hücre dışındadır. Beta subünit ise membran üzerinde yerleşmiştir ve sitoplazmik bölgesinde bir tirozin kinaz ilmiği ihtiva eder. IGF-I'in IGF-IR'nin alfa subünitine bağlanmasıyla beta subüniti otoposforilasyona uğrar. Otoposforilasyon ile tirozin kinazın aktivasyonu reseptör üzerindeki diğer önemli tirozinlerin fosforilasyonuna neden olur. IGF-IR, IGF-I'i IGF-II'ye göre daha yüksek bir afinite ile bağlar ve büyüme yanıtlarının çoğuna IGF-IIR'den ziyade IGF-IR aracılık eder.

IGF-II reseptörü (IGF-IIR): IGF-II MannoZ 6-fosfat (M6P) reseptörü olarak da bilinir. Tek zincirli bir polipeptiddir. İntrinsik tirozin kinaz aktivitesinden yoksundur. IGF alım ve yıkımına aracılık eder. IGF-II'yi bağlayarak hücre içerisine sokar ve lizozomlarda yıkımına aracılık eder, ancak bilinen hücre içi uyarıcı etkisi yoktur. IGF-IIR, IGF-II'yi IGF-I'den yüz kat daha fazla afiniteyle bağlar (80). İnsülin, insülin reseptörlerini aktive ederken her iki IGF molekülü, IGF-I reseptörünü aktive edebilir.



Şekil 2.8 IGF-I sinyal yolu

2.5.3. IGF Bağlayıcı Proteinler (IGFBP)

Plazmada IGF'lerin taşınmasından sorumludurlar. IGFBP'ler, IGF reseptörlerine IGF'lerden daha yüksek affiniteye sahiptirler. IGFBP'ler aynı zamanda bu moleküllerin klirensini düzenlerler. Dolaşımdaki serbest IGF'nin yarı ömrü 30 dakika iken, IGFBP tarafından bağlandıklarında yarı ömürleri 12-15 saate kadar uzayarak akut etkilerinin ortaya çıkması IGFBP tarafından engellenmiş olur (81).

IGFBP-3, IGFBP'lerin %75'ini oluşturur ve en önemli olanıdır. Dolaşımında bulunan IGF'lerin yaklaşık %80'inin transportunu IGFBP-3 sağlar. Aynı zamanda potansiyel bir hücre büyüme inhibitörüdür. Antiproliferatif etkisinin p53 tümör baskılayıcı geni aracılığıyla kontrol edildiği öne sürülmektedir. p53 etkisi ile IGFBP-3 ekspresyonunun indüklenmesi IGF-I'in mitojenik etkisinin inhibisyonuna yol açmaktadır (81). Çeşitli hücre kültürlerinde IGFBP3'ün IGF olmadan DNA sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir (82,83).

IGFBP'ler IGF'lere bağlandığı zaman IGF'lerin yarı ömrünü uzatır ve aşırı hücre büyümesini önler veya apoptozu destekler (81).

2.5.4. IGF'nin Fizyolojisi ve Etkileri

İnsülin primer olarak karaciğer, kas ve yağ dokusunda etki gösterirken, IGF'ler hemen hemen tüm organların fonksiyonlarında etkilidirler. IGF-I büyümenin düzenlenmesinde önemli rol oynar.

Gerek insülin gerekse IGF-I reseptörünün uyarılması hücre içinde aynı ilk uyarıyı başlatır. Bununla birlikte, insülin metabolik fonksiyonları düzenlerken, IGF'ler büyüme ve diferansiasyon olaylarında rol alırlar. Hücre içinde bu hormonların sinyal ileti yollarındaki basamaklar farklıdır (81). IGF'lerin hücre siklusunda DNA replikasyonunu uyarması çok önemli bir etkidir. IGF-I'in hücre siklusunun G1 ile S fazı arasında etkili olduğu ve bunu IGF-I reseptörü aracılığıyla yaptığı, hücre "turnover"ını artırmak suretiyle hücrel transformasyon riskini artırdığı gösterilmiştir (84). IGF'ler ve bağlayıcı proteinler aynı zamanda birçok dokuda lokal olarak üretilerek otokrin etki gösterebilirler de IGF-I ve IGFBP'lerin temel yapım yeri karaciğerdir.

Büyüme hormonunun kendi hepatik reseptörü ile ilişkiye girmesi IGF-I geninin ekspresyonunu uyarmakta ve IGF-I peptidinin salınımına neden olmaktadır. İnsülin başta olmak üzere tiroksin, gonadotropinler, seks steroidleri ve paratiroid hormon, çeşitli dokularda IGF-I üretimini uyarmaktadır.

2.5.5. IGF-I ve Kanser

IGF'ler fetal ve çocukluk evresi boyunca normal gelişmede esas rol oynarlar. Erişkin dönemde ise normal hücrel metabolizma, proliferasyon ve apoptotik uyarılara karşı koruma gibi fonksiyonların düzenlenmesinde rol alır. Bununla birlikte bozulmuş stimülasyon, malign büyümenin gelişimi ve progresyonuna katkıda bulunabilir. IGF'ler hücrel mitojen ve diferansiasyon faktörleridir. Fetal yaşamda özellikle IGF-II,

postnatal yaşamda ise IGF-I büyüme hormonu ile ilişkili büyüme ve mitojenik aktivitede en önemli mediatördür (81).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda serumda yüksek IGF-I ve düşük IGFBP-3 seviyelerinin veya IGF-I/IGFBP-3 oranının yükselmesinin meme, prostat, kolon ve akciğer gibi pek çok kanser için artmış risk ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (85). IGF'lerin mitojenik etkileri IGF-IR yoluyla olmaktadır. IGF-I reseptörünün sentezi, steroidler, östrojenler, GH, FSH, LH, tiroid hormonları, PDGF (trombosit türevi büyüme faktörü) ve EGF tarafından stimüle edildir, bunun aksine p53, Wilms tümör-1, BRCA-I gibi tümör baskılayıcıları tarafından inhibe edilir ve yüksek IGF-I seviyeleri tarafından "negatif geri besleme" ile düzenlenir (86).

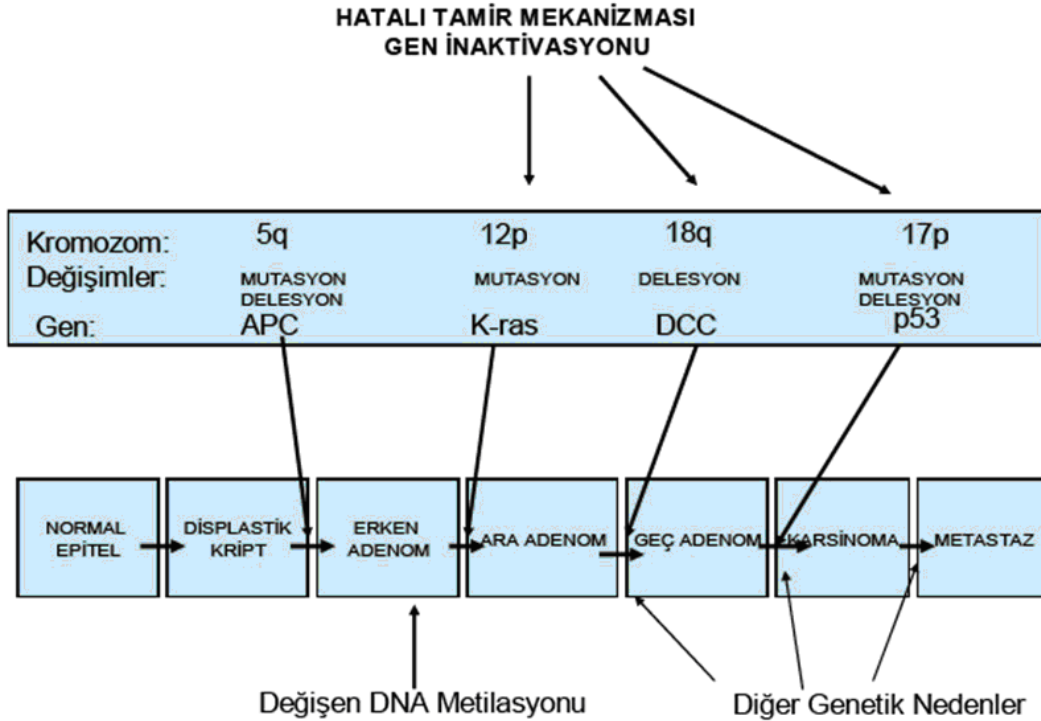
IGF-IR'nin aksine IGF-IIR'ye ligand bağlanması durumunda, IGF-II'nin internalizasyonunun azaldığı ve TGF- β aktivasyonu ile antiproliferatif ve proapoptotik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu yüzden IGF-II'nin tümör baskılayıcı gibi davrandığı düşünülmektedir (87).

Akromegali hastalarının polip veya kanser gelişenlerinde, tirod bezi adenom ve kanserlerinde, endometrium, over, serviks kanserlerinde, mide kanserinde IGF-I düzeyleri yüksek bulunmuştur (88-93). İlerlemiş prostat kanseri hastalarında, meme kanserinde IGF-I düzeyinin yüksek IGFBP-3 seviyesinin düşük olduğu rapor edilmiştir (94,95).

Son zamanlarda IGF-I reseptör uyarılmasını antagonize eden veya IGFBP-3 fonksiyonunu artıran girişimlerin tümör hücre gelişimini durdurduğu gösterilmiştir. Buna yönelik antineoplastik ilaç çalışmaları devam etmektedir.

2.6. KOLOREKTAL KARSİNOGENEZ

Kolorektal kanserler karmaşık bir dizi moleküler değişiklikten doğan heterojen bir hastalıktır. Normal kolon mukozasında benign adenomdan, yaşamı tehdit etme potansiyeli olan invaziv kansere dönüşüm uzun bir zaman diliminde oluşan bir dizi genetik olayla ilişkilidir. Mutasyon analizleri ile ilgili birçok çalışma sonucunda normal barsak epitel hücrelerinin tümör hücrelerine dönüşümünden sorumlu olan genetik basamaklar aydınlatılmıştır. Adenomdan kolorektal karsinom gelişim sürecini gösteren genetik model şekil 2.9’da gösterilmiştir.



Şekil 2.9. Fearon ve Vogelstein’ in kolorektal karsinom gelişim modeli

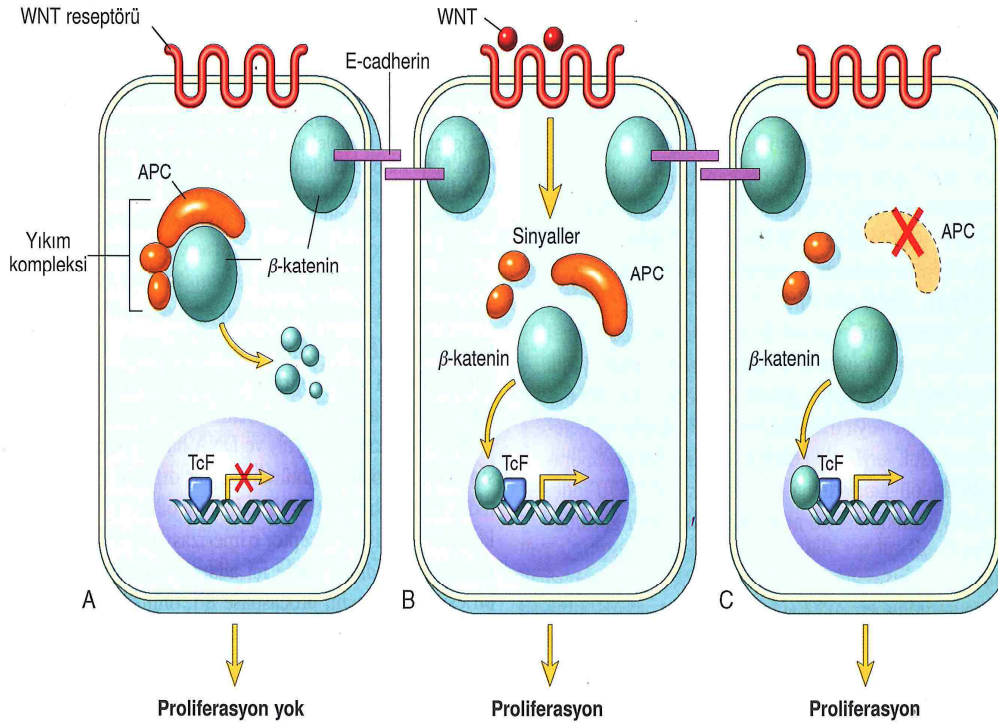
Normal mukoza hücresinden adenoma, adenomdan kansere dönüşüm sürecinde önce APC, sonra K-ras, DCC ve p53 gibi çeşitli genlerdeki bozuklukların görüldüğü orijinal model söz konusudur. Bu dönüşümde ilk mutasyon 5. kromozomun uzun kolunda yerleşmiş olan APC (adenomatöz poliposis koli) geninde oluşur (96). Adenomların meydana gelmesi için APC geninin her iki kopyası da kaybedilmelidir. Sonra K-ras mutasyonu sonucu aktif halde sabit kalarak mitotik sinyalleri iletmeye devam eder, apoptozu engeller. Daha sonra 18q21’de lokalize olan bir tümör baskılayıcı gen olan DCC (deleted in colon carcinoma) gen kaybı gerçekleşir. Bunun ardından son olarak p53’ün inaktivasyonundan veya kaybından sorumlu olan 17p’deki bir mutasyon

kanserli hücreye dönüşüme neden olur. Kolon kanseri oluşuktan sonra metastaz ortaya çıkar ve bu metastaz bilinmeyen sayıda bir dizi mutasyonel basamaktan oluşur (28). Kolorektal kanser oluşumundan sorumlu olan başlıca tümör baskılayıcı genler p53, APC, DCC genleridir (14).

p53: Hücre çoğalmasını negatif düzenleyen bir genidir. İnsan kanserlerinde en sık görülen mutant gen olup 17p13 lokusuna yerleşmiştir. p53 gen fonksiyonu kaybı sonucunda hücre büyümesinin kontrolü ortadan kalkar ve DNA tamiri yapılmaksızın hücre siklusu kontrolsüz olarak devam eder. Normal bir hücrede DNA hasarı olduğunda, p53 geni aktive olarak, hem Rb proteininin fosforilasyonunu inhibe eden p21 proteinini hem de DNA onarımı ve apoptozisi düzenleyen transkripsiyon faktörlerini kodlamaktadır. Hipofosforile halde aktif olan Rb hücre siklusunu G1-S'de durdurarak hücreye DNA hasarını onarması için zaman tanır. DNA hasarı onarılamazsa p53 apoptozu uyarır. p53 mutasyonlarında hücreler kontrolsüz bölünmeye devam eder (7).

APC: Kromozom üzerinde 5q21-22 bölgesinde lokalize olan tümör baskılayıcı genidir. APC genindeki defektler ilk kez FAP'lı (familyal adenomatöz polipozis) hastalarda gösterilmiştir. FAP'lı hastalar APC geni için heterozigot mutasyon taşırlar. Bu hastaların APC genindeki sağlam olan allelde ikinci bir mutasyonun meydana gelmesi çok sayıda kolorektal adenomaların gelişmesine neden olur (97).

APC tümör baskılayıcı gen antiproliferatif etkisini hücre içi β katenin düzeyini düzenleyerek gösterir. β katenin, hücreler arası etkileşimi düzenlemekle görevli bir protein olan E-kadherinin sitoplazmik parçasına tutunur. Hücre proliferasyonunu uyarıcı çözünebilir bir faktör olan WNT molekülünün salınmadığı, dinlenme sürecindeki hücrede, β katenin APC gen ürününün katalitik alt ünitesi tarafından yıkılır. Aksine hücre dinlenme durumunda değilse salınan WNT molekülünün reseptörüne bağlanmasıyla APC yıkım kompleksi inaktive olur. Yıkımdan kurtulan β katenin nükleusa giderek bir transkripsiyon faktörü olan TcF ile bağlanır ve hücre proliferasyonu gerçekleşir. APC mutasyona uğradığında veya fonksiyonunu kaybettiğinde β katenin yıkılamaz, nükleusa gider ve WNT yolu aktifmişçesine sürekli bölünme sinyali oluşturur (7) (şekil 2.10).



Şekil 2.10 WNT sinyal yolu ve APC'nin, β katenin fonksiyonundaki rolü

Sadece APC inaktivasyonu kanser oluşumunda yeterli değildir. Bu mutasyon genetik hasarın birikimine neden olan yolu açar, LOH (heterozigosite kaybı) akış yolunda mutasyonların birikimi ile kanseri oluşturur. Bu akış yolundaki ilave mutasyonlar, daha önce tanımlanan orijinal kanser oluşum modelindeki K-ras onkogen aktivasyonu ve tümör süpresör genlerden DCC ve p53'ün kaybıdır.

DCC: 18. kromozomun uzun koluna lokalize DCC geni bir transmembran proteini kodlar. DCC geni hücre-hücre adhezyonu ve hücre-matriks ilişkisini düzenler. Aynı bölgede Smad2 ve Smad4 genlerinin varlığı da bilinmektedir. Bu genler TGF β sinyal yolunun komponentlerini kodlarlar. TGF β sinyal yolu normalde hücre siklusunu inhibe eder. Bu nedenle bu genlerin kaybı kontrolsüz hücre büyümesine neden olur (14).

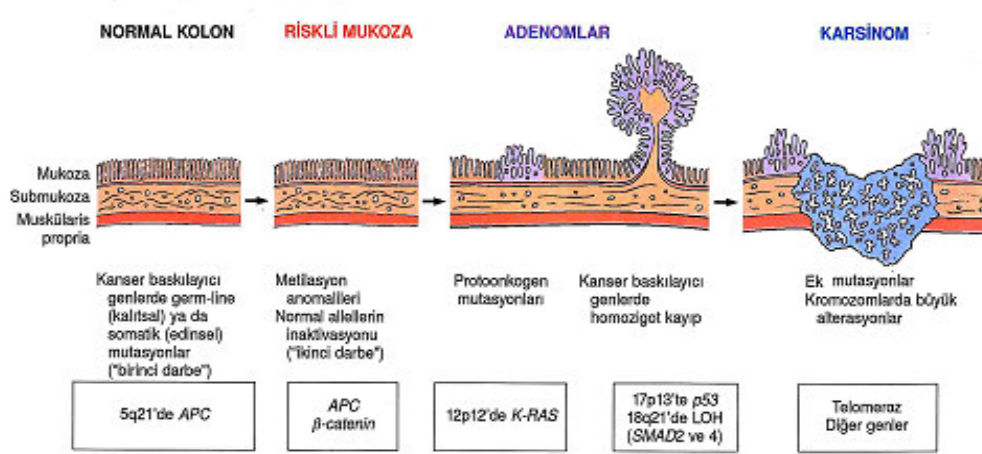
K-ras: Protoonkogen olarak sınıflandırılan ras ailesinin (K-ras, N-ras, H-ras) bir üyesidir. Bir allelindeki mutasyon bile hücre siklusunu bozabilmektedir. K-ras gen ürünü bir G protein olup hücre içi sinyal iletiminde yer alır. Hücreye uyarı gelmesiyle aktifleşen ras proteini GTP'ye bağlıdır. Uyarı iletiminden sonra proteinin sahip olduğu

intrinsik GTPaz aktivitesi GTP'nin GDP'ye hidrolizine neden olur bu da proteini ikinci bir uyarıya kadar inaktive eder. K-ras mutasyona uğradığında GTPaz aktivitesi kaybolur, GTP hidrolize olmaz, ras proteini aktif halde sabit kalır, durmaksızın mitotik sinyal iletir ve apoptozu engeller. Bunun kontrolsüz hücre bölünmesine neden olduğu düşünülmektedir (98).

2.6.1. Kolorektal Kanserde Tanımlanan Genetik Yollar

Bir dekattan uzun süren normal kolon mukozasının adenomatöz polip ve kolorektal kansere dönüşümünde iki genetik yol tanımlanmıştır. Her iki yolda da birden fazla sayıda mutasyonun aşamalı olarak birikimi söz konusudur (3).

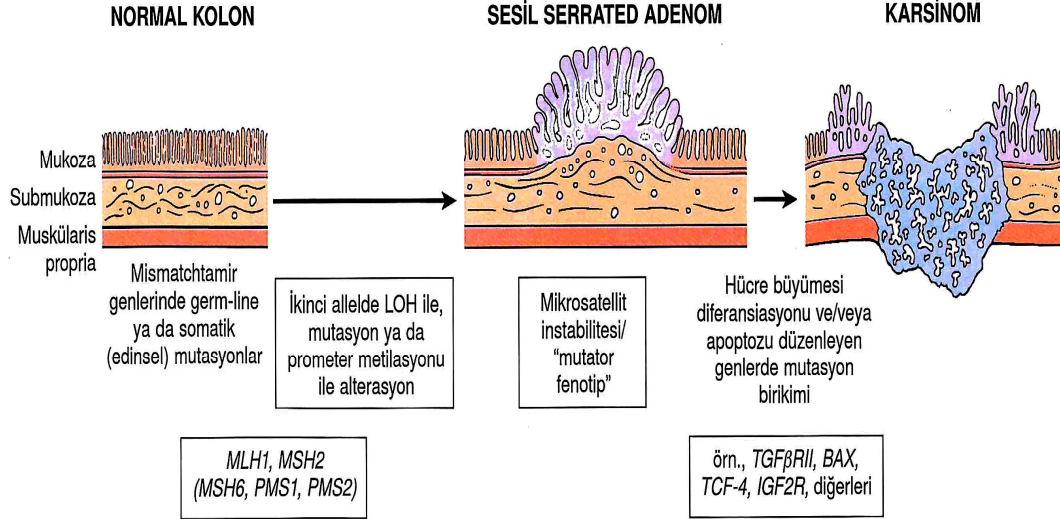
Şekil 2.11'de gösterilen ve sporadik kolon kanserlerinin %80'inde görülen **kromozomal instabilite yolağı (CI)** olarak adlandırılan yoldaki APC mutasyonları karsinogenezdeki ilk basamaktır. APC proteininin koruyucu bir fonksiyonu vardır ve bu proteindeki fonksiyonel bozukluk kromozomal instabiliteye yol açar. Bu yolun özelliği kromozomal silinmeler ve tümör anöploidisidir (6).



Şekil 2.11 Adenom-karsinom sekansında morfolojik ve moleküler olaylar

Genetik lezyonların varlığı ile karakterize ikinci yol sporadik kolorektal kanserlerin %15'inden sorumlu olan **mikrosatellit instabilite (MSI)** yolağıdır (şekil 2.12). Bu yol DNA mismatch repair genleri (yanlış eşleşim tamir genleri) ile ilişkilidir (6,14). Bu yolla gelişen kolorektal kanserlerde en olası ve en önemli başlangıç noktası, DNA yanlış eşleşim tamir genlerinin inaktivasyonu sonucu DNA tamirinde meydana gelen aksaklıklardır. DNA yanlış eşleşim tamir genlerinden (MSH2, MSH6, MLH1,

PMS1 ve PMS2) birindeki kalıtsal mutasyon herediter polipozis dışı kolorektal kanser (HNPCC) ile sonuçlanır. Bu genlerden MLH1, sporadik kolon karsinomu ile en sık ilişkili bulunan genidir. Bu tümörler genel olarak, aynı evredeki kromozomal instabilite yolundan kaynaklanan tümörlerden daha iyi prognoza sahiptirler. Mikrosatellitler, genomda kısa baz çifti bulunan segmentlerin birkaç kez tekrarlandığı bölgelerdir. Bu bölgeler replikasyon hasarına özellikle duyarlıdır. Sonuç olarak, bir yanlış eşleşim tamir geninde oluşan mutasyon değişik uzunlukta bu tekrarlanan dizilerin oluşumuna neden olur. Bu durum mikrosatellit instabilitesi olarak tanımlanmaktadır. Ortaya çıkan mikrosatellit instabilitesi, hatalı DNA yanlış eşleşim tamirinin moleküler işaretidir. Mikrosatellit dizilerinin çoğu, genlerin kodlama yapmayan bölgeleri üzerindedir. Bu genler arasında T β R-II ve BAX da vardır. TGF β sinyalizasyonu kolon epitel hücrelerinde büyümeyi engeller. BAX geni ise apoptoza neden olur. Yanlış eşleşim tamir kaybı, bu genlerde mutasyonların birikmesine ve kolorektal karsinomların ortaya çıkmasına yol açar (14).



Şekil 2.12 Kolorektal karsinogenezde MSI yolundaki morfolojik, moleküler olaylar

Kolondaki bütün poliplerin çok küçük bir bölümü kansere dönüşmekle birlikte kolorektal kanserlerin tamamına yakını adenomlardan kaynaklanmaktadır (6,14).

2.7. EPİDEMİYOLOJİ

Kolorektal kanserler akciğer-bronş, prostat ve meme kanserinden sonra en sık görülen dördüncü, akciğer-bronş kanserinden sonra en sık ölüme sebebiyet veren ikinci kanser türüdür. Cinsiyete göre dağılım yapıldığında ise en sık görülen kanserler ve kansere bağlı ölüm sebepleri arasında erkeklerde ve kadınlarda üçüncü sırada yer almaktadır (1).

Amerika Birleşik Devletleri istatistiklerine göre bu ülkede yılda yaklaşık 150.000 yeni olgu tanısı konulmakta ve 50.000 hasta bu hastalıktan ölmektedir. İnsidans kadın ve erkeklerde eşittir. Kolorektal kanser sıklığı değişik coğrafyalarda yaşayan toplumlara göre farklılık göstermektedir. Kuzey Amerika, Avustralya, Yeni Zelanda ve Batı Avrupada insidans yüksek iken Asya ve Güney Amerika'da düşüktür. Gelişmiş ülkelerde görülme sıklığı gelişmekte olan ülkelere göre daha fazladır.

Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı'nın 2004-2006 yılları arası Türkiye kanser istatistikleri verilerine göre kolorektal kanserler erkeklerde 100.000'de 17, kadınlarda 100.000'de 11,7 insidans ile en sık görülen kanserler arasında erkeklerde dördüncü, kadınlarda ikinci sırada yer almaktadır ve erkek/kadın oranı 1,4'tür (99).

2.8. ETİYOLOJİ

Kolorektal kanserlerin kesin nedeni bilinmemekle beraber başta çevresel faktörler olmak üzere çok sayıda faktörün etiyoloji ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Risk faktörlerinin tanınması tarama stratejilerini etkilemektedir. Bununla beraber vakaların %75'inde predispozan faktör bilinmemektedir (100).

2.8.1. Yaş

Yaş kolorektal kanser insidansını diğer bütün demografik faktörlerden daha fazla etkilemektedir. Sporadik kolorektal kanser insidansı 50 yaşından sonra dramatik bir şekilde artış gösterir. Vakaların büyük bir çoğunluğu 50 yaşın üzerinde yer almaktadır (100).

2.8.2. Çevresel Faktörler

Kolorektal kanser insidansındaki coğrafi farklılıklar çevresel faktörlerin önemini göstermektedir. Kolorektal kanserlerin en sık görüldüğü yerler ile en az görüldüğü yerler arasında 30-40 kat farklılık bulunmaktadır. Düşük riskli bölgelerden yüksek riskli bölgelere göç edenlerde riskin artması da bunu desteklemektedir.

2.8.3. Diyet

Kırmızı etin ve hayvansal yağların fazla, lifli gıdaların az tüketildiği toplumlarda kolorektal kanserler daha sık görülmektedir. Kalsiyum, selenyum, A, C, E vitaminleri, karotenoidler, bitkisel fenoller kolorektal kanser riskini azaltırken sedanter yaşam, obezite, karbonhidrat ve yağdan zengin besinler kolorektal kanser riskinde artışa neden olmaktadır (6).

2.8.4. Sigara

35 yıldan uzun süredir devam eden sigara kullanımı kolon adenomu oluşma riskini artırmaktadır (6).

2.8.5. Alkol

Kronik alkoliklerde folat ve metiyonin eksikliği sebebiyle kolorektal kanser riskinin artmış olabileceği düşünülmektedir (101).

2.8.6. Enflamatuvar Bağırsak Hastalıkları

Enflamatuvar bağırsak hastalığı olanlarda kolorektal kanser riski, kolitin süresi ve yaygınlığı ile paralel olarak artış göstermektedir. Ülseratif pankolitte kolorektal kanser oluşma riski 10 yılda %2 iken, 20 yılda %8'e ve 30 yılda ise %18'e ulaşmaktadır (6).

2.8.7. Pelvik Radyasyon

Pelvik radyasyon almanın rektal kanser gelişme riskini artırmasının, radyasyon hasarının direk etkisinden mi yoksa hastada bulunan başka bir pelvik tümör öyküsü sebebiyle mi olduğu kesin değildir (6).

2.8.8. Genetik Risk Faktörleri

- FAP
- Herediter Polipozis Dışı Kolon Kanserleri (HNPCC veya Lynch Sendromu)
- Hamartomatöz Polipozis Sendromları
- Edinsel Somatik Defektler

2.8.9. Endokrin Faktörler

Akromegalide olduğu gibi dolaşımdaki GH ve IGF-I düzeylerinin arttığı durumlarda kolorektal kanser riski artmaktadır (6).

2.8.10. Üreterosigmoidostomi

Üreterosigmoidostomi yapılmış hastalarda hem adenom hem de karsinom oluşma riski artmaktadır (6).

2.9. KALITSAL KOLOREKTAL KANSERLER

2.9.1. FAP (Famlyal Adenomatöz Polipozis)

Otozomal dominant kalıtmı bu sendrom kolorektal adenokarsinomların sadece %1'inden sorumludur. FAP'da görülen genetik anormallik APC gen mutasyonudur. FAP'lı hastaların %75'inde APC mutasyon testi pozitifdir. FAP'lı hastaların çoğunda bilinen aile öyküsü vardır. Ancak hastaların %25'inde başka bir aile ferdiinde tutulum yoktur. Klinik olarak hastalarda puberteden hemen sonra yüzlerce ya da binlerce adenomatöz polip gelişir. Bu hastalarda yaşam boyu kolorektal kanser riski yüksek olup, bu risk 50 yaşında %100'e ulaşır (6).

2.9.2. Gardner Sendromu

FAP'ın bir varyantıdır. FAP ile desmoid tümörler, epidermoid kistler, retina pigment epitelinin konjenital hipertrofisi ve mandibula osteomları gibi ekstraintestinal semptomların birlikte olduğu bir sendromdur (6).

2.9.3. Turcot Sendromu

FAP ve santral sinir sistemi tümörlerinin birlikte olduğu bir sendromdur (6).

2.9.4. AFAP (Azaltılmış Famlyal Adenomatöz Polipozis)

FAP varyantıdır fakat APC gen mutasyonu FAP'ın aksine sadece %30 hastada pozitifdir. Genellikle sağ kolona lokalize 10-100 arası polip mevcuttur. FAP'a göre daha geç yaşta ortaya çıkar. Kolorektal karsinom gelişme riski %50'den fazladır. FAP'tan farklı olarak 55 yaş üzerinde ortaya çıkar (6).

2.9.5. Herediter Polipozis Dışı Kolon Kanseri (HNPCC veya Lynch Sendromu)

Otozomal dominant kalıtmı bu sendromun görülme sıklığı FAP'tan daha fazladır. Tüm kolorektal kanserlerin %1-3'ünden sorumludur (6). HNPCC tanısı Amsterdam Kriterlerinin kullanıldığı aile hikayesiyle konulur. HNPCC'de genetik defekt yanlış eşleşim tamir genlerindedir. Bu bozukluğu taşıyan fertlerin %70'inde kolorektal kanser gelişir. Sporadik kolorektal kanserlere oranla ortalama 40-45

yaşlarında olmak üzere daha erken yaşlarda görülür, daha sık oranda proksimal kolonda yerleşim gösterir ve evresi ne olursa olsun prognozu daha iyidir.

HNPCC endometriyal, over, mide, meme, mesane, pankreas, ince bağırsak gibi kolon dışı kanserlerle birlikte ise **Lynch II Sendromu** olarak adlandırılır.

2.9.6. Familyal Kolorektal Kanser

Kolorektal kanserli hastaların %10-15'i sendromik olmayan familyal kolorektal kanserli hastalardır. Hayat boyu kolorektal kanser gelişme riski aile öyküsü olmayanlarda %6 iken, birinci derece akrabalarından bir kişide kolorektal kanser öyküsü varsa risk %12'ye, birinci derece akrabalarından iki kişide kolorektal kanser öyküsü varsa risk %35'e yükselmektedir (6).

2.10.PROGNOSTİK FAKTÖRLER

2.10.1.Morfoloji

Tümör büyüklüğü, ülser olması, çevreye infiltre olması, tümüyle tıkanıklık oluşturması, perforasyon yapması, infiltratif tipte büyümesi gibi makroskobik ve mikroskobik özellikleri nedeniyle prognozu etkiler (102).

2.10.2.Histolojik Tip

Tümörün histolojik tipi hastalığın prognozu ile yakın ilişkilidir. Dünya Sağlık Örgütü, kolorektal karsinomların sınıflamasını en son 2000 yılında yenilemiştir (103) (tablo 2.2).

Tablo 2.2. Kolorektal karsinomlar için WHO sınıflaması

Adenokarsinom
Medüller karsinom
Müsinöz adenokarsinom (>%50 müsinöz alan)
Taşlı yüzük hücreli karsinom (>%50 taşlı yüzük görünümünde hücre)
Skvamöz hücreli (epidermoid) karsinom
Adenoskuamöz karsinom
Küçük hücreli (yulaf hücreli) karsinom
Andiferansiye karsinom
Diğer (Papiller karsinom gibi...)

2.10.2.1. Adenokarsinom

Kolorektal kanserlerin yaklaşık %85-90'ı bu grupta yer alır. Tanımı gereği muskularis mukozayı geçmiş submukozaya infiltre tümörlerdir.

Tümör hücreleri değişik boyut ve şekillerde gland benzeri yapılar oluşturmalarıyla karakterizedirler. Bu özelliklerine göre de derecelendirmeleri yapılır.

2.10.2.2. Müsinöz Adenokarsinom

Kolorektal kanserlerin yaklaşık %10'unu oluştururlar. Sağ kolonda daha sık görülmektedirler. Adenokarsinomlardan daha kötü prognozludurlar.

2.10.2.3. Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom

Bu tümörün özelliği tümör hücresinin müsin içeriğinin, hücrenin %50'sinden fazlasını kaplamasıdır. Fazla miktardaki intrasitoplazmik müsin içeriğinin nükleusu bir kenara itmesinin oluşturduğu görüntü sebebiyle bu şekilde isimlendirilmiştir.

2.10.2.4. Medüller Karsinom

Nadir görülür. Veziküler nükleuslu, geniş sitoplazmalı tümör hücre adaları şeklinde görülür. Tümör hücrelerinin arasında belirgin lenfosit infiltrasyonu mevcuttur.

2.10.2.5. Skuamöz Karsinom

Bu histolojik tip çok nadir saptanmakla birlikte, uzun süredir devam eden rektal fistüllerde ve kronik enflamatuvar bağırsak hastalığı olanlarda görülme riski artmıştır.

2.10.2.6. Adenoskuamöz Karsinom

Skuamöz hücreli karsinom ile adenokarsinom özelliklerini birlikte bulundurur. Bu histolojik tip nadir görülür.

2.10.2.7. Küçük Hücreli Karsinom

Bu tümör histopatolojik olarak küçük hücreli akciğer karsinomu ile aynı özellikleri taşır. Tanı sırasında hemen hemen tüm olgularda lenf nodu ve karaciğer metastazı vardır. Prognozu oldukça kötüdür.

2.10.2.8. Andiferansiye Karsinom

Epitelyal tümörden öteye bir şey söyletmeyecek kadar diferansiasyonu az olan tümörlerdir.

2.10.3.Tümörün Grade'i

Adenokarsinomlar glandüler görünümleri esas alınarak grade'lenirler. Üç veya dört kademeli grade'leme sistemlerinin de kullanılabilir olmasına rağmen basitliği ve verimliliği nedeniyle CAP (Amerikan Patologlar Derneği) tarafından önerilen iki kademeli grade'leme sistemi kullanılmaktadır. Önerilen bu sistemde, tümördeki glandüler yapı oranı %50'nin üzerindeyse düşük grade, %50'nin altındaysa yüksek grade olarak olarak sınıflandırılır (104).

2.10.4.Tümörün Evresi

Kolorektal karsinomlarda prognozun en iyi belirteci, tümörün anatomik dağılımı ile ilgilidir (104). Kolorektal karsinomların evrelemesinde en sık kullanılan 3 farklı sistem:

- Dukes sistemi
- Astler-Coller sistemi
- TNM sistemi

1932 yılında yapılan (tablo 2.3) ve 1936 yılında modifiye edilen (tablo 2.4) Dukes evrelemesi tümörün derinliği ve lenf nodu tutulumunu esas almaktadır. Kolay ve anlaşılır olması nedeniyle önemini korumaktadır. 1954 yılında Astler ve Coller tarafından geliştirilen diğer bir evreleme sistemi ise Dukes sınıflamasına benzemekle birlikte, derinlikleri farklı olan tümörde lenf nodu tutulumunu da değerlendirmesiyle farklılık göstermektedir (Tablo 2.5). 1967 yılında Turnbull bu sınıflamaya uzak metastazla ilgili olan D evresini eklemiştir.

Daha ayrıntılı, fakat prognozla Dukes kadar ilişkili olmayan başka bir evreleme sistemi olan ve günümüzde en çok kabul gören TNM sınıflaması; "AJCC (Amerikan Birleşik Kanser Komisyonu)" ve "UICC (Uluslararası Birleşik Kanser Merkezi)" nin tümör, lenf nodu ve metastaz komponentlerini gruplandırmasıyla ortaya konmuştur (102). TNM sınıflamasındaki "T", primer tümörün tanı anındaki lokal yaygınlığını karşılar. "N", lenf nodu tutulumu olup olmadığını, "M", uzak metastaz bulunup bulunmadığını belirtir. TNM sınıflamasının yapılması için hastanın tedavi almamış olması gerekir.

TNM tanımlaması tablo 2.6'da, TNM sınıflaması ile 5 yıllık sağ kalım arasındaki ilişki ise tablo 2.7'de özetlenmiştir (6).

Tablo 2.3. 1932 Dukes evrelemesi

Evre A	Tümör kolon duvarında sınırlı Muskularis propriayı aşmamış
Evre B	Tümör muskularis propriayı aşmış, Serozayı / perirektal dokuyu invaze etmiş, Lenf nodu tutulumu yok
Evre C	Lenf nodu tutulumu var

Tablo 2.4. 1936 Dukes evrelemesi

Evre A	Tümör kolon duvarında sınırlı Muskularis propriayı aşmamış
Evre B	Tümör muskularis propriayı aşmış, Serozayı / perirektal dokuyu invaze etmiş, Lenf nodu tutulumu yok
Evre C1	Bölgesel lenf nodu tutulumu yok
Evre C2	Mezenterik kan damarları etrafındaki lenf nodlarında tutulum var

Tablo 2.5. Astler-Coller evrelemesi

Evre A	Tümör mukozada sınırlı
Evre B1	Tümör submukozaya sınırlı, lenf nodu tutulumu yok
Evre B2	Tümör muskularis propriaya sınırlı, lenf nodu tutulumu yok
Evre C1	Tümör kolon duvarını aşmadığı halde lenf nodu tutulumu var
Evre C2	Tümör kolon duvarını aşmış ve lenf nodu tutulumu var

AJCC/UICC TNM tanımlaması

Tablo 2.6. Kolorektal kanserlerde TNM tanımlaması

Primer tümör (T)

TX:Primer tümör bilinmiyor

T0:Primer tümör yok

Tis: Karsinoma in-situ (intraepitelyal veya intramukozal karsinom)

T1: Tümör submukozaya invaze

T2: Tümör muskularis propriaya invaze

T3:Tümör muskularis propriayı geçerek serozal veya perikolik/ perirektal bölgeye invaze

T3'ün opsiyonel subklasifikasyonu:

- pT3a- minimal invazyon (muskularis propriayı 1 mm.den daha az geçen tümörler)

- pT3b- hafif invazyon (muskularis propriayı 1-5 mm arasında geçen tümörler)

- pT3c- orta derecede invazyon (muskularis propriayı 5-15 mm arasında geçen tümörler)

- pT3d- belirgin invazyon (muskularis propriayı 15 mm'den fazla geçen tümörler)

T4: Tümör komşu organ veya yapılara invaze ise (T4a) veya periton perforasyonu yapıyor ise (T4b)

Bölgesel lenf nodları (N)

NX: Bölgesel lenf nodu değerlendirilememekte

N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok

N1: 1-3 adet lenf nodu metastazı var

N2: 4 veya daha fazla lenf nodu metastazı var

N3: Major arter trasesinde lenf nodu metastazı var

Uzak metastaz (M)

MX: Uzak metastaz değerlendirilememekte

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz var

Tablo 2.7. Kolorektal kanserlerde TNM sınıflaması ve 5 yıllık sağ kalım

Evre	T	N	M	5 Yıllık Sağkalım
Evre I	T1-2	N0	M0	%70-95
Evre II	T3-4	N0	M0	%54-65
Evre III	Herhangi bir T	N1-3	M0	%39-60
Evre IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1	%0-16

2.10.5.Lenf Nodu Metastazı

Çok sayıda lenf nodu metastazı bulunması kötü prognoz ile ilişkilidir. İmmünohistokimyasal veya moleküler teknikler ile tespit edilen mikrometastazlar da kötü prognozla ilişkilendirilmekle birlikte bu konu halen tartışmalıdır (105).

2.10.6.Anjiyogenez

Tümör stromasının neovaskülarizasyonu, tümörün büyümesinde kritik bir rol oynar. Yüksek miktardaki mikrodamar oluşumu kötü prognostik kriter olarak görülmektedir (106).

2.10.7.Yaş

Çok genç ve çok yaşlı kişilerde görülen tümörler kötü prognoz ile ilişkilidir (102,107).

2.10.8.Cinsiyet

Prognoz kadınlarda erkeklerden biraz daha iyidir (102,107).

2.10.9.Tümör Lokalizasyonu

Prognoz üzerine etkisi tartışmalıdır. Bazı çalışmalar sigmoid kolon ve rektumda yerleşen tümörlerin kötü prognozlu olduğu gösterirken, bazı çalışmalar ise tümör lokalizasyonunun prognostik öneminin minimal olduğunu göstermektedir (102,107).

2.10.10. Vasküler İnvazyon

Vasküler invazyon varlığında 5 yıllık sağ kalım süresi belirgin azalma gösterir. Lenfatik damar invazyonu, kan damarı invazyonundan daha az önem taşımaktadır (102,107).

2.10.11. Perinöral İnvazyon

Genellikle ileri evre tümöre işaret eder ve diğer kötü prognostik bulgularla birlikte olma eğilimindedir (102,107).

2.10.12. Enflamatuvar Yanıt

Polimorfonükleer lökositler, özellikle eozinofiller, plazma hücreleri, mast hücreleri ve histiositleri içeren enflamatuvar yanıt iyi prognoz olarak görülmektedir (108).

2.10.13. Rezeksiyon Sınırı

Rezeksiyonda tümöre yakın cerrahi sınır lokal nüks ve metastaz olasılığının artmasına neden olur (6, 102).

2.10.14. Radyal Sınır

Kolorektal kanserlerde bağırsak duvarı boyunca yayılımın göstergesi olan radyal sınır prognozu belirlemede anlamlı bir faktördür (102).

2.10.15. Genetik Belirteçler

Bazı genetik değişikliklerin kolorektal karsinomlar ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Kromozom 18q'nun allelik kaybı kötü prognoz olarak bildirilmektedir. Ayrıca, 18q, 17p, 1p, 5q veya 8p'nin allelik kayıplarının, ras gen mutasyonunun, apoptozda görev alan genlerin ekspresyonunun prognostik önemi vardır (102). Yine hücre yüzey moleküllerinin (CD44 ve varyantları, ICAM1, galektin 3) ekspresyonu da kötü prognoz ile ilişkilidir.

2.10.16. Tümörün Boyutu

Tümör boyutu ile prognoz arasında korelasyon olmasına rağmen güvenilir bir prognostik faktör değildir (109).

2.10.17. DNA Ploidisi

Adenomların karsinoma dönüşümünde DNA miktarının artışı yanısıra DNA anormallikleri de görülmektedir. Çeşitli serilerde farklı (%40, %90) olmakla birlikte kolon karsinomlarının anöploid olma sıklığı yüksektir (54,110). Anöploid tümörlerde genellikle vasküler invazyon görülmektedir.

2.10.18. CEA (Karsino Embriyonik Antijen) Düzeyi

CEA 150-300 kDa molekül ağırlığında, %50 karbonhidrat içeriğine sahip glikoprotein yapılı bir tümör belirteçidir. Erken fetal hayatta gastrointestinal kanal epitelinde yer alır, ancak doğumdan sonra saptanmaz. CEA, tümör hücre membranının periferinde yerleştiğinden kolayca vücut sıvılarına salınmaktadır.

Kolorektal kanserlerde %70, pankreas kanserinde %55, mide kanserinde %50, akciğer kanserinde %45 ve over kanserinde %25 olmak üzere serum CEA düzeyleri çeşitli kanserlerde farklı sıklıklarda yükselmektedir.

Yanlış negatif ve yanlış pozitif değerlerinin yüksek olması sebebiyle kanser tarama amaçlı kullanılmaz. Operasyon öncesi CEA değerlerinin yüksek olmasının prognostik önemi vardır ve yüksek olasılıkla metastaz gelişeceğinin göstergesidir. Operasyonla birlikte azalmış CEA değerlerinin tekrar yükselmesi rekürrens göstergesidir. Yapılan laparotomilerle gösterilmiştir ki %90 olarak, serumda CEA yüksekliği, rekürrensin klinik olarak tespitinden yaklaşık 5 ay önce saptanabilmektedir (37).

2.10.19. CA 19-9 (Karbonhidrat Antijen 19-9) Düzeyi

CA 19-9 oldukça yüksek molekül ağırlıklı (200-1000 kDa), glikoprotein yapılı bir tümör belirteçidir. CA 19-9 normal insan pankreatik ve biliyer duktus hücrelerinde, mide, kolon, endometriyum ve salgı bezleri epitelinde sentezlenmektedir.

Kolorektal kanserli hastaların %30'unda limit değer olan 37 kU/L üzerinde ölçülmektedir. Pankreatit ve benign gastrointestinal hastalıklarda %10-20 oranında 120 kU/L'ye kadar yükseldiği gösterilmiştir.

CA 19-9 pankreas ve kolorektal kanserlerin takibinde kullanışlı bir belirteçdir. Radyolojik ve klinik bulguların belirmesinden 1 ile 7 ay öncesinde rekürrensi gösterebilmektedir (37).

2.11.POLİPLER

Polip bağırsak mukoza epiteli yüzeyinden lümenine doğru çıkıntı oluşturan tümöral kitledir (14). Polipler mukozanın anormal maturasyonu, enflamasyonu ya da yapısal bozukluğu sonucu meydana gelebilir. Bunlar neoplastik olmayan poliplerdir ve malignite potansiyeline sahip değildirler.

Epitelyal proliferasyon ya da displazi sonucu meydana gelen poliplere adenomatöz polip ya da adenom adı verilir. Bunlar neoplastik lezyonlar olup karsinom öncülleridir.

Poliplerin büyük çoğunluğu özellikle kolondakiler sporadik olarak meydana gelir. Sıklıkları yaşla birlikte artar. Poliplerde sınıflama esas olarak karsinom gelişme riskine göre yapılmaktadır. Buna göre kanser gelişme riski olmayan ya da çok düşük olan poliplere neoplastik olmayan polipler, riskin yüksek olduğu poliplere ise neoplastik polipler adı verilmektedir (14).

2.11.1.Neoplastik Olmayan Polipler

- Enflamatuvar polipler
- Hamartomatöz polipler
- Submukozal polipler (lenfoid polip, lipom)
- Hiperplastik polipler

Enflamatuvar polipler: Mikroskopik olarak irili ufaklı gland yapıları içerirler ancak epitelde atipi gözlenmez. Bu nedenle bu lezyonlar prekanseröz değildir. Fakat makroskopik olarak adenomatöz poliplerden ayıramayacakları için çıkarılmaları gereklidir. En sık enflamatuvar bağırsak hastalığı seyrinde görülmekle birlikte amip koliti, iskemik kolit ve şistozoma kolitinde de görülebilirler (6).

Hamartomatöz polipler: Ön planda muskularis mukoza katmanındaki hiperplazi ile karakteristiktirler ve mukoza düzeyinde epitelyal bir atipi göstermezler. Bu nedenle de karsinom gelişimi pratik olarak yok denilebilir.

Juvenil polipler her yaşta görülebilmekle birlikte çocukluk döneminin tipik polipleridir (6).

Familyal Juvenil polipozis otozomal dominant bir hastalıktır. Kolon ve rektumda yüzlerce polip bulunur. Soliter juvenil polipten farklı olarak malign dejenerasyon görülebilir. Yıllık taramalar 10-12 yaşında başlamalıdır (6).

Peutz-Jeghers Sendromu özellikle ince bağırsakta olmak üzere tüm gastrointestinal kanalda polipozis görülür. Bu nedenle cerrahi sadece tıkanıklık, kanama veya polipte adenomatöz değişim görüldüğünde uygulanır. Hastaların çoğunda yanaklarda ve dudak mukozasında melanin lekeleri görülür (6).

Cronkite-Canada Sendromu gastrointestinal polipozis, alopesi, ciltte pigmentasyon, el ve ayakta tırnak kaybı ile karakterizedir. Cerrahi müdahale, tıkanıklık gibi bir semptom gelişirse uygulanır (6).

Cowden Sendromu otozomal dominant bir hastalıktır. Gastrointestinal polipler, yüzde trikilemoma, meme kanseri ve tiroid hastalığı ile birlikte olabilir. Tedavi semptomlara yöneliktir (6).

Submukozal polipler: Genellikle çocukluk çağında görülen submukozal lenfoid yapılar ya da erişkinlerde görülen submukozal lipomlardır. Gerçek anlamda polip değildirler.

Hiperplastik polipler: Günümüzde en çok tartışılan poliplerdendir. Sıklıkları yaşla birlikte artar. Genellikle 5 mm ya da daha küçük boyuttadırlar. Saplı ya da sapsız olabilirler. Müsin içerikleri normal mukozaya göre artmıştır. Hücrelerde atipi görülmeyişi sebebiyle hiperplastik poliplerin büyük bir çoğunluğu malignite potansiyeline sahip değildir. Ancak sağ kolonda yerleşim gösteren, hiperplastik polip olarak tanımlanan ve sesil serrated adenom adı verilen bazı polipler kolorektal karsinom öncülü olabilirler. Bunlar tek ya da multipldir (''hiperplastik polipozis''). Mikrosatellit instabilite gösteren bu polipler yanlış eşleşim tamir yolu ile kolorektal kansere kaynak olabilirler (14).

Günümüzdeki bilgiler ışığında, bir kişide saptanan hiperplastik polip ya da polipler 10 mm'den büyük iseler ya da sağ kolonda yerleşik iseler ve kişisel ya da ailesel kolorektal kanser öyküsü mevcutsa bu kişiler hem genetik araştırmalara hem de kolonoskopik izleme programlarına adaydırlar.

2.11.2.Neoplastik Polipler

Polip epitel hücrelerinde atipi görülmesi polipin neoplastik olarak sınıflandırılmasına yol açar. Bu polipler günümüzde adenom olarak adlandırılmaktadırlar. Adenomlarda kural olarak belirli düzeyde displazi mevcuttur. Displazisiz bir adenom tanım olarak mümkün değildir. Neoplastik poliplerin birçoğu kansere dönüşmez fakat kolorektal kanserlerin yaklaşık %95'i polip zemininden gelişir.

Adenomlar histolojik olarak baskın olan bez yapısı temel alınarak sınıflandırılırlar (14).

Tübüler adenom: bezlerin en az % 75'i dallanarak tübüler ağ oluşturur, genelde küçüktürler ve hafif displazi içerirler.

Villöz adenom: bezlerin en az %75'i parmak şeklinde çıkıntılar gösteren villöz yapıdadır. Daha ağır displazi gösterirler ve daha büyüktürler.

Tübülovillöz adenomlar: her iki tipin karışımıdır.

Malign dejenerasyon polipin boyutu, histolojisi ve displazi derecesi ile ilgilidir. Malignite riski tubuler adenomda %5 , tubulovillöz adenomda %22 ve villöz adenomda %40'dır. 1 cm.'nin altındaki poliplerde kanser insidansı %1, 1-2 cm. boyutundaki adenomlarda %10 ve 2 cm.'nin üzerindeki adenomlarda %45'lere ulaşabilmektedir. Sesil lezyonlarda, pedinküllü lezyonlara oranla maligniteye dönüşme eğilimi daha fazladır (6).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. KONTROL VE HASTA GRUPLARININ ÖZELLİKLERİ

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun onayı alınarak gerçekleştirildi. Çalışmaya katılmayı kabul eden tüm hastalardan imzalı olur ve bilgilendirme formu alındı.

Çalışma gruplarımız Mart 2008 - Mart 2010 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı ve Bezm-i Alem Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Poliklinikleri'nde kolorektal kanser tanısı alan hastalar ile Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Polikliniği'nde kolorektal polip tanısı alan hastalardan oluşturuldu. Kontrol grubu hasta grupları ile benzer yaş ve cinsiyette sağlıklı gönüllülerden oluşturuldu.

Çalışmada yer alan vaka grupları:

Kolorektal kanserli malign grup (n:31) : Kolorektal kanseri tanısını yeni alan ve henüz hiçbir tedavi almamış olan hastalar (10 kadın, 21 erkek) çalışma kapsamına alındı. Hastalardan cerrahi müdahale öncesi ve tümörün çıkartılmasından sonraki 30. günde kan örnekleri alınarak EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeyleri belirlendi.

Kolorektal polipli benign grup (n:23) : Kolonoskopi uygulanıp kolorektal polip tanısı alan hastalar (7 kadın, 16 erkek) çalışma kapsamına alındı. Hastalardan cerrahi müdahale öncesi ve polipektomi sonrası 30. günde kan örnekleri alınarak EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeyleri belirlendi.

Kontrol grubu (n:30) : Sağlıklı gönüllülerden oluşturuldu (11 kadın, 19 erkek).

Kontrol grubunda ve hasta gruplarında cerrahi müdahale öncesinde geleneksel tümör belirteçleri olan CEA ve CA19-9 düzeyleri ECLIA (elektrokemilüminesans immün ölçüm) yöntemi ile rutin analiz laboratuvarında belirlendi.

Olguların dışlanma ölçütleri:

Akromegali, gigantism, dwarfism gibi GH ile ilgili bir patolojisi olan, tip I ve II diyabeti, tiroid fonksiyon bozukluğu olan ve obez olgular çalışmaya kabul edilmedi.

Çalışmamız için tüm gruplardan kuru tüplere alınan 10 ml kan örnekleri bekletilmeden santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri analiz zamanına kadar -80°C 'de saklandı.

3.2. GEREÇLER

- Derin dondurucu (-80⁰C) (Rua Instruments)
- Santrifüj (Bifuge stratus Heraeus Instruments)
- Soğutmalı Santrifüj (Christ II KS)
- Ependorf santrifüjü (Hettich Mikro 200R)
- ELISA okuyucu (Bio-tek ELx 800)
- ELISA yıkayıcı (Bio-tec ELx50)
- Vortex (Girdap Elektromag)
- Çalkalayıcı (Labor LE203)

3.3. YÖNTEMLER

3.3.1. Serum EGF Düzeyinin Ölçümü

Serum EGF düzeylerinin belirlenmesinde katı faz sandviç ELISA prensibine dayanan ticari kit (Invitrogen Immunoassay Kit, cat no: KHG0062/KHG0061) kullanıldı.

Prensip

Spesifik poliklonal EGF antikorları ile kaplı plaka kuyucuklarına standartlar ve örnekler pipetlenir. Bağlanma için gerekli inkübasyon süresinin ardından yıkama işlemi ile bağlanmayan moleküller uzaklaştırılır. EGF'ye spesifik streptavidin peroksidaz (HRP) ile işaretlenen biyotinli monoklonal antikorlar eklenir. Eklenen bu antikorlar ikinci inkübasyon süresinde kuyucuklara sabitlenen antikorlar tarafından bağlanan EGF moleküllerine bağlanarak dört üyeli sandviç modeli oluşturur. Yıkama işleminden sonra substrat çözeltisi eklenir. Oluşan rengin absorbansı 450 nm'de ölçülerek örneklerdeki EGF konsantrasyonları standart eğrisi yardımıyla hesaplanır.

Ayırıcılar

- Poliklonal EGF antikorları ile kaplı 96 kuyucuklu plaka
- EGF standartları
- Standart seyreltme tamponu
- Biyotinli EGF antikorları
- Konsantre streptavidin-peroksidaz (HRP) çözeltisi
- HRP seyreltme çözeltisi

- Yıkama tamponu konsantre çözeltisi
- TMB (tetrametilbenzidin) substratı
- Reaksiyon sonlandırma çözeltisi
- Plaka kaplayıcı yapışkan bantlar

Standartların Hazırlanması

- Ampülün üzerindeki işarete kadar standart seyreltme tamponu eklenerek 5.000 pg/ml'lik stok standart hazırlandı. Nazıkçe karıştırılarak iyice çözünmesi sağlandı. 10 dakika beklendi. 8 adet ependorf tüp hazırlandı.
- Birinci tüpe 5.000 pg/ml'lik stok standarttan 30 µl, standart seyreltme tamponundan 570 µl koyularak 250 pg/ml'lik standart hazırlandı.
- İkinci tüpe 300 µl seyreltme tamponu ve 300 µl birinci tüpte hazırlanan 250 pg/ml'lik standart çözeltiden koyuldu.
- Üçüncü tüpe 300 µl seyreltme tamponu ve 300 µl ikinci tüpte hazırlanan 125 pg/ml'lik standart çözeltiden koyuldu.
- Sekizinci tüpe kadar her tüpe 300 µl seyreltme tamponu ve 300 µl bir önceki tüpte hazırlanan standarttan koyularak her seferinde konsantrasyonu yarıya inen standart çözeltiler hazırlandı.
- Sekizinci tüpe sadece seyreltme tamponu koyulduğundan bu tüp kör olarak kullanıldı.

Tüp no	1	2	3	4	5	6	7	8
Standart Konsantrasyonu (pg/ml)	250	125	62,5	31,2	15,6	7,8	3,9	0

Uygulama

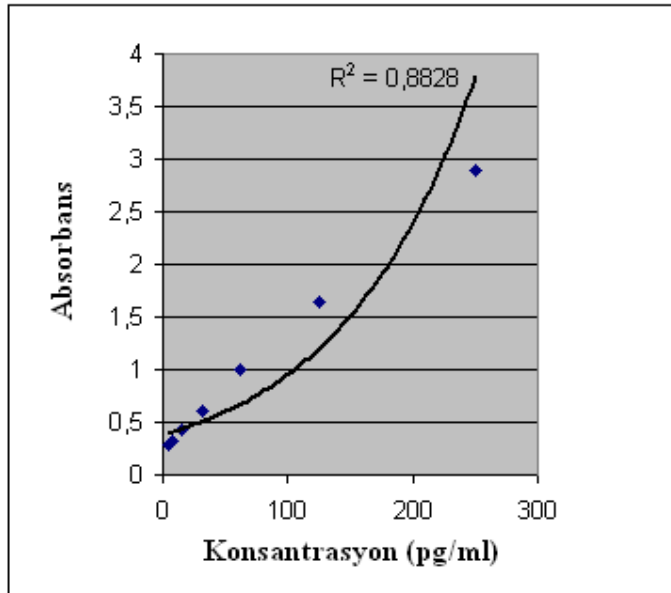
Kullanım öncesinde tüm reaktif ve örnekler oda sıcaklığına getirildi.

- Her kuyucuğa 200 µl standart ve seyreltilmiş serum örnekleri pipetlendi.
- Kör kuyucuğu hariç tüm kuyucuklara 50 µl biotin konjugatı eklenip plaka nazıkçe çalkalandı.
- Kör kuyucuğu hariç tüm kuyucuklara 100 µl standart seyreltme tampon pipetlendi.
- Her kuyucuğa 100 µl standart ve örnekler pipetlendi.

- Plakanın üzeri yapışkan bant ile kapatılarak oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi.
- 400 µl seyreltilmiş yıkama tamponu ile 4 kez yıkandı.
- Kör kuyucuğu hariç tüm kuyucuklara 100 µl biotin konjugatı eklendi.
- Plaka yapışkan bant ile kapatılarak oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi.
- 400 µl seyreltilmiş yıkama tamponu ile 4 kez yıkandı.
- Kör kuyucuğu hariç tüm kuyucuklara 100 µl seyreltilmiş HRP çözeltisi eklendi.
- Plaka yapışkan bant ile kapatılarak oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.
- 400 µl seyreltilmiş yıkama tamponu ile 4 kez yıkandı.
- 100 µl TMB substratı eklendi. Kuyucuklarda mavi renk oluşmaya başladı.
- Karanlıkta oda sıcaklığında 30 dak. inkübe edildi.
- 100 µl reaksiyon sonlandırma çözeltisi eklendiğinde kuyucuklardaki renk maviden sarıya döndü. Vakit kaybetmeden 450 nm’de ölçüm yapıldı.

Hesaplama

Standart konsantrasyonları x eksenine, standartlara ait absorbanslar ise y eksenine yerleştirilerek dört parametre lojistik fonksiyon eğrisi şeklinde standart eğrisi çizildi. Örneklerin konsantrasyonları standart eğrisinden pg/ml olarak hesaplandı.



Grafik 3.1 EGF Standart Eğrisi

3.3.2. Serum IGF-I Düzeyinin Ölçümü

Serum IGF I düzeylerinin belirlenmesinde katı faz sandviç ELISA prensibine dayanan ticari kit kullanıldı. (Assaypro İmmunoassay Kit, cat no: EI1001-1) kullanıldı.

Prensip

İnsan IGF-I'e spesifik monoklonal antikorlar ile kaplanmış olan plaka kuyucuklarına standartlar ve örnekler pipetlenir. Standart ve örneklerdeki IGF-I, kuyucukta bulunan spesifik IGF-I antikorları ile bağlanır. Oluşan kompleks streptavidin peroksidaz ile işaretlenen biyotinli poliklonal antikorlar eklendiğinde bu antikorlara bağlanarak sandviç modeli oluşturur. Bu işlemler esnasında bağlanmayan tüm moleküller yıkama ile uzaklaştırılır. Enzimin substratının eklenmesiyle oluşan rengin absorbansı 450 nm'de ölçülür. Rengin yoğunluğu ile orantılı olan IGF-I konsantrasyonları çizilen standart grafiğinden hesaplanır.

Ayırıcılar

- Monoklonal IGF-I antikorlu ile kaplı 96 kuyucuklu plaka
- IGF-I standartı
- Biyotinli IGF-I antikorlu
- Streptavidin-peroksidaz (HRP) çözeltisi
- Seyreltme karışımı konsantre çözeltisi
- Serum ön işlem tamponu
- Yıkama tamponu konsantre çözeltisi
- TMB substratı
- Reaksiyon sonlandırma çözeltisi
- Plaka kaplayıcı yapışkan bantlar

Örneklerin Hazırlanması

20 µl serum ile 60 µl serum ön işlem tamponu karıştırılarak 10 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Seyreltme karışımı ile 10 kez seyreltildi. Bu işlemler sonucunda seyreltme faktörü 40 olarak hesaplandı.

Standartların Hazırlanması

- Liyofilize standart 4 ml seyreltme karışımı ile çözülerek 24 ng/ml'lik stok standart hazırlandı. 10 dakika iyice çözünmesi için beklendi.
- Birinci tüpe 24 ng/ml'lik stok standarttan 0.5 ml koyuldu.
- İkinci tüpe 0,25 ml seyreltme karışımı ve 0,25 ml birinci tüpte hazırlanan standart çözeltilerden koyuldu.
- Üçüncü tüpe 0,25 ml seyreltme karışımı ve 0,25 ml ikinci tüpte hazırlanan standart çözeltilerden koyuldu.
- Sekizinci tüpe kadar her tüpe 0,25 ml seyreltme tamponu ve 0,25 ml bir önceki tüpte hazırlanan standarttan koyularak her seferinde konsantrasyonu yarıya inen standart çözeltiler hazırlandı.
- Sekizinci tüpe sadece seyreltme karışımı koyulduğundan bu tüp kör olarak kullanıldı.

Tüp no	1	2	3	4	5	6	7	8
Standart Konsantrasyonu (ng/ml)	24	12	6	3	1,5	0,75	0,38	0

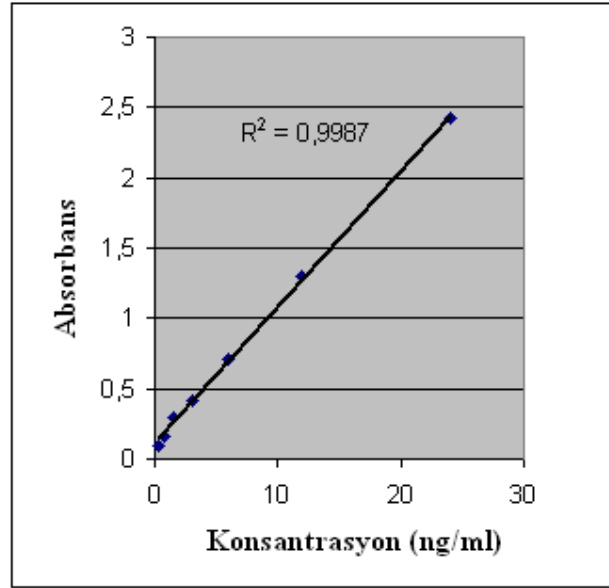
Uygulama

- Kullanım öncesinde tüm reaktif ve örnekler oda sıcaklığına getirildi.
- Her kuyucuğa 50 µl standart ve örnek pipetlendi.
- Plaka yapışkan bant ile kapatılarak oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi.
- 200 µl seyreltilmiş yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 50 µl biotin konjugatı eklendi
- Plaka yapışkan bant ile kapatılarak oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi.
- 200 µl seyreltilmiş yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.
- Tüm kuyucuklara HRP çözeltilisinden 50 µl eklendi.
- Plaka yapışkan bant ile kapatılarak oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.
- 200 µl seyreltilmiş yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.
- 50 µl TMB substratı eklendi. Kuyucuklarda mavi renk oluşmaya başladı. 15 dakika beklendi.

- 50 µl reaksiyon sonlandırma çözeltisi eklendikten sonra kuyucuklardaki renk maviden sarıya döndü. 450 nm’de ölçüm yapıldı.

Hesaplama

Standart konsantrasyonları x eksenine, standartlara ait absorbanlar ise y eksenine yerleştirilerek lineer regresyon eğrisi çizildi. Örneklerin konsantrasyonları standart eğrisinden hesaplandı. Bulunan sonuçlar seyreltme faktörü olan 40 ile çarpılarak IGF-I değerleri ng/ml olarak hesaplandı.



Grafik 3.2 IGF I Standart Eğrisi

3.3.3. Serum TGF β1 Düzeyinin Ölçümü

Serum TGF β1 düzeylerinin belirlenmesinde katı faz sandviç ELISA prensibine dayanan ticari kit (İnvitrogen İmmunoassay Kit, cat no: KAC1688/KAC1689) kullanıldı.

Prensip

TGF β1'e spesifik monoklonal antikorlar ile kaplı olan plaka kuyucuklarına standartlar ve örnekler pipetlenir ve inkübe edilir. İnkübasyon sırasında TGF β1'in antikorlara bağlanması gerçekleşir, bağlanmayan kısım yıkama işlemiyle uzaklaştırılır. Ardından eklenen streptavidin peroksidaz ile işaretli biyotinli antikor, TGF β1'e

bağlanarak dört üyeli sandviç modeli oluşturur. İnkübasyonun ardından yıkama ile bağlanmayan moleküller uzaklaştırılır. Daha sonra ilave edilen enzim substratı ile oluşan rengin absorbanası 450 nm'de ölçülür. Oluşan rengin yoğunluğu ile orantılı olan TGF β 1 konsantrasyonları çizilen standart grafiğinden bulunur.

Ayrıraçlar

- Monoklonal TGF β 1 antikoru ile kaplı 96 kuyucuklu plaka
- TGF β 1 standardı
- Standart seyreltme tamponu
- Özütleme çözeltisi
- Biotinli TGF β 1 antikoru
- Konsantre HRP çözeltisi
- HRP seyreltme çözeltisi
- Yıkama tamponu konsantre çözeltisi
- TMB substratı
- Reaksiyon sonlandırma çözeltisi
- Plaka kaplayıcı yapışkan bantlar

Örneklerin Özütlemesi

Örnek özütleme, immün ölçüm için latent kompleksden TGF β 1'in serbestleştirilmesi işlemidir. Bunun için polipropilen tüpe 0,1 ml serum ve 0,3 ml özütleme çözeltisi koyulup vortekslenildi. Oda sıcaklığında, 30 dakika shaker üzerinde şiddetli sallanarak inkübe edildi. Ardından 1000 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant standart seyreltme tamponu ile 10 kez seyreltildi. Özütleme işlemi sonucunda örnekler 40 kez seyreltilmiş oldu.

Standartların Hazırlanması

8 adet ependorf tüp alındı.

- Birinci tüpe 10.000 pg/ml'lik stok standarttan 0.2 ml, standart seyreltme tamponundan 0.8 ml koyularak 2000 pg/ml'lik standart hazırlandı.

- İkinci tüpe 0,5 ml seyreltme tamponu ve 0,5 ml birinci tüpte hazırlanan 2000 pg/ml'lik standart çözeltiden koyuldu.
- Üçüncü tüpe 0,5 ml seyreltme tamponu ve 0,5 ml ikinci tüpte hazırlanan 1000 pg/ml'lik standart çözeltiden koyuldu.
- Sekizinci tüpe kadar her tüpe 0,5 ml seyreltme tamponu ve 0,5 ml bir önceki tüpte hazırlanan standarttan koyularak her seferinde konsantrasyonu yarıya inen standart çözeltiler hazırlandı.
- Sekizinci tüpe sadece seyreltme tamponu koyulduğundan bu tüp kör olarak kullanıldı.

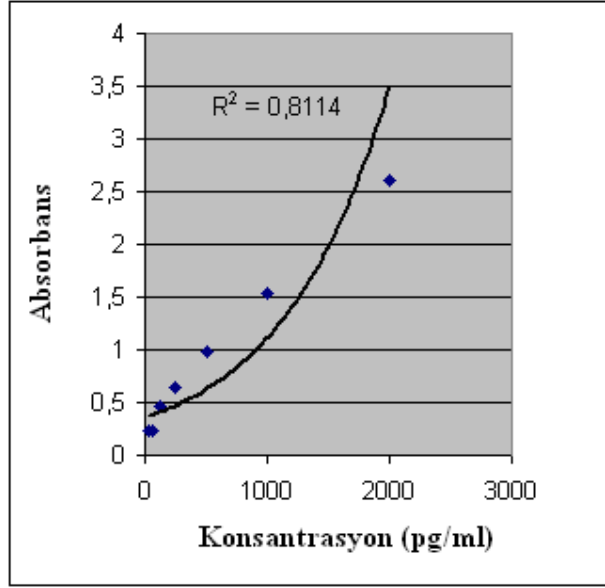
Tüp no	1	2	3	4	5	6	7	8
Standart Konsantrasyonu (pg/ml)	2000	1000	500	250	125	62,5	31,2	0

Uygulama

- Kullanım öncesinde tüm reaktif ve örnekler oda sıcaklığına getirildi.
- Her kuyucuğa 200 µl standart ve seyreltilmiş serum örnekleri pipetlendi.
- Kör kuyucuğu hariç tüm kuyucuklara 50 µl biotin konjugatı eklenip plaka nazikçe çalkalandı.
- Plaka yapışkan bant ile kapatılarak oda sıcaklığında üç saat inkübe edildi.
- 400 µl seyreltilmiş yıkama tamponu ile 4 kez yıkandı.
- Kör kuyucuğu hariç tüm kuyucuklara seyreltilmiş HRP çözeltisinden 100 µl eklendi.
- Plaka yapışkan bant ile kapatılarak oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.
- 400 µl seyreltilmiş yıkama tamponu ile 4 kez yıkandı.
- 100 µl TMB substratı eklendi. Mavi renk oluştu.
- Karanlıkta oda sıcaklığında 30 dak. inkübe edildi.
- 100 µl reaksiyon sonlandırma çözeltisi eklendikten sonra plaka nazikçe çalkalandı. Kuyucuklardaki renk maviden sarıya döndü. 450 nm'de ölçüm yapıldı.

Hesaplama

Standart konsantrasyonları x eksenine, standartlara ait absorbanslar ise y eksenine yerleştirilerek dört parametre lojistik fonksiyon eğrisi çizildi. Örneklerin konsantrasyonları standart eğrisinden hesaplandı. Bulunan sonuçlar seyreltme faktörü olan 40 ile çarpılıp TGF β 1 değerleri pg/ml olarak hesaplandı ve 1000'e bölünerek ng/ml'ye çevrildi.



Grafik 3.3 TGF β 1 Standart Eğrisi

3.3.4. Serum c-erbB-2 Düzeyinin Ölçümü

Serum c-erbB-2 değerlerinin belirlenmesinde ELISA prensibine dayanan ticari kit (Bender MedSystems Kit, cat no: BMS207/BMS207CE) kullanıldı.

Prensip

Standart ve örneklerdeki çözünebilir c-erbB-2, kuyucuklardaki bağlı c-erbB-2 antikorları ile bağlanır. Eklenen streptavidin peroksidaz ile işaretli antikorlar kuyucuklardaki ilk antikor ile kompleks oluşturan çözünebilir c-erbB-2'ye bağlanarak sandviç modeli oluşturur. İnkübasyonu takiben bağlanmamış moleküller yıkama ile uzaklaştırılır. Kuyucuklara enzim substratı eklendiğinde renk değişimi olur. Asit çözeltisi kullanılarak reaksiyon sonlandırılır. Kullanılan örneklerdeki solubl c-erbB-2 miktarı ile orantılı olarak oluşan rengin absorbansı 450 nm'de ölçülür.

Ayır a lar

- Monoklonal  oz nebilir c-erbB-2 antikorunu ile kaplı 96 kuyucuklu plaka
-  oz nebilir c-erbB-2 standartı
- Konsantre HRP  ozeltisi
- Liyofilize y ksek konsantrasyonlu kontrol  ozeltisi
- Liyofilize d ş k konsantrasyonlu kontrol  ozeltisi
- Yıkama tamponu konsantre  ozeltisi
-  l m tamponu konsantre  ozeltisi
- TMB substrat  ozeltisi
- Reaksiyon sonlandırma  ozeltisi
- Plaka kaplayıcı yapışkan bantlar

 rneklerin Hazırlanması

T m  rnekler oda ısısına getirildi ve 15  L  rnek 285  L seyreltilmiş  l m tamponu ile 20 kez seyreltildi.

Standartların Hazırlanması

Sekiz adet ependorf t p alındı.

Birinci t pe 10 ng/ml'lik stok standarttan 500  l koyuldu.

- İkinci t pe 225  l  l m tamponu, 225  l birinci t pte hazırlanan 10 ng/ml'lik standart  zeltiden koyuldu.
-  ç nc  t pe 225  l  l m tamponu ve 225  l ikinci t pte hazırlanan 5 ng/ml'lik standart  zeltiden koyuldu.
- Sekizinci t pe kadar her t pe 225  l  l m tamponu ve 225  l bir  nceki t pte hazırlanan standarttan koyularak her seferinde konsantrasyonu yarıya inen standart  zeltiller hazırlandı.
- Sekizinci t pe sadece  l m tamponu koyulduğundan bu t p k r olarak kullanıldı.

T�p no	1	2	3	4	5	6	7	8
Standart Konsantrasyonu (ng/ml)	10	5	2,5	1,25	0,63	0,31	0,16	0

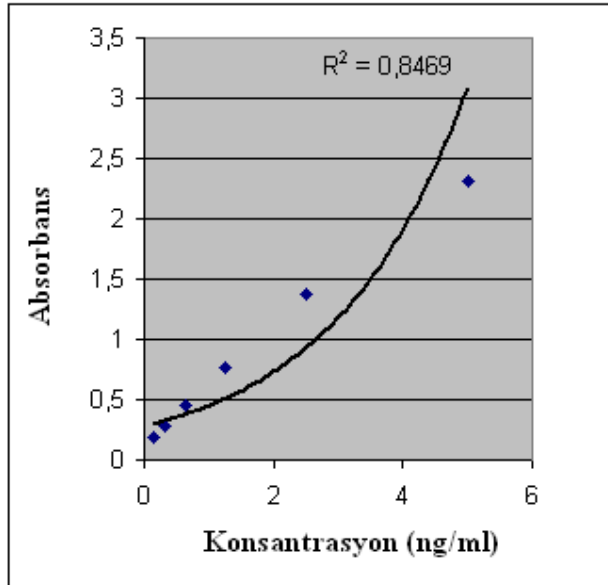
Uygulama

- Kullanım  ncesinde t m reaktif ve  rnekler oda sıcaklığına getirildi.

- Kuyucuklu plaka kullanılmadan önce 2 kez 400 µl seyreltilmiş yıkama tamponu ile yıkandı ve bekletmeden kullanıldı.
- Tüm kuyucuklara 100 µl standart, kontrol ve örnekler pipetlendi.
- Tüm kuyucuklara 50 µl taze hazırlanmış seyreltilmiş HRP çözeltisi eklendi.
- Plakanın üzeri yapışkan bant ile kapatılarak oda sıcaklığında, shaker üzerinde 2 saat inkübe edildi.
- 400 µl seyreltilmiş yıkama tamponu ile 3 kez yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µl TMB substrat çözeltisi eklendi.
- Plakanın üzeri yapışkan bant ile kapatılarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 10 dakika inkübe edildi.
- En derişik standartı içeren kuyucuk koyu mavi olduğunda 100 µl reaksiyon sonlandırma çözeltisi eklendi. Bekletilmeden 450 nm'de absorbanlar ölçüldü.

Hesaplama

Standart konsantrasyonları x eksenine, standartlara ait absorbanlar ise y eksenine yerleştirilerek beş parametre lojistik fonksiyon eğrisi çizildi. Örneklerin konsantrasyonları standart eğrisinden hesaplandı. Bulunan sonuçlar seyreltme faktörü olan 20 ile çarpılıp c-erbB-2 değerleri hesaplandı.



Grafik 3.4 c-erbB-2 Standart Eğrisi

3.3.5. İstatistiksel Değerlendirme

- Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi.
- Gruplarda oranların karşılaştırılması için Ki-Kare Analizi,
- İki grubun ortalamasının karşılaştırılması için t Testi (Independent Samples Test),
- İki den çok grubun ortalamasının karşılaştırılması için ANOVA (Varyans Analizi),
- Vaka sayısı az olduğunda ikiden çok grubun ortalamasını karşılaştırılması için Kruskal-Wallis Analizi,
- Gruplarda preoperatif ve postoperatif karşılaştırması için Tekrarlı Ölçümlerde Varyans Analizi (Repeated Measures ANOVA),
- Parametrelerin tanıdaki etkinliği ve cut off değeri için ROC (Receiving Operating Characteristic) Eğrisi,
- Korelasyonlar için Pearson Korelasyon Analizi uygulandı.
- $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Analizlerin gerçekleştirilmesinde SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 17.0 paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen ve malign grubu oluşturan 31 kolorektal kanserli hastanın %32,3'ü kadın, %67,7'si erkek; benign grubu oluşturan 23 kolorektal polipli hastanın %30,4'ü kadın, %69,6'sı erkek ve kontrol grubunu oluşturan 30 olgunun %36,7'si kadın, %63,3'ü erkek olarak dağılım göstermekteydi.

Olguların yaş ortalaması kontrol grubunda 50, benign grupta 55 ve malign grupta 63 olarak tespit edildi.

Kontrol grubundaki olgulardan ikisinde alkol alışkanlığı ve onikisinde sigara kullanımı mevcut iken benign grupta dört hastada alkol alışkanlığı ve yedi hastada sigara kullanımı mevcuttu. Malign gruptaki hastalardan hiçbirinin alkol alışkanlığı olmamakla birlikte sadece beşi sigara kullanmaktaydı.

Aile öyküsü açısından incelediğinde malign grupta üç hastanın birinci derece yakınlarında kolorektal kanser ve iki hastanın birinci derece yakınlarında kolorektal dışı kanser öyküsü mevcutken benign grupta üç hastanın birinci derece yakınlarında kolorektal kanser ve iki hastanın birinci derece yakınlarında kolorektal dışı kanser öyküsü vardı. Kontrol grubu ise tamamı aile öyküsü yönünden negatif olan sağlıklı kişilerden oluşturulmuştu.

Kontrol grubu, kolorektal polipli benign grup ve kolorektal kanserli malign gruba ait demografik veriler ile serum CEA ve CA19-9 değerleri tablo 4.1, 4.2 ve 4.3'de gösterilmiştir.

Hastaların tümör lokalizasyonuna göre dağılımı her iki grupta tablo 4.4'te, tümör histolojisine göre dağılımı ise kolorektal polipli benign grupta tablo 4.5'de, kolorektal kanserli malign grupta tablo 4.6'da gösterilmiştir.

Kolorektal kanserli malign grupta hastaların, hastalığın patoloji verilerine göre dağılımı tablo 4.7'de gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan benign ve malign grup hastalarına ait patoloji verileri İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Vakıf Gureba Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü ve Yeditepe Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapılan incelemeler sonucu hasta dosyasına konulan raporlardan elde edilmiştir. Klinik evrelendirme TNM evreleme sistemine göre yapılmıştır. Grade'leme histolojik açıdan tümörün glandüler yapılanmasına göre glandüler yapılanma %50'nin üzerindeyse düşük grade, %50'nin altındaysa yüksek grade olarak yapılmıştır. İnvazyon derinliği mukoza tabakasında

muskularis mukozaya olan invazyon durumuna göre değerlendirilip bu tabakayı aşmamışsa invazyon derinliği az, aşmışsa invazyon derinliği fazla şeklinde gruplandırılmıştır.

Çalışma grupları arasında EGF, IGF-I, TGF β 1, c-erbB-2, CEA ve CA 19-9 düzeylerine ilişkin istatistiksel değerlendirmeler tablo 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12 ve 4.13'de gösterilmiştir.

Kolorektal polipli benign ve kolorektal kanserli malign gruplarda EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2'nin preoperatif ve postoperatif değerleri, kontrol grubu değerleri ile birlikte grafik 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4'te gösterilmiştir.

Kolorektal kanserli malign grupta patoloji verilerine göre serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeylerindeki postoperatif değişimler tablo 4.14'te gösterilmiştir.

Tüm çalışma gruplarına ait korelasyon bulguları tablo 4.15, 4.16 ve 4.17'de, aralarında korelasyon saptanan faktörlerin grafikleri ise grafik 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10 ve 4.11'de gösterilmiştir.

Ölçülen parametreler için tespit edilen cut-off değerleri ve ilgili diğer veriler tablo 4.18'de, parametreler için çizilen ROC eğrileri grafik 4.12'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1 Kontrol grubunda demografik veriler ve tümör belirteçleri düzeyleri

Ad-Soyad	Yaş	Cins	VKİ (kg/m ²)	Sigara (paket/gün/yıl)	Alkol (kadeh/gün/hafta)	Aile Öyküsü	CEA (ng/ml)	CA19-9 (U/ml)
B.Y.	68	K	28,5	-	-	-	0,95	<2
D.G.	40	E	29,4	1/4p /g/20yıl	-	-	1,63	<2
E.K.	36	E	25,9	-	-	-	2,13	6,9
E.E.K.	32	K	23,4	-	-	-	0,76	4,46
E.E.	34	K	23,6	-	-	-	0,88	6,01
H.Ç.	50	K	29,9	1p/g/25yıl	-	-	3,67	5,71
H.K.	72	E	29,0	1p/g/35yıl	-	-	1,8	2,77
H.E.	61	K	29,9	-	-	-	1,1	2,35
İ.Y.	36	E	24,4	1p/g/15yıl	-	-	2,39	7,42
İ.K.	55	E	21,2	1p/g/15yıl	-	-	2,06	3,95
M.K.	34	E	22,7	1p/g/15yıl	3k/3g/h	-	2,54	<2
M.A	46	E	25,0	-	-	-	1,33	2,62
M.K.	47	E	29,7	-	-	-	2,16	9,43
M.B.	40	E	24,2	-	-	-	1,42	3,28
N.D.	53	E	25,3	1p/g/35yıl	-	-	1,73	10,85
N.G.	78	K	25,9	-	-	-	1,35	<2
O.Y.	56	E	26,7	-	-	-	8,34	3,69
R.N.	38	E	25,5	1p/g/15yıl	-	-	2,06	9,71
R.R.	61	K	27,3	-	-	-	1,9	6,5
S.E.	79	E	25,3	1p/g/14yıl	-	-	1,05	3,63
S.B.	43	E	28,3	-	-	-	0,52	<2
Ş.V.	40	E	23,8	3p/g/15yıl	-	-	4,01	18,96
T.D.	76	E	26,5	-	-	-	2,31	13,39
T.E.	42	K	26,0	-	-	-	2,02	10,18
T.K.	36	K	23,0	-	-	-	1,15	20,07
Ü.D.	63	K	29,7	-	-	-	1,89	18,72
Y.A.	59	E	29,8	1/2p/g/35yıl	1,5k/3g/h	-	2,76	3,12
Y.T.	36	E	25,5	-	-	-	1,88	3,68
Y.K.	47	E	27,3	1p/g/35yıl	-	-	1,44	6,83
Y.D.	47	K	21,2	-	-	-	1,33	13,01

Tablo 4.2. Kolorektal polipli benign grupta demografik veriler, tümör belirteçleri ve tümör karakteristikleri

Ad-Soyad	Yaş	Cinsiyet	VKİ (kg/m ²)	Sigara (paket/gün/yıl)	Alkol (kadeh/gün/hafta)	Aile Öyküsü	CEA (ng/ml)	CA19-9 (U/ml)	Tümör Lokalizasyonu	Tümör Çapı (cm)	Tümör Tipi
A.I.	72	E	27,0	2p/g/40yıl	-	anne kolon ca	2,43	6,76	rektum	3x2,7x1,5	villöz adenom
A.S.G.	77	E	27,7	1p/g/50yıl	2k/1g/h	-	7,22	17,35	çıkan kolon	1x0,5x0,4	tubuler adenom
C.T.	28	K	23,5	-	-	-	-	-	sigmoid	1,5x0,5x0,3	tubuler adenom
D.D.	41	E	23,1	-	-	kardeş lösemi	-	-	rektum	0,3x0,2x0,1	tubuler adenom
F.B.	56	E	23,5	-	-	-	-	-	inen kolon	0,2x0,1x0,1	hiperplastik polip
F.Y.	77	E	23,0	-	-	-	-	-	rektum	0,6x0,6x0,3	tubuler adenom
F.Y.	52	E	25,7	-	-	-	-	-	rektum	0,3x0,1x0,1	hiperplastik polip
G.B.	40	K	28,0	1/2p/g/30yıl	-	-	-	-	çıkan kolon	0,4x0,2x0,1	hiperplastik polip
H.K.	34	K	29,2	-	-	-	1,38	11,64	rektum	1,5x1	hiperplastik polip
İ.Y.	56	E	19,7	-	-	-	-	-	rektum	0,2x0,2x0,2	tubuler adenom
M.D.	61	K	29,2	-	-	-	-	-	çıkan kolon inen kolon sigmoid	0,4x0,2x0,2	tubuler adenom
M.İ.A.	74	E	27,1	1/2p/g/30yıl	-	-	-	-	çıkan kolon	0,5x0,2x0,2	hiperplastik polip
M.K.	63	E	25,3	-	2k/2g/h	-	-	-	transvers kolon	0,3x0,2x0,2	tubuler adenom
O.F.T.	75	E	26,7	-	3k/1g/h	-	-	-	çıkan kolon	0,3x0,2x0,2	tubuler adenom
S.K.	74	K	28,2	-	-	-	-	-	rektum	0,4x0,4	hiperplastik polip
S.H.	64	E	29,9	-	-	kardeş uterus ca	-	-	sigmoid	1x0,6x0,5	tubuler adenom
Ü.A.	48	E	29,8	-	-	-	-	-	rektum	0,8x0,5x0,4	tubuler adenom
Ü.G.	38	E	23,9	1/10p /g/10yıl	-	-	-	-	çıkan kolon	0,3x0,3x0,2	tubuler adenom
V.D.	39	E	28,4	-	-	-	-	-	rektum	0,5x0,5x0,3	hiperplastik polip
V.B.	52	K	25,5	1/2p /g/20yıl	2k/1g/h	-	3,48	23,06	sigmoid	0,3x0,3x0,2	hiperplastik polip
Z.K.	33	E	22,0	-	-	baba kolon ca	-	-	tüm kolon	en büyüğü 2	tubuler adenom
Ş.Ü.	56	K	28,9	-	-	anne kolon ca	2,61	25,75	transvers kolon	5,5x4,5x4	hiperplastik polip
A.Ş.	54	E	27,9	1/2p/g/30yıl	-	-	-	-	rektum	1x0,5x0,3	tubuler adenom

Tablo 4.3. Kolorektal kanserli malign grupta demografik veriler, tümör belirteçleri ve tümör karakteristikleri

Ad Soyad	Yaş	Cinsiyet	VKİ (kg/m ²)	Sigara pak/gün/yıl	Alkol	Aile Öyküsü	CEA (ng/ml)	CA19-9 (U/ml)	Tümör Lokal	Tümör Çapı (cm)	Tümör Tipi	İnvazyon	İnvazyon Derinliği	TLNS/ÇLNS	Lenf Nodu Tutulumu	Metastaz	Evre	Grade
A.G.	64	E	22,8	1p/g/20yıl	-	anne kolon ca kardeş kolon ca	13,19	34,91	inen kolon	5,5x6x1	adeno ca	li- kdi- pi-	T2	0/60	N0	-	I	düşük
A.Ö.	89	E	23,8	-	-	-	43,39	69,5	retosigmoid	7x4x1,5	adeno ca	li- kdi- pi-	T3	1/10	N1	-	III	düşük
B.A.	67	K	28,4	-	-	-	3,96	95,4	çıkan kolon	2,5x4x1	adeno ca	li- kdi- pi-	T3	0/23	N0	-	II	düşük
C.F.	74	E	27,1	1/7p/g/35yıl	-	-	13,53	0,6	rektosigmoid	7	adeno ca	li- kdi- pi-	T3	6/14	N2	-	III	düşük
İ.Y.	73	E	29,3	-	-	-	1,63	5,18	inen kolon	3,5	adeno ca	li- kdi- pi-	T2	2/16	N1	-	III	düşük
M.A.	55	E	29,1	-	-	abi lösemi	2,39	2,97	rektum	3x3x2	adeno ca	li- kdi- pi-	T2	0/7	N0	+	IV	düşük
N.S.	75	K	20,3	-	-	-	-	-	sigmoid	4x3x3	adeno ca	li- kdi- pi-	T2	0/60	N0	-	I	düşük
N.S.	49	E	29,4	-	-	-	1,77	10,01	rektum	6	adeno ca	li- kdi- pi-	T3	0/	N0	-	II	düşük
N.A.	50	K	24,9	-	-	baba kolon ca kardeş kolon ca	2,07	13,04	sigmoid	4x4,5x1	adeno ca	li- kdi- pi-	T2	0/12	N0	-	I	düşük
R.Ş.	72	E	31,1	-	-	-	0,78	4,92	rektum	3	adeno ca	li- kdi- pi-	T2	02/6	N1	-	III	düşük
Ş.Z.	71	E	29,4	-	-	-	79,39	2,93	çıkan kolon	10x10x8	adeno ca	li- kdi- pi-	T4	0/42	N0	-	II	düşük
Ü.A.	51	K	27,3	-	-	anne kolon ca kızı kolon ca	0,94	0,6	çıkan kolon	4x4	adeno ca	li- kdi- pi-	T2	1/16	N1	-	III	düşük
Y.D.	78	E	26,1	1/4p/g/40yıl	-	-	19,41	6,86	çıkan kolon	3,5	adeno ca	li- kdi- pi-	T2	0/12	N0	-	I	düşük
C.Ö.	61	E	25,5	1p/g/45yıl	-	-	2,63	2,45	rektum	4,2x4,5x1,2	adeno ca	li+ kdi- pi+	T2	0/13	N0	-	I	düşük
F.K.	67	E	25,3	1p/g/22yıl	-	-	1,92	14,43	rektum	7x5x0,8	adeno ca	li+ kdi- pi-	T3b	1/19	N1	-	III	düşük
Ş.Y.	73	K	28,1	-	-	-	1,07	4,37	rektum	2x2x1	müsinöz adeno ca	li- kdi- pi-	T4	5/17	N2	-	III	düşük
A.Y.	66	E	23,3	-	-	anne mide ca baba akciğer ca	3,17	2,71	inen kolon	10x8x2,5	adeno ca	li+ kdi+ pi-	T3c	0/11	N0	-	II	düşük
A.A.	46	E	23,9	-	-	-	0,63	2	rektum	3,3x4,5x1,3	adeno ca	li+ kdi- pi-	T3b	0/17	N0	-	II	düşük
A.L.	42	K	26,3	-	-	-	140,49	180,86	rektum	10,5x8x3,7	müsinöz adeno ca	li+ kdi+ pi-	T4	1/30	N1	+	IV	
E.K.	48	E	26,4	-	-	-	4,12	73,43	rektum	6x4,5x2,5	adeno ca	li+ kdi- pi+	T3c	2/21	N1	-	III	düşük
E.A.	63	E	26,2	-	-	-	12,3	65,32	rektum	4x3,5x0,8	adeno ca	li+ kdi+ pi+	T3b	2/16	N1	-	III	düşük
F.Y.	72	K	28,9	-	-	-	12,32	17,02	rektum							-		
H.M.	44	E	25,3	-	-	-	4,69	9,57	çıkan kolon	4x7x2,3	adeno ca	li+ kdi- pi-	T3b	0/27	N0	-	II	düşük
H.K.	77	E	22,2	-	-	-	786,32	1200	inen kolon	5x6x1,5	adeno ca	li+ kdi+ pi+	T4	17/19	N2	+	IV	yüksek
İ.R.	60	E	25,1	-	-	-	1500	1500	sigmoid	7,5x3,5x3,5	adeno ca	li+ kdi+ pi+	T4	03/10	N1	-	III	yüksek
N.T.	79	K	29,3	-	-	-	223,35	1090,08	rektum	6,5x9x1,5	adeno ca	li+ kdi- pi-	T3b	0/26	N0	-	II	düşük
R.D.	50	E	22,9	-	-	-	43,12	12,53	çıkan kolon	5x4x1,5	adeno skuamöz ca	li+ kdi- pi-	T4	5/19	N2	+	IV	
R.C.E.	50	E	23,1	-	-	-	10,08	112,07	rektum	5x4,5x2	adeno ca	li- kdi- pi-	T2	0/30	N0	-	I	düşük
Ş.A.	60	E	23,0	-	-	-	12,32	54,46	çıkan kolon	7x7,5x3,5	adeno ca+	li+ kdi- pi-	T3b	0/44	N0	-	II	düşük
Ş.A.	72	K	28,4	-	-	-	1,28	8,73	rektum	4x3x1	adeno ca	li- kdi- pi-	T3b	0/32	N0	-	II	düşük
G.K.	69	K	25,2	-	-	-	19,71	97,36	çıkan kolon	3x3,5x0,6	adeno ca	li+ kdi- pi-	T3a	2/19	N1	-	III	düşük

(TLNS: tutulan lenf nodu sayısı ÇLNS: çıkarılan lenf nodu sayısı li: lenfatik invazyon kdi: kan damarı invazyonu pi: perinöral invazyon)

Tablo 4.4. Kolorektal polipli benign grup ve kolorektal kanserli malign grupta tümör lokalizasyonuna göre dağılım

Lokalizasyon	benign grup (n=23) %	malign grup (n=31) %
sağ kolon	26.1	22.6
sol kolon	21.7	29
rektum	43.5	45.2
sağ ve sol kolon birlikte	8.7	-
sağ kolon ve rektum birlikte	-	3.2

Tablo 4.5. Kolorektal polipli benign grupta tümör histolojisine göre dağılım

Histolojik Tip	Benign grup (n=23) %
tubuler adenom	56.6
villöz adenom	4.3
hiperplastik polip	39.1

Tablo 4.6. Kolorektal kanserli malign grupta tümör histolojisine göre dağılım

Histolojik Tip	Malign Grup (n=30) %
adenokarsinom	86.7
müsinöz adenokarsinom	6.7
adenoskuamöz karsinom	3.3
adenokarsinom + müsinöz adenokarsinom	3.3

Tablo 4.7. Kolorektal kanserli malign gruptaki hastaların, hastalığın patoloji verilerine göre dağılımı

		malign grup (n=30) %
tümör çapı	≤5 cm	53.3
	>5 cm	46.7
lenf nodu tutulumu	var	46.7
	yok	53.3
invazyon derinliği	az	33.3
	fazla	66.7
lenfatik invazyon	var	46.7
	yok	53.3
kan damarı invazyonu	var	16.7
	yok	83.3
perinöral invazyon	var	16.7
	yok	83.3
klinik evre	düşük	50
	ileri	50
grade	düşük	92.6
	yüksek	7.4
metastaz	var	13.3
	yok	86.7

Kontrol grubunda cinsiyet farkı ve sigara kullanımı bakımından serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeylerinin karşılaştırılması: (tablo 4.8).

- Kontrol grubunda kadınlar ile erkeklere ait serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı.
- Kontrol grubunda sigara kullananlar ile kullanmayanlara ait serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 4.8. Kontrol grubunda, cinsiyet farkı ve sigara kullanımı bakımından serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeyleri (Mann-Whitney U Testi uygulanmıştır)

		EGF (pg/ml)	IGF-I (ng/ml)	TGF β1 (ng/ml)	c-erbB-2 (ng/ml)
Cinsiyet	Kadın (n=11)	62.18±39.51	164±68.66	17.93±11.65	4.28±2.85
	Erkek (n=19)	62.68±27.78	137.79±85.74	19.75±8.86	4.61±1.92
Sigara kullanımı	Kullanan (n=12)	58.42±19.92	121.33±68.10	18±8.67	4.55±2.17
	Kullanmayan (n=18)	65.22±38.20	164.78±83.89	19.80±10.69	4.46±2.35

Kontrol grubu, kolorektal polipli benign grup ve kolorektal kanserli malign grubun yaş, VKİ ve preoperatif serum CEA ve CA19-9 düzeylerinin karşılaştırılması: (tablo 4.9).

- Malign grubun yaş ortalaması, benign grubun ve kontrol grubunun yaş ortalamasından anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$, $p<0.001$).
- Kontrol grubu, benign grup ve malign grubun VKİ ortalamaları arasında anlamlı farklılık bulunmadı.
- Serum CEA değerleri malign grupta, benign grup ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$, $p<0.001$).
- Serum CA19-9 düzeyi benign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek ($p<0.01$), malign grupta ise hem kontrol grubu hem de benign gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$, $p<0.001$).

Tablo 4.9. Kontrol grubu, kolorektal polipli benign grup ve kolorektal kanserli malign gruba ait VKİ ve preoperatif serum CEA ve CA19-9 düzeyleri (Kruskal Wallis Analizi uygulanmıştır)

	Kontrol Grubu (n=30)	Benign Grup (n=23)	Malign Grup (n=31)
Yaş	50.16±12.82	54.96±15.45	63.45±12.17*
Vücut Kütle İndeksi (kg/m²)	26.3±2.9	26.4±3.1	26.0±2.6
CEA (ng/ml)	2.02±1.43	3.42±2.25 (n=5)	98.73±302.71*
CA19-9 (U/ml)	6.91±5.35	16.91±7.86** (n=5)	156.48±381.81*
* $p<0.001$ kontrol grubu ve benign gruba göre ** $p<0.01$ kontrol grubuna göre			

Kolorektal polipli benign grup ve kolorektal kanserli malign gruba ait preoperatif serum EGF, IGF-I, TGF β 1, c-erbB-2 düzeyleri ile kontrol grubu düzeylerinin karşılaştırılması: (tablo 4.10).

- Preoperatif EGF düzeyi hem benign grupta hem de malign grupta, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$, $p<0.001$). Benign grup ile malign grubun preoperatif EGF düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmadı.
- Preoperatif IGF-I düzeyi malign grupta, benign grup ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$, $p<0.001$). Benign grubun preoperatif IGF-I düzeyi ile kontrol grubu düzeyi arasında anlamlı fark bulunmadı.
- Preoperatif TGF β 1 düzeyi benign grupta kontrol grubuna göre ($p<0.001$); malign grupta ise hem benign grup hem de kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$, $p<0.001$).
- Preoperatif c-erbB-2 düzeyi bakımından kontrol grubu, benign grup ve malign grup arasında anlamlı fark bulunmadı.

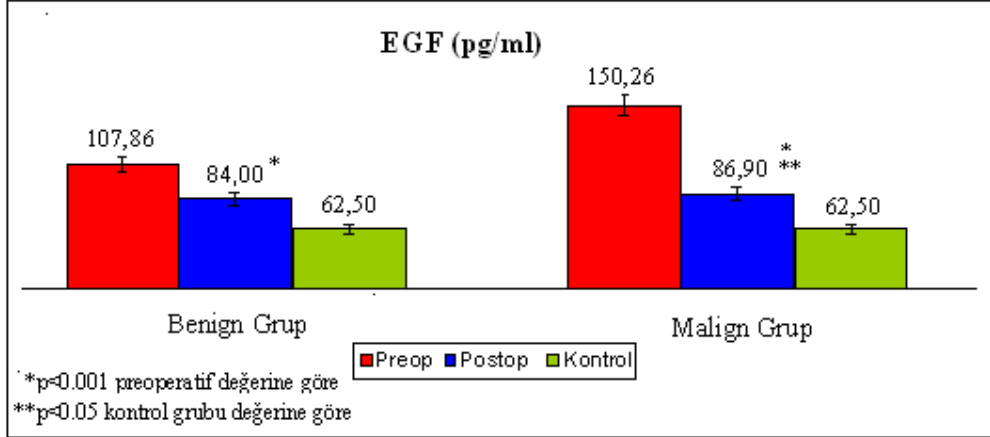
Tablo 4.10. Kontrol grubu ile kolorektal polipli benign grup ve kolorektal kanserli malign gruba ait preoperatif serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeyleri [ANOVA (Varyans Analizi) uygulanmıştır]

	Kontrol Grubu (n=30)	Benign Grup (n=23)	Malign Grup (n=31)
EGF (pg/ml)	62.50 \pm 31.90	107.86 \pm 85.57*	150.26 \pm 70.94*
IGF-I (ng/ml)	150.67 \pm 78.25	154.17 \pm 73.93	237.13 \pm 113.98**
TGF β1 (ng/ml)	19.08 \pm 9.81	29.41 \pm 10.92*	41.07 \pm 16.39**
c-erbB-2 (ng/ml)	4.49 \pm 2.23	3.62 \pm 1	4.76 \pm 3.79
* $p<0.001$ kontrol grubuna göre			
** $p<0.001$ kontrol grubu ve benign gruba göre			

Kolorektal polipli benign grup ve kolorektal kanserli malign gruba ait preoperatif ve postoperatif serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeylerinin karşılaştırılması (Tekrarlı Ölçümlerde Varyans Analizi uygulanmıştır)

EGF (Grafik 4.1)

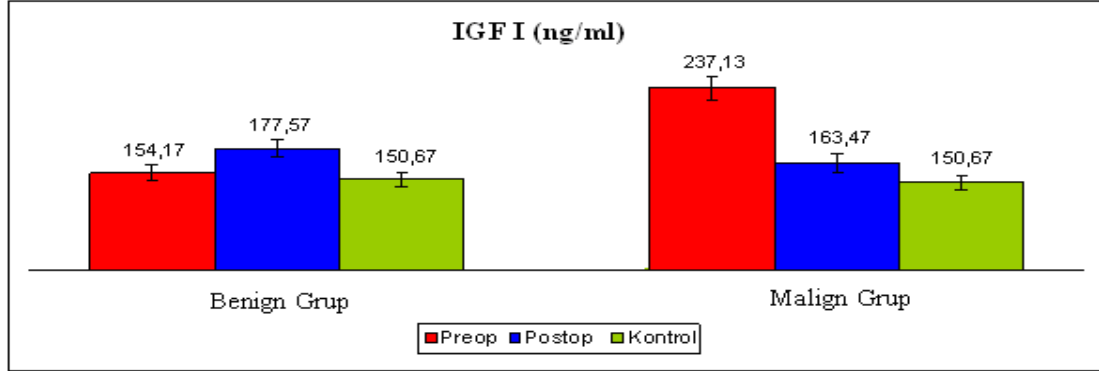
- Benign grupta postoperatif EGF düzeyi (84 ± 62.19), preoperatif EGF düzeyine (107.86 ± 85.57) göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0.001$). Postoperatif EGF düzeyi kontrol grubu düzeyinden (62.50 ± 31.90) yüksek olmakla birlikte, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmadı.
- Malign grupta postoperatif EGF düzeyi (86.90 ± 37.39), preoperatif EGF düzeyine (150.26 ± 70.94) göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0.001$). Ancak, postoperatif EGF düzeyinin kontrol grubu düzeyine (62.50 ± 31.90) göre anlamlı olarak yüksek olduğu belirlendi ($p < 0.05$).



Grafik 4.1. Kolorektal polipli benign ve kolorektal kanserli malign gruplarda EGF'nin preoperatif ve postoperatif düzeyleri

IGF-I (Grafik 4.2)

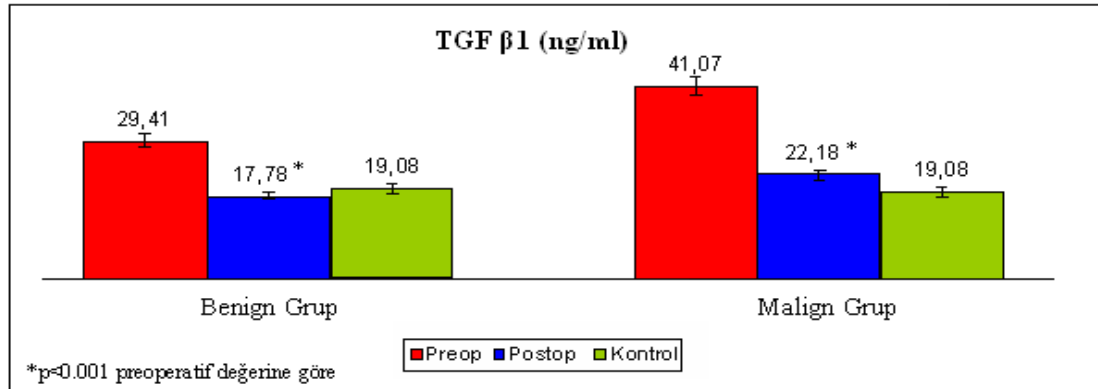
- Benign grupta postoperatif IGF-I düzeyi (177.57 ± 80.78) ile preoperatif IGF-I düzeyi (154.17 ± 73.93) arasında anlamlı fark bulunmadı.
- Malign grupta postoperatif IGF-I düzeyi (163.47 ± 128.12) ile preoperatif IGF-I düzeyi (237.13 ± 113.98) arasında anlamlı fark bulunmadı.



Grafik 4.2. Kolorektal polipli benign ve kolorektal kanserli malign gruplarda IGF-I'nin preoperatif ve postoperatif düzeyleri

TGF β 1 (Grafik 4.3)

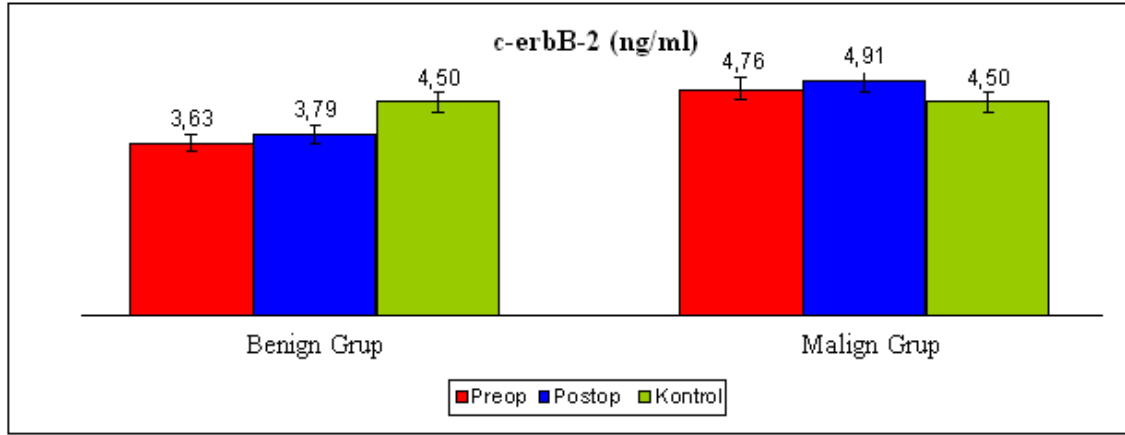
- Benign grupta postoperatif TGF β 1 düzeyi (17.78 ± 9.27), preoperatif TGF β 1 düzeyine (29.41 ± 10.92) göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0.001$). Postoperatif TGF β 1 düzeyi ile kontrol grubu düzeyi (19.08 ± 9.81) arasında anlamlı fark bulunmadı.
- Malign grupta postoperatif TGF β 1 düzeyi (22.18 ± 9.49), preoperatif TGF β 1 düzeyine (41.07 ± 16.39) göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0.001$). Postoperatif TGF β 1 düzeyi ile kontrol grubu düzeyi (19.08 ± 9.81) arasında anlamlı fark bulunmadı.



Grafik 4.3. Kolorektal polipli benign ve kolorektal kanserli malign gruplarda TGF β 1'in preoperatif ve postoperatif düzeyleri

c-erbB-2 (Grafik 4.4)

- Benign grupta postoperatif c-erbB-2 düzeyi (3.79 ± 1.55) ile preoperatif c-erbB-2 düzeyi (3.63 ± 1.01) arasında anlamlı fark bulunmadı.
- Malign grupta postoperatif c-erbB-2 düzeyi (4.91 ± 3.07) ile preoperatif c-erbB-2 düzeyi (4.76 ± 3.80) arasında anlamlı fark bulunmadı.



Grafik 4.4. Kolorektal polipli benign ve kolorektal kanserli malign gruplarda c-erbB-2'nin preoperatif ve postoperatif düzeyleri

Kolorektal polipli benign ve kolorektal kanserli malign grupta postoperatif serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeylerinin kontrol grubu ile birlikte karşılaştırılması: (tablo 4.11).

- Postoperatif EGF düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). Benign grubun postoperatif EGF düzeyi ise malign grup ve kontrol grubunun düzeylerine göre anlamlı farklılık göstermedi.
- Postoperatif IGF I, TGF β 1, c-erbB-2 değerleri bakımından benign grup, malign grup ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmadı.

Tablo 4.11. Kontrol grubu ile kolorektal polipli benign grup ve kolorektal kanserli malign gruba ait postoperatif serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeyleri [ANOVA (Varyans Analizi) uygulanmıştır]

	Benign Grup (n=23)	Malign Grup (n=31)	Kontrol Grubu (n=30)
EGF (pg/ml)	84±62.1	86.90±37.39*	62.50±31.90
IGF-I (ng/ml)	177.57±80.78	163.47±128.12	150.67±78.25
TGF β 1 (ng/ml)	17.78±9.27	22.18±9.49	19.08±9.81
c-erbB-2 (ng/ml)	3.79±1.55	4.91±3.07	4.49±2.23
* $p<0.05$ kontrol grubuna göre			

Kolorektal kanserli malign grupta, serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeylerinin patoloji verilerine göre değerlendirilmesi: (tablo 4.12).

Tümör Çapı

Kolorektal kanserli malign grup, tümör büyüklüğü dikkate alınarak tümör çapı ≤ 5 cm ve tümör çapı >5 cm olanlar şeklinde iki gruba ayrıldığında;

- Preoperatif serum EGF, IGF-I, ve c-erbB-2 düzeyleri bakımından tümör çapı ≤ 5 cm olan grup ile tümör çapı >5 cm olan grup arasında anlamlı fark bulunmadı.
- Preoperatif serum TGF β 1 düzeyleri tümör çapı ≤ 5 cm olan grupta tümör çapı >5 cm olan gruba göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0.05$).

Lenfatik İnvazyon

Kolorektal kanserli malign grup tümörün invazyon durumuna göre lenfatik invazyon olan ve olmayan şeklinde iki gruba ayrıldığında;

- Preoperatif serum EGF düzeyleri lenfatik invazyon olmayan grupta lenfatik invazyon olan gruba göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0.01$).
- Preoperatif serum IGF I düzeyleri lenfatik invazyon olmayan grupta lenfatik invazyon olan gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$).
- Preoperatif serum TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeyleri bakımından lenfatik invazyon olmayan grup ile lenfatik invazyon olan grup arasında anlamlı fark bulunmadı.

İnvazyon Derinliği

Kolorektal kanserli malign grup, tümörün invazyon derinliğinin düzeyine göre, invazyon derinliği az olan ve fazla olan şekilde iki gruba ayrıldığında;

- Serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 düzeyleri bakımından invazyon derinliği az olan grup ile invazyon derinliği fazla olan grup arasında anlamlı fark bulunmadı.

Evre

Kolorektal kanserli malign grup, hastalığın klinik evresine göre düşük evre (evre I+II) ve ileri evre (evre III+IV) şeklinde iki gruba ayrıldığında;

- Serum EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 değerleri bakımından düşük evreli grup ile ileri evreli grup arasında anlamlı fark bulunmadı.

Grade

Kolorektal kanserli malign grup, tümörün diferansiasyon derecesine göre düşük grade ve yüksek grade şeklinde iki gruba ayrıldığında, tümörü yüksek histolojik grade'li olan sadece iki hasta bulunduğu için bu gruplar arasında istatistiksel karşılaştırmayı yapılamadı

Perinöral İnvazyon

Kolorektal kanserli malign grup, perinöral dokuda invazyon durumuna göre perinöral invazyon olan ve olmayan şekilde iki gruba ayrıldığında, perinöral invazyonu olan sadece beş hasta bulunduğu için bu gruplar arasında istatistiksel karşılaştırmayı yapılamadı.

Kan Damarı İnvazyonu

Kolorektal kanserli malign grup, kan damarı invazyonu açısından kan damarı invazyonu olan ve olmayan şekilde iki gruba ayrıldığında, kan damarı invazyonu olan sadece beş hasta bulunduğu için bu gruplar arasında istatistiksel karşılaştırmayı yapılamadı.

Metastaz

Kolorektal kanserli malign grup, tümörün metastaz durumuna göre metastaz yapan ve yapmayan şeklinde iki gruba ayrıldığında, tümörü metastaz yapan sadece iki hasta bulunduğu için bu gruplar arasında istatistiksel karşılaştırma yapılamadı.

Tablo 4.12. Kolorektal kanserli malign grupta tümör çapı, klinik evre, lenfatik invazyon ve invazyon derinliğine göre preoperatif serum EGF, IGF-I, TGF β ve c-erbB-2 düzeylerinin değerlendirilmesi (Mann-Whitney U Testi uygulanmıştır)

		EGF (pg/ml)	IGF-I (ng/ml)	TGF β 1 (ng/ml)	c-erbB-2 (ng/ml)
Tümör çapı	≤ 5 cm n=16	136.5 \pm 65.06	250 \pm 127 \pm 36	35.4 \pm 12.91	4.27 \pm 1.27
	>5 cm n=14	166.71 \pm 78.72	232.18 \pm 106.73	48.4 \pm 17.87*	5.24 \pm 5.28
Lenfatik invazyon	var n=14	112.56 \pm 62.5	302.67 \pm 100.81*	40.93 \pm 18.03	3.92 \pm 1.02
	yok n=16	194.07 \pm 57.29**	198.46 \pm 107.55	42.09 \pm 15.26	5.73 \pm 5.44
İnvazyon derinliği	az n=10	120.7 \pm 61.73	290 \pm 89.32	35.2 \pm 16.12	4.11 \pm 0.98
	fazla n=20	165.55 \pm 73.68	222.75 \pm 120.62	44.6 \pm 16.2	5.1 \pm 4.65
Evre	düşük n=15	139.07 \pm 61.24	238 \pm 110.02	37.39 \pm 16.3	4.9 \pm 4.98
	ileri n=15	162.13 \pm 82.1	244.8 \pm 126.69	45.55 \pm 16.24	4.6 \pm 1.83

* p<0.05 ** p<0,01

Malın grupta preoperatif CEA ve CA19-9 düzeylerinin patoloji verilerine göre değerlendirilmesi: (tablo 4.13).

- Serum CEA düzeyi tümör çapı ≤ 5 cm olan grupta tümör çapı >5 cm olan gruba göre anlamlı derecede düşük bulundu (p<0.01).
- Serum CA 19-9 düzeyi bakımından tümör çapı ≤ 5 cm olan grup ile ileri tümör çapı >5 cm olan grup arasında anlamlı fark bulunmadı.
- Serum CEA ve CA19-9 düzeyleri bakımından lenfatik invazyon olmayan grup ile lenfatik invazyon olan grup arasında anlamlı fark bulunmadı.
- Serum CEA ve CA19-9 düzeylerinin bakımından invazyon derinliği az olan grup ile invazyon derinliği fazla olan alt grup arasında anlamlı fark bulunmadı.
- Serum CEA ve CA19-9 düzeylerinin bakımından düşük evreli grup ile ileri evreli grup arasında anlamlı fark bulunmadı.

Tablo 4.13. Kolorektal kanserli malign grupta preoperatif CEA ve CA19-9 düzeylerinin tümör çapı, klinik evre, lenfatik invazyon ve invazyon derinliğine göre değerlendirilmesi (Mann-Whitney U Testi uygulanmıştır)

		CEA (ng/ml)	CA19-9 (U/ml)
Tümör çapı	≤5 cm n=16	8.13±11.73*	28.92±40.88
	>5 cm n=14	201.98±427.48	303.11±529.12
Lenfatik invazyon	var n=14	12.99±21.59	24.81±36.80
	yok n=16	196.77±429.53	307.51±526.94
İnvazyon derinliği	az n=10	5.90±6.71	20.33±35.95
	fazla n=20	144.83±364.87	224.71±455.25
Evre	düşük n=15	27±60.03	103.23±286.28
	ileri n=15	171.45±418.47	215.47±466.81

* p<0,01 tümör çapı >5 cm olan gruba göre

Kolorektal kanserli malign grupta tümör çapı, klinik evre, lenfatik invazyon ve invazyon derinliğine göre serum EGF, IGF-I, TGF β ve c-erbB-2 düzeylerindeki preoperatif-postoperatif farkların karşılaştırılması: (tablo 4.14).

Tümör Çapı

Kolorektal kanserli malign grup, tümör büyüklüğü dikkate alınarak tümör çapı ≤5 cm ve tümör çapı >5 cm olanlar şeklinde iki gruba ayrıldığında;

- TGF β1 parametresinin preoperatif ve postoperatif düzeyleri arasındaki fark (postoperatif azalmanın derecesi) tümör çapı >5 cm olan grupta, tümör çapı ≤5 cm olan gruba göre daha yüksek olarak belirlendi (p<0.05).
- EGF, IGF-I, ve c-erbB-2 parametrelerinin preoperatif ve postoperatif düzeyleri arasındaki farklar, tümör çapı ≤5 cm ve tümör çapı >5 cm olan hasta grupları arasında anlamlı farklılık göstermedi.

Lenfatik İnvazyon

Kolorektal kanserli malign grup, tümörün invazyon durumuna göre lenfatik invazyon olan ve olmayan şeklinde iki gruba ayrıldığında;

- EGF parametresinin preoperatif ve postoperatif düzeyleri arasındaki fark lenfatik invazyon olan grupta, lenfatik invazyon olmayan gruba göre daha yüksek olarak belirlendi ($p<0.001$).
- IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 parametrelerinin preoperatif ve postoperatif düzeyleri arasındaki farklar lenfatik invazyon olmayan grup ile lenfatik invazyon olan grup arasında anlamlı farklılık göstermedi.

İnvazyon derinliği

Kolorektal kanserli malign grup, tümörün invazyon derinliğinin düzeyine göre, invazyon derinliği az olan ve fazla olan şeklinde iki gruba ayrıldığında;

- EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 parametrelerinin preoperatif ve postoperatif düzeyleri arasındaki farklar invazyon derinliği az olan grup ile invazyon derinliği fazla olan grup arasında anlamlı farklılık göstermedi.

Evre

Kolorektal kanserli malign grup, hastalığın klinik evresine göre düşük evre (evre I+II) ve ileri evre (evre III+IV) şeklinde iki gruba ayrıldığında;

- EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 parametrelerinin preoperatif ve postoperatif düzeyleri arasındaki farklar düşük evreli grup ile ileri evreli grup arasında anlamlı farklılık göstermedi.

Tablo 4.14. Kolorektal kanserli malign grupta tümör çapı, klinik evre, lenfatik invazyon ve invazyon derinliğine göre serum EGF, IGF-I, TGF β ve c-erbB-2 düzeylerindeki postoperatif değişimler (Mann-Whitney U Testi uygulanmıştır)

		EGF(pg/ml)	IGF-I (ng/ml)	TGF β 1 (ng/ml)	c-erbB-2 (ng/ml)
Tümör çapı	≤ 5 cm n=16	45.06 \pm 75.21	39.45 \pm 128.98	12.70 \pm 16.38	1.20 \pm 2.56
	>5 cm n=14	87.21 \pm 70.28	81.45 \pm 115.29	26.94 \pm 15.66*	1 \pm 5.33
Lenfatik invazyon	var n=14	29.25 \pm 70.2	62.67 \pm 169.28	15.08 \pm 19.97	0.76 \pm 2.64
	yok n=16	105.29 \pm 59**	58.92 \pm 81.48	24.23 \pm 12.78	0.84 \pm 5.81
İnvazyon derinliği	az n=10	41.90 \pm 63.61	8.67 \pm 82.34	11.92 \pm 12.94	1.51 \pm 2.88
	fazla n=20	76.15 \pm 78.84	79.88 \pm 129.86	23.06 \pm 18.35	0.76 \pm 4.82
Evre	düşük n=15	62.33 \pm 61.21	55.33 \pm 142.48	14.35 \pm 16.60	1.23 \pm 4.82
	ileri n=15	67.13 \pm 88.53	66.60 \pm 97.19	24.35 \pm 17.16	1.69 \pm 3

* $p<0.05$ ** $p<0.001$

(Değişimler preoperatif değer-postoperatif değer olarak verilmiştir)

KORELASYON ANALİZİ BULGULARI

EGF, IGF I, TGF β 1, ve c-erbB-2 düzeyleri ile yaş, VKİ, CEA, CA 19-9 arasındaki korelasyonlar kontrol grubunda, preoperatif EGF, IGF I, TGF β 1, ve c-erbB-2 düzeyleri ile yaş, VKİ, tümör çapı, CEA, CA 19-9 arasındaki korelasyonlar benign ve malign gruplarda ayrı ayrı araştırıldı. Pearson Korelasyon Analizi kullanılarak yapılan inceleme sonucunda aşağıdaki korelasyonlar belirlendi:

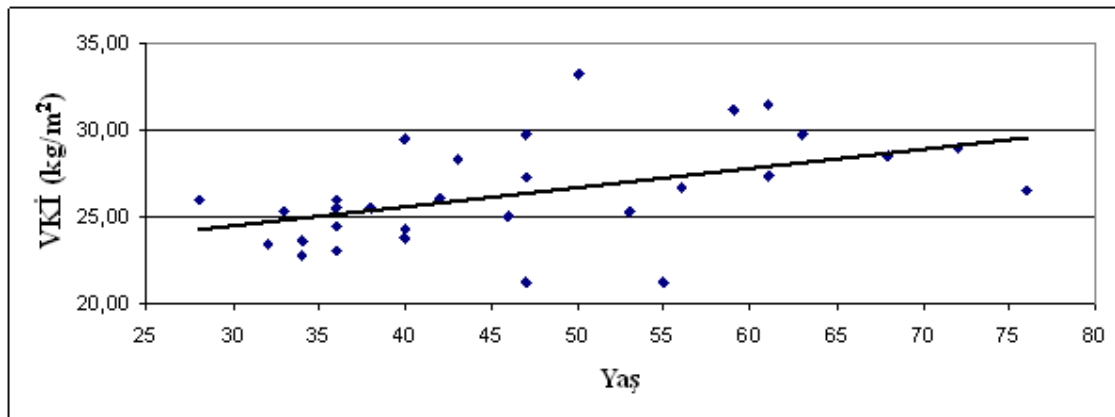
Tablo 4.15. Kontrol grubunda serum parametreleri ile demografik faktörler arasındaki korelasyon katsayı değerleri (r) ve istatistiksel anlamlılık sonuçları:

	Yaş	VKİ	CEA	CA 19-9	EGF	IGF-I	TGF β 1
VKİ	,473**						
CEA	,173	,114					
CA 19-9	,059	-,209	,074				
EGF	-,079	-,245	,327	,256			
IGF-I	-,244	-,163	-,040	,130	,422*		
TGF β 1	-,327	-,304	,021	-,162	,365*	,003	
c-erbB-2	,058	,195	-,126	,062	-,063	-,046	-,171

* p<0.05 ** p<0.01

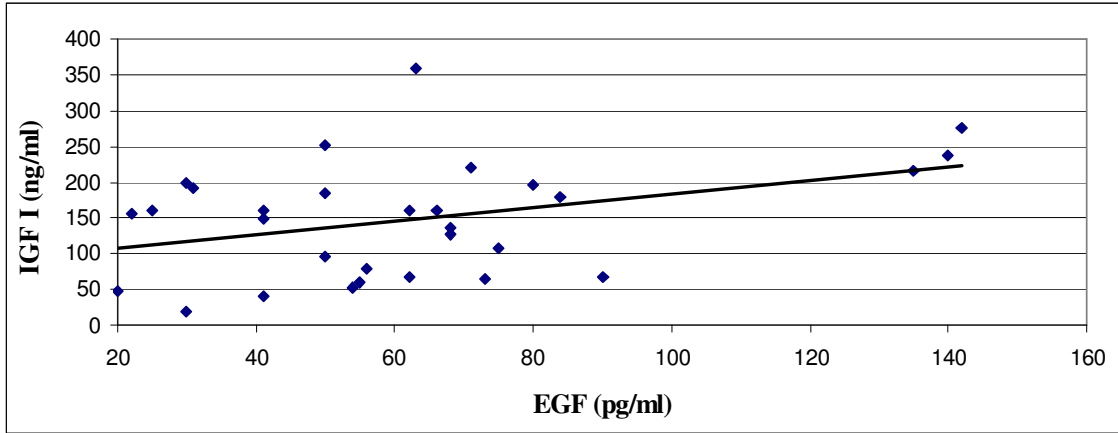
Kontrol grubunda korelasyon saptanan faktörlerin korelasyon katsayı değerleri (r) ve istatistiksel anlamlılık sonuçları:

VKİ-Yaş; $r=0.473$ $p<0.01$



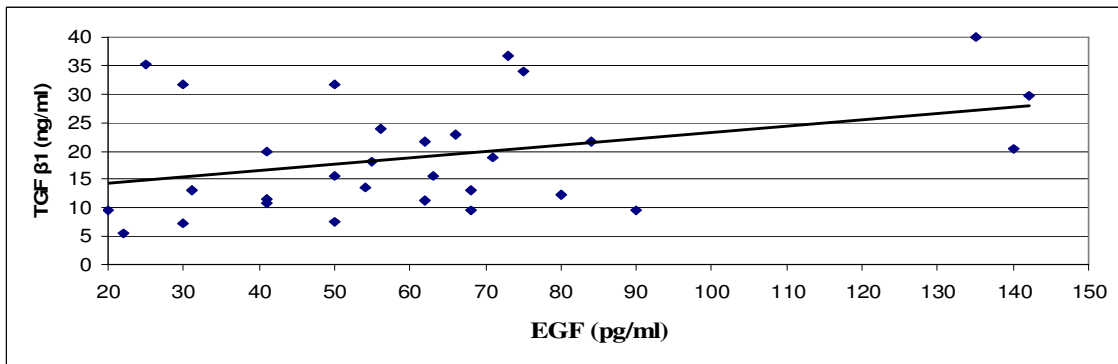
Grafik 4.5 Kontrol grubunda VKİ-Yaş korelasyonu

IGF I-EGF; $r=0.422$ $p<0.05$



Grafik 4.6 Kontrol grubunda IGF I-EGF korelasyonu

TGF β 1-EGF; $r=0.365$ $p<0.05$



Grafik 4.7 Kontrol grubunda TGF β 1-EGF korelasyonu

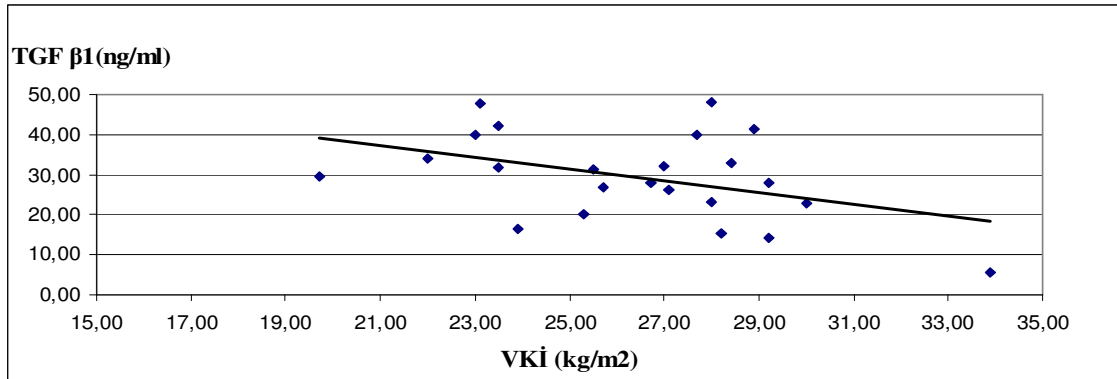
Tablo 4.16. Kolorektal polipli benign vaka grubunda serum parametreleri ile demografik faktörler ve tümör çapı arasındaki korelasyon katsayı değerleri (r) ve istatistiksel anlamlılık sonuçları:

	Yaş	VKİ	CEA	CA 19-9	Tümör çapı	EGF	IGF-I	TGF β1
VKİ	,199							
CEA	,705	-,257						
CA 19-9	-,115	-,079	,222					
Tümör çapı	,088	,165	-,397	-,299				
EGF	-,277	,086	,642	-,158	,045			
IGF-I	-,305	-,039	,257	,367	-,571**	-,170		
TGF β1	-,152	-,426*	,601	,518	,175	-,211	,005	
c-erbB-2	-,144	-,233	,677	,502	-,271	-,363	,287	,399

* p<0.05 ** p<0.01

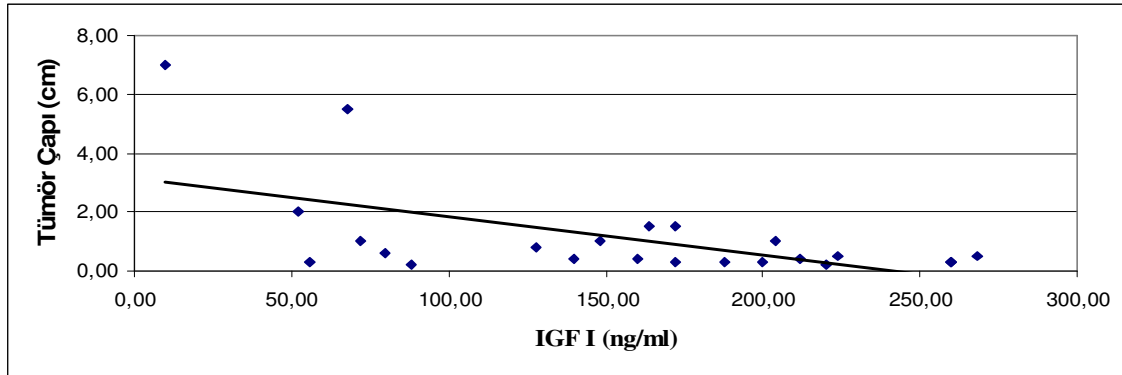
Kolorektal polipli benign vaka grubunda korelasyon saptanan faktörlerin korelasyon katsayı değerleri (r) ve istatistiksel anlamlılık sonuçları:

TGF β1-VKİ; r=-0.426 p<0.05



Grafik 4.8 Benign grupta TGF β1-VKİ korelasyonu

Tümör Çapı-IGF I; $r=-0.571$ $p<0.01$



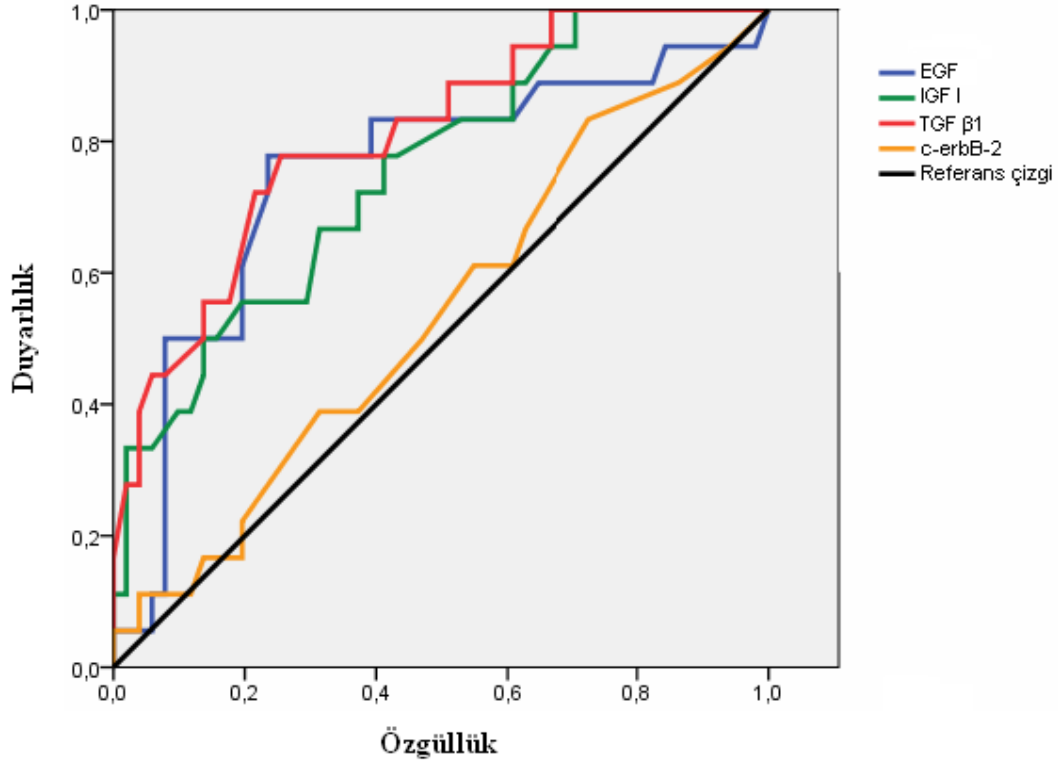
Grafik 4.9 Benign grupta Tümör Çapı-IGF I korelasyonu

Tablo 4.17. Kolorektal kanserli malign vaka grubunda serum parametreleri ile demografik faktörler ve tümör çapı arasındaki korelasyon katsayı değerleri (r) ve istatistiksel anlamlılık sonuçları:

	Yaş	VKİ	CEA	CA 19-9	Tümör çapı	EGF	IGF-I	TGF β 1
VKİ	,109							
CEA	,079	-,196						
CA 19-9	,189	-,140	,898**					
Tümör çapı	-,075	-,139	,241	,295				
EGF	-,264	-,319	,275	,210	,189			
IGF-I	-,214	,365	-,101	-,186	,064	-,348		
TGF β 1	-,150	-,080	-,004	-,026	,378*	,195	,126	
c-erbB-2	-,293	,052	,144	,086	,003	,266	-,207	-,254

* $p<0.05$ ** $p<0.01$

ROC Eğrileri



Grafik 4.12 Serum preoperatif EGF, IGF-I, TGF β 1 ve c-erbB-2 değerleri baz alınarak çizilen ROC eğrileri

Tablo 4.18. EGF, TGF β 1, IGF-I cut off değerleri ve bazı istatistiksel veriler

	Cut-Off	Duyarlılık %	Özgüllük %	NPD %	PPD %	Doğruluk %
EGF (pg/ml)	92,5	78	76	87	67	78
TGF β1 (ng/ml)	31,8	78	74	82	59	72
IGF I (ng/ml)	162	78	57	81	41	61
	174	72	63	80	43	63

NPD: negatif prediktif değer PPD: pozitif prediktif değer

5. TARTIŞMA

En sık görülen kanserler içinde dördüncü sırada yer alan kolorektal kanserler, kansere bağlı mortalite ve morbiditenin en sık sebeplerinden biridir (111). Dünyada yılda 900.000'den fazla vaka bildirilmekte ve yaklaşık 500.000 kişi kolorektal kanser nedeniyle kaybedilmektedir (112).

Kolorektal kanserli hastaların çoğunluğu lokal ilerlemiş veya metastatik hastalık döneminde tanınır ve konvansiyonel tedaviye yanıtı zayıftır. Oysa ki kanser tedavisinde başarının anahtarı erken teşhistir. Erken teşhisi sağlayacak testlerin geliştirilmesiyle daha sınırlı cerrahi operasyonlar ile morbiditenin azalması, daha yüksek kür oranları ve daha uzun yaşam sürelerine ulaşmak mümkün olacaktır. Klinik göstergelerle birlikte hastaları düşük ve yüksek risk gruplarına göre sınıflayabilmek ve hangi hastaların yardımcı tedavilerden daha çok fayda göreceğini belirleyebilmek, tedaviye yanıtı ve nüksleri izleyebilmek için prognostik ve prediktif belirteçlere ihtiyaç vardır. Mevcut tümör belirteçlerinin çoğunluğu düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. Ayrıca erken evrede yeteri kadar yükselmeleri ve kanser dışı benign hastalıklarda da yükselebilmeleri tanı amacıyla kullanabilmelerini güçleştirmektedir. Bu nedenle serumda tümör belirteçleri aktif olarak araştırılması gereken bir konudur. Bununla ilgili sayısız çalışma yapılmış olmasına rağmen katedilmesi gereken daha çok mesafe vardır.

Prediktif belirteçler içinde en iyilerden biri olan c-erbB-2, anti-c-erbB-2 (trastuzumab) tedavilerden fayda görecektir hastaları belirler. Bu yüzden de c-erbB-2'nin prognostik faktör olarak kullanımını önermek için verilerin yetersiz olmasına rağmen prediktif önemi nedeniyle 2000 yılında ASCO (Amerikan Klinik Onkoloji Derneği) tarafından primer meme kanseri olan her hastada c-erbB-2 ölçümlerinin yapılması önerilmiştir.

Akciğer, mide, meme ve over kanserlerinde doku c-erbB-2 ekspresyonunu gösteren çok sayıda çalışma yapılmış, olup sonuçları çelişkilidir (113-119).

McCann ve ark. (120) 23 kolorektal kanser, 191 meme, 110 Akciğer, 48 mesane, 23 prostat ve 10 cilt kanseri olmak üzere 405 primer insan tümöründe c-erbB-2 ekspresyonunu araştırmışlar ve meme tümörlerinde %17, kolorektal kanserlerde %4, mesane kanserlerinde %2, akciğer kanserlerinde %1 oranında ekspresyon saptamışlardır.

Arnaout ve ark. (121) kolorektal kanser sebebiyle küratif cerrahi uygulanmış 70 hasta ile yaptıkları çalışmada c-erbB-2'nin prognostik parametre olarak kullanılmayacağını bildirmişlerdir.

Essapen ve ark. (122) kolorektal kanserli 170 hastanın patoloji örnekleri ile yaptıkları immunohistokimyasal çalışmada hastalığın tespiti anlamına gelen membranöz c-erbB-2 boyanması ile klinik sonuçlar arasında korelasyon saptayamamışlardır.

Kovacevic ve ark. (123) 88 rektal kanserli hastada yaptıkları çalışmada serum preoperatif serum c-erbB-2 düzeylerini evre IV hastalarda yüksek düzeyde bulmuşlar fakat ne sağ kalım için ne de lokal rekürrens/uzak metastaz gelişimi için c-erbB-2 düzeylerinin prediktif değerinin olmadığını bildirmişlerdir.

Tsigris ve ark. (124) 63 kolorektal kanserli hastanın preoperatif ve postoperatif 7. günde serum ve idrar c-erbB-2 düzeylerini ölçerek yaptıkları çalışmada kanserli hastaların preoperatif serum c-erbB-2 düzeylerinin kontrol grubu düzeylerine göre anlamlı derecede yüksek olduğunu, karaciğer metastazları ve hastalığın evresiyle korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. Serum c-erbB-2 seviyelerinin küratif rezeksiyon yapılan hastalarda operasyondan sonra 7. günde yapılan ölçümlerde anlamlı derecede azaldığını, preoperatif serum c-erbB-2 düzeyleri daha yüksek olan hastaların sağ kalım süresinin daha az olduğunu belirlemiş ve preoperatif c-erbB-2 düzeylerinin sağ kalım için bağımsız bir gösterge olduğunu bildirmişlerdir. İdrar c-erbB-2 düzeylerinin kontrol grubu düzeyleri ile benzer olduğunu ve ne klinik ne de patolojik verilerle ilişkili olmadığını ifade etmişlerdir.

Bu çalışmada elde ettiğimiz veriler Arnaout ve ark. (121) ile Essapen ve ark.'nın (122) bulgularını desteklemektedir. Kolorektal kanserli grupta preoperatif c-erbB-2 düzeylerinin kontrol ve benign gruplara göre hafif yükselmiş olduğunu fakat bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını, küratif rezeksiyon sonrasında da anlamlı bir değişim göstermediğini tespit ettik.

Çelişkiye sebep olan bulgulardaki bu farklılık kullanılan analiz kitlerinin monoklonal antikor duyarlılığına, primer veya metastatik tümör hücrelerinin c-erbB-2 ekspresyonundaki heterojeniteye bağlı olabilir.

İn-vitro çalışmalardan elde edilen bilgiler IGF-I'in hem normal hem de neoplastik hücrelerde güçlü mitojenik ve antiapoptotik etkilerinin olduğunu, kanser progresyonunun çeşitli evrelerinde rol oynayabileceğini göstermektedir (125-127). Kolorektal epitel ve kanser hücreleri IGF-IR ekspresyon ederler ve IGF-IR mRNA ekspresyonu insan kolorektal

kanser hücre hatlarında artmıştır (128). IGF-I ile aktive olarak mitojenik etkiye neden olan IGF-IR bloke edildiğinde kanser hücrelerinin büyümesi ve çoğalması engellenmektedir (128). IGF-IR ekspresyonu bazı deneysel çalışmalarda anti EGFR ve anti c-erbB-2 tedavilerine direnç ile ilişkili bulunmuş, IGF-IR'nin EGFR veya c-erbB-2 ile aynı zamanda hedef alınmasının tümör hücrelerinin malign davranışını azalttığı gösterilmiştir (129,130). IGF-I, VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü) ekspresyonunu artırır. Böylece kan damarlarının gelişimini sağlayarak tümör progresyonuna katkıda bulunur. Hayvan modellerinde diyet kısıtlaması ile serum IGF-I düzeylerinin azaltılmasının tümör progresyonunu yavaşlattığı ve tümör hücrelerinde apoptozu arttırdığı gösterilmiştir (131,132). İn-vivo olarak rekombinant GH ve IGF-I infüzyonunun tümör büyümesini arttırdığı bildirilmiştir (133).

Wu ve ark. (134) hepatik IGF-I gen delesyonu oluşturulan transgenik fare modeliyle yaptıkları çalışmada transgenik farelerin ve sağlıklı kontrol farelerinin çekumuna adenokanser hücreleri transplante etmişler ve transgenik fare modelinde dolaşımda IGF-I'in azalması nedeniyle tümör büyümesinde ve metastaz gelişiminde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Ardından hem transgenik farelere hem kontrol farelerine rekombinant IGF-I infüzyonu uygulamışlar ve her iki grupta da tümör büyümesi ve metastaz gelişiminin anlamlı derecede arttığını belirlemişlerdir. Bu deneysel verileri destekler şekilde, akromegaliklerde yapılan klinik araştırmalar kolorektal mukoza epitel proliferasyonunun artışına bağlı olarak kolorektal kanser ve adenom riskinin arttığını ve bunun dolaşımdaki IGF-I seviyeleri ile ilişkili olduğunu göstermektedir (88, 135-137). Jenkins ve ark (88) en büyük akromegalik inceleme olan 155 akromegalik hasta ile yaptıkları araştırmada 8 hastada kolorektal kanser ve 39 hastada kolorektal adenom tespit etmişler ve adenomu olan hastaların serum IGF-I konsantrasyonlarının adenomu olmayan hastalara göre anlamlı derecede daha yüksek olduğunu ifade etmişlerdir.

Farklı kanser türlerinde yapılan klinik çalışmalarda Chan ve ark. (136) prostat kanserinde, Hankinson ve ark. (95) meme kanserinde serum IGF-I düzeylerinin kanser riski ile pozitif ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. Kolorektal kanserli hastalarda bazal IGF-I düzeylerini inceleyen bazı çalışmalar olmakla birlikte elde edilen veriler çelişkilidir (139-143).

Ma ve ark. (139) 14916 erkek olgunun bazal serum örneklerini alarak yaptıkları çalışmada 14 yıl süresince izledikleri olgulardan kolorektal kanser gelişimini saptadıkları

193 olgunun serum IGF-I düzeylerinin 393 kişilik kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu belirleyerek artmış IGF-I düzeylerinin kolorektal kanser gelişme riskini arttırmakta olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca serum IGF-I düzeyi en yüksek, IGFBP-3 düzeyi en düşük olan erkeklerde kolorektal kanser riskinin serum IGF-I ve IGFBP-3 düzeyleri en düşük olan erkeklere göre dört kat daha fazla olduğunu ifade etmişler, yüksek IGFBP-3 düzeyinin IGF-I düzeyinden bağımsız olarak kolorektal kanserde düşük risk ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Bu bulgulardan farklı olarak, Glass ve ark. (140) 29 kolorektal kanserli vaka ile yaptıkları bir çalışmada hastaların serum IGF-I düzeylerini 159 kişilik kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında istatistiksel fark saptamamışlardır. Bir başka küçük vaka grubu ile yapılan çalışmada 23 kolorektal kanserli hastada, dolaşımdaki IGF-I düzeyleri ile kanser arasında ilişki bulunmamıştır (141).

Manousos ve ark. (142) ile Triantafillidis ve ark. (143) kolorektal kanserli hastalarda preoperatif IGF-I düzeylerinin kontrol grubu düzeylerine göre artmış olduğunu fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Bazal düzeyi ile birlikte postoperatif IGF-I düzeyini inceleyen çok az sayıda çalışma vardır.

Franciosi ve ark. (144) gerçekleştirdikleri araştırmada 26 mide kanserli hastanın preoperatif ve postoperatif 14. ve 50. günlerde serum IGF-I düzeylerini ölçtüklerinde kanserli hastaların preoperatif IGF-I düzeylerinin kontrol grubu düzeyine göre anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit etmişler, postoperatif 14. günde serum IGF-I düzeyinin preoperatif düzeye göre anlamlı derecede azaldığını ve postoperatif 50. günde de bu durumun aynen korunduğunu yani IGF-I düzeyinin preoperatif düzeye göre anlamlı derecede azaldığını ancak operasyon sonrası kontrol grubu düzeyine inmediğini saptamışlardır.

Szefko ve ark. (145) bir yıl boyunca takip ettikleri 126 kolorektal kanserli hastayla yaptıkları araştırmada hastaların preoperatif, postoperatif 1. ay, 6. ay ve 12. aylarda serum IGF-I düzeylerini ölçmüşler, postoperatif 1. aydaki serum IGF-I düzeyinin preoperatif düzeye göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azaldığını fakat postoperatif 6. ve 12. aylardaki IGF-I düzeylerinin preoperatif düzeye döndüğünü belirlemişlerdir.

Çalışmamızda preoperatif IGF-I düzeyini malign grupta benign grup ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulduk. Bu durum, preoperatif IGF-I düzeyinin malign-benign ayırıcı tanısında yardımcı olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte

lenfatik invazyonu olan hastalarda lenfatik invazyonu olmayanlara göre IGF-I düzeylerinin anlamlı derecede düşük olması paradoks gibi görünmektedir. Bu durum hastalığın progresyonuyla bir değişim olduğunu düşündürmektedir. Malign dönüşüm sırasında birtakım genlerin ifadesi artarken bazı genlerin ifadesi baskılanmaktadır. IGF-I geni hastalığın progresyonu sırasında baskılanan genlerden biri olabilir. Çalışmamızda tümörü metastaz yapan ve yüksek histolojik grade'e sahip olan sadece iki hasta ve perinöral invazyon ile kan damarı invazyonu olan sadece beş hasta bulunduğu için ve de hastaları tek tek evrelere göre ayırıp analiz yapacak ölçüde hasta sayısı mevcut olmadığından malign grupta IGF-I düzeyini grade, metastaz, perinöral invazyon ve kan damarı invazyonu açısından ayrıntılı bir şekilde incelemek mümkün olmamıştır. IGF-I' in kolorektal kanserdeki rolüne ilişkin bulgular arasındaki çelişkinin değerlendirilmesinde çalışmalarda kullanılan analiz kitlerinin farklılığı da göz önünde bulundurulmalıdır. Bunların dışında cinsiyet, fizik aktivite, VKİ, beslenme durumu, enerji alımı gibi farklı etkenler arasındaki karmaşık etkileşim de sonuçlara yansımış olabilir (146-151). Ayrıca cerrahi operasyonun kendisi de endokrin sistem değişikliklerine ve IGF-I düzeylerinde azalmaya neden olabilmektedir (152).

Diğer taraftan son veriler diyet ile ilişkili faktörlerin serum insülin konsantrasyonları ve IGF-I fonksiyonunu etkilemek suretiyle kolorektal kanser açısından risk oluşturduğunu göstermektedir (128). İnsülin IGF-BP-1 üretimini inhibe ederek ve dolaşımdaki IGF-I/IGFBP-3 oranını artırarak IGF-I'in fonksiyonunda artmaya neden olmaktadır. Zamanla artan IGF-I fonksiyonu da kolorektal kanser riskini artırmaktadır (128). Giovannucci ve ark. (153) 32826 kadın olgu ile gerçekleştirdikleri çalışmada, bazal serum örnekleri alınan olguları 6 yıl takip etmişler bu süreçte tanı alan 79 kolorektal kanser, 107 erken dönem adenom (1 cm'den küçük ve tübüler histolojiye sahip), 90 orta/ileri dönem adenom (1 cm veya üzerinde tübülovillöz/villöz histolojiye sahip) olgusunun serum IGF-I düzeylerini kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında dolaşımdaki IGF-I düzeyi yüksek olan olgularda orta/ileri dönem adenom ve kanser gelişme riskinin arttığını saptamışlardır. Ancak serum IGF-I düzeyi ile erken dönem adenom gelişimi arasında ilişki bulmamışlardır. Elde ettikleri bu bulgularla kolorektal kanser ve büyük veya tübülovillöz adenom gelişiminde yüksek serum IGF-I düzeyinin bağımsız risk faktörü olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ma ve ark.'nın (139) çalışmasına benzer şekilde bu çalışmada da yüksek IGF-BP-3 düzeyi IGF-I düzeyinden bağımsız olarak kolorektal adenom ve

kanserde düşük risk ile ilişkili bulunmuştur. Sonuç olarak, IGF-I'in kolorektal kanser oluşumundaki etkilerini tek başına değil, fonksiyonunu etkileyen IGFBP, IGFBP'lerin spesifik proteazları ve düzenleyici faktörleri ile birlikte değerlendirmenin daha anlamlı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Nitekim IGFBP'lerin IGF-I fonksiyonu üzerindeki inhibisyon şeklindeki etkileri farklı klinik durumlara neden olabilmektedir (81,154).

Yeni yapılan bazı çalışmalar IGF-I ve IGFBP konsantrasyonlarının bireyler arası farklılığının genetik farklılıklardan kaynaklanabileceğini göstermektedir (155-157).

TGF β 1 normal olarak barsak epitel hücrelerinin büyümesini inhibe etmesine rağmen kanser hücrelerinde paradoksal bir değişim ile büyüme uyarıcı etki göstermektedir (158,159). Tümör hücrelerinde henüz bilinmeyen bir mekanizma ile TGF β 'nın antiproliferatif ve tümör baskılayıcı etkisi ortadan kalkar. TGF β yolunun baskılanması sonucu hücreler kontrolsüz bir şekilde çoğalmaya başlar. TGF β sinyalizasyon yolundaki moleküllerin genlerinde meydana gelen mutasyonlar bu yolun inaktivasyonuna ve başta kolorektal kanserler olmak üzere çeşitli kanserlerin gelişmesine neden olurlar (158,159).

Sinyalizasyon yolundaki inaktivasyon nedenleri kolorektal kanserlerde sıklıkla T β R II, Smad2 ve Smad4 genlerindeki mutasyonlar veya ekspresyonlarındaki azalmalardır. Tümör oluşum ve gelişiminde hangi mekanizma etkilenmiş olursa olsun kanserli hücrelerde TGF β 1 düzeylerinde artış olduğu görülmektedir. Kanser hücreleri TGF β sentezlemekte ve bu büyüme faktörünü kendi avantajları için kullanmaktadır.

Tümör hücreleri tarafından TGF β 1 üretimi anjiyogenezi artırarak ve tümör hücrelerinin immün gözetimden kaçmasını sağlayarak tümör büyümesine neden olmaktadır. TGF β 1 anjiyogenezdeki rolünü endotel hücreleri üzerindeki kemotaktik etkisi ile gerçekleştirir. Bu etkiyi tenasein gibi endotel hücrelerinin adhezyonunu ve göçünü sağlayan matris proteinlerinin yapımını artırarak oluşturur (160,161). Bu sayede tümör hücrelerinin invazyon ve metastazına da olanak sağlamaktadır. Ayrıca tümör anjiyogenezinde önemli bir mediatör olan VEGF ve VEGF resöptörlerinin ekspresyonunu da uyararak tümörögeneze katkıda bulunur (162).

Hepatosellüler, kolorektal, akciğer, mesane, endometriyum, prostat ve over kanserleri gibi pek çok kanserde dolaşımda TGF β 1 düzeyinin yükselmiş olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmaların bazılarında hastalığın progresyonu ve TGF β 1 düzeyleri arasında ilişki bulunmuş bazılarında ise bulunmamıştır (163-168).

Hepatosellüler karsinom ve prostat kanserinde idrar TGF β 1 düzeylerinin tümör belirteci olarak kullanılabilceğini belirten çalışmalar da mevcuttur (169-171).

Kong ve ark. akciğer kanserinde plazmada TGF β 1 düzeylerinin arttığını ifade edip hastalarda tedavi sonrası TGF β 1 düzeyinin takibiyle hastalığın devam edip etmediğinin ve rekürrensının tespit edilebileceğini ve de TGF β 1'in tümör belirteci olarak kullanılabilceğini ileri sürmüşlerdir (145,159).

Çalışmamızda her iki hasta grubunda da başlangıçta yüksek olan TGF β 1 düzeylerinin postoperatif 30. günde kontrol grubu düzeyine indiğini, malign grupta tümörün boyutu ile serum TGF β 1 düzeyleri arasında korelasyon olduğunu belirledik. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da hastalığın evresi ve invazyon derinliği arttıkça serum TGF β 1 düzeylerinin de arttığını saptadık.

Tsushima ve ark. (172) 34 benign kolorektal lezyonlu ve 117 kolorektal kanserli hastada preoperatif ve postoperatif 14. gün plazma TGF β 1 düzeylerini ölçerek yaptıkları çalışmada plazma TGF β 1 düzeylerinin hastalığın progresyonunu yansıttığını, kolorektal kanserli hastalarda karaciğer metastazını belirleyebileceğini saptamışlardır. Yüksek plazma TGF β 1 düzeylerine sahip 76 hastadan 47'sinin operasyon sonrası düzeylerinin normale döndüğünün belirlendiği çalışmada, TGF β 1 düzeyleri operasyon sonrası normale dönmeyip yüksek seyreden 29 hastanın 14'ünde KC metastazı olmak üzere tamamında rekürrens geliştiğini bildirmişlerdir.

Watanabe ve ark. (158) 45 kolorektal kanserli hastada preoperatif ve postoperatif plazma TGF β 1 düzeylerini değerlendirdikleri çalışmada kolorektal kanserli hastalarda preoperatif TGF β 1 düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu, hastalığın evresiyle paralel olarak artış gösterdiğini belirlemişlerdir. Postoperatif 7. günde yapılan ölçümlerde plazma TGF β 1 düzeylerinin kontrol grubu değerlerine döndüğünü ve tümör belirteci olarak kullanılabilceğini bildirmişlerdir.

Shim ve ark. (159) 121 kolorektal kanserli hastayla yaptıkları çalışmada hastaların preoperatif serum TGF β 1 düzeylerini ölçmüşler ve 31 olgudan oluşan kontrol grubuyla kıyasladıklarında anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlar, ayrıca preoperatif TGF β 1 düzeyinin hastalığın evresi ile arttığını, tümör invazyon derinliği, lenf nodu tutulumu, uzak metastaz ve serum CEA düzeyleri ile de pozitif korelasyon gösterdiğini belirlemişlerdir. Küratif rezeksiyonu yapılan hastaların içinden rastgele seçilmiş 50 olguda operasyon sonrası 7. günde de serum TGF β 1 düzeyleri ölçülmüş ve bizim çalışmamıza

benzer şekilde operasyon sonrası kontrol grubu düzeylerine indiğini göstermişlerdir. Ayrıca ortalama 26 ay takip ettikleri hastalardan TGF β 1 değerleri düşük olanlarda rekürrens oranı %8 iken, yüksek olanlarda rekürrens oranını %23 bulmuşlar ve TGF β 1'in hastalığın progresyonu ile ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Kolorektal kanserli hastaların tümör dokusundaki mRNA ile plazma TGF β 1 konsantrasyonu arasında korelasyon olduğu bildirilmiştir (173). Çalışmamızda preoperatif-postoperatif düzeyler arasındaki farka göre incelediğimizde, tümör çapı daha büyük olan grupta TGF β 1 düzeyindeki postoperatif azalmanın, tümör çapı küçük olan gruba göre daha yüksek oranda olduğunu belirledik. Sonuçta, bu bulgu TGF β 1 düzeyinin/aktivitesinin tümör hacmi ile ilişkili olduğunu gösterir ki, bu durum iyi bir tümör belirtecinde aranan temel özelliklerden biridir. Geleneksel tümör belirteçlerinden olup kolon kanserinde rutin olarak ölçülen CEA ve CA 19-9'dan CEA tümör çapı 5 cm'den büyük olanlarda da yüksek iken CA19-9 düzeyinde tümör boyutu açısından bir farklılık gözlenmemiştir. Bu durum TGF β 1'in kolorektal kanser için CA 19-9'dan daha değerli bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir. Diğer taraftan polipli olgularda da serum TGF β 1 düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek olması bir dezavantaj olsa da malign gruptaki yükseklik daha fazladır. Bu çalışmada elde edilen veriler TGF β 1'in 31.8 ng/ml cut off değeri ile %72 doğrulukla kolon kanseri olan olguları %78 oranında yakalayabildiğini, sağlıklı olguları ise kanserli olgulardan %74 oranında ayırt edebildiğini göstermektedir (Tablo 4.15).

EGF proliferasyon ve diferansiasyonda olan rolü, anjiyogenik ve antiapoptotik etkileri sebebiyle tümör oluşumunda önemli bir biyomoleküldür. İnsan kanserlerinde en sık görülen mekanizma EGFR aşırı ekspresyonu, gen amplifikasyonu veya aşırı EGF üretimidir.

EGF aşırı üretiminin fare fibroblastlarında transformasyonu ve tümör gelişimini arttırdığı gösterilmiştir. Baş-boyun, özofagus, mide, pankreas, prostat, over, serviks, meme ve mesane tümörleri gibi pek çok tümörde hem EGFR hem de EGF aşırı ekspresyonu gösterilmiştir. EGFR ekspresyon sıklığındaki artışın, baş-boyun kanserlerinde %80-100, renal kanserlerde %50-90, akciğer kanserlerinde %30-50, meme kanserlerinde %14-91 ve kolorektal kanserlerde %25-82 oranında olduğu bildirilmiştir (29).

Singer ve ark. (174) 75 kolorektal kanserli hastada yaptıkları çalışmada EGFR ekspresyonunu olguların %39'unda tespit etmişken, Cunningham ve ark. (175) 87 kolorektal kanserli hastada yaptıkları çalışmada EGFR ekspresyonunu %83 oranında

saptamışlardır. Fakat bunun ne klinikopatolojik parametreler ne de sağ kalımla ilişkili olmadığını bildirmişlerdir. Sonuçlardaki bu büyük farklılığın nedeni muhtemelen Cunningham ve arkadaşlarının çalışmalarında çok küçük miktardaki heterojen tümör biyopsisinde dahi düşük seviyedeki reseptörleri tespit edebilen doku mikroarray tekniğini kullanmalarından kaynaklanmaktadır.

Bu verilere rağmen Cunningham ve ark. (176) yaptıkları bir çalışmayla kemoterapötik bir ajan olan irinotekana karşı direncin EGFR ekspresyonu gösteren tümörlere ait bir özellik olup olmadığını irdelemeksizin, irinotekan içeren kemoterapi rejimlerine direnç gösteren hastalarda anti EGFR molekülü olan setuksimabın, irinotekan ile birlikte kullanıldığında irinotekana karşı direncin kırılabileceğini göstermişlerdir. Bu çalışma sonucunda EGFR monoklonal antikoru olan setuksimab Amerikan İlaç Dairesi'nden kullanım onayı almıştır.

Tirozin kinaz inhibitörü olan genisteinin meme kanseri hücre hatlarında EGF ile indüklenen invazyonu inhibe ettiği ve hücrel göçte rolü olan MMP-9 (matriks metalloproteinaz-9) ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (177). Bu bulgular artmış EGF ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğunu destekler niteliktedir. Bunun aksine evreyle EGFR ekspresyonunun ilişkili olmadığını belirten çalışmalar da vardır (178-180).

Shirai ve ark. (181) submukozaya invaze 68 erken kolorektal karsinomlu hastada, hastaların patoloji örneklerini adenomatöz komponent içeren (n=38) ve içermeyen (n=30) şeklinde iki sınıfa ayırarak yaptıkları çalışmada immunohistokimyasal olarak EGF ekspresyonunu araştırmışlardır. 68 hastadan 24'ünde (%35) EGF ekspresyonu olduğunu ve bunun adenomatöz komponent içermeyen tümörlerde anlamlı derecede daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bulgulara dayanarak EGF ekspresyonunun de novo kanser oluşumunun göstergesi olabileceğini bildirmişlerdir.

Metastaz potansiyeli yüksek olan kolon kanseri hücrelerinde daha düşük metastatik potansiyele sahip olan kolon kanseri hücrelerine oranla belirgin olarak daha yüksek EGFR düzeyleri saptanmıştır (26). Ayrıca EGFR ekspresyonunun rezeke edilmiş erken evre küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde negatif prognostik faktör olduğu bildirilmiştir (19,182).

Aziz ve ark. (183) 48 kolorektal kanserli hastayla yaptıkları çalışmada serum EGFR düzeylerini 20 olgudan oluşan kontrol grubu düzeylerine kıyasla anlamlı olarak yüksek

bulmuşlar, EGFR düzeylerinin tümörün histolojik grade ile olmasa da evre ve prognoz ile ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir.

McKay ve ark. (184) 249 kolorektal kanserli hastanın patoloji örnekleriyle gerçekleştirdikleri araştırmada %49 oranında EGFR ekspresyonunda artış saptamışlar bu artışın hastalığın evresi ve prognozla ilişkili olmadığını belirtmişlerdir.

Döger ve ark. (185) da benzer şekilde 60 olgudan oluşan kolorektal kanserli hasta grubuyla yaptıkları çalışmada EGFR'nin iyi bir prognostik faktör olmadığını bildirmişlerdir.

Kolorektal kanserli hastalarda tümör dokusunda EGFR ekspresyonu ile hastalığın evresi, metastaz varlığı ve prognozu açısından birçok araştırma yapılmış olmasına rağmen ilginç bir şekilde kolorektal kanserli hastalarda aynı açıdan dolaşımdaki EGF düzeylerini inceleyen hiçbir çalışma yapılmamıştır. Sadece Yoon ve ark. (186) karaciğer metastazlı kolorektal kanserli 26 hastada hepatektomi öncesi ve sonrası plazma anjiyogenik faktörlerini inceledikleri çalışmada plazma preoperatif EGF seviyelerinin karaciğer metastazlı hastalarda, sağlıklı kontrol grubuna göre 2,4 kat daha yüksek olduğunu ve bunun istatistiksel anlamlılık düzeyinde olmasa da rekürrens ile korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. Hastaların hepatic rezeksiyon sonrası 3. gün, 1. ay ve 3. aydaki plazma EGF düzeylerinin azalmakla birlikte preoperatif düzeye yakın olarak kontrol grubu düzeyinden daha yüksek seyrettiğini ama bu düzeylerin rekürrens ile ilişkili olmadığını tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada kolorektal kanserli hastaların preoperatif EGF düzeylerinin, kolorektal polipli hastaların preoperatif EGF düzeylerinden yüksek olmakla birlikte aradaki farkın anlamlılık boyutunda olmadığını saptadık. Ancak her iki hasta grubunun preoperatif EGF düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Polipli hastalarda polipektomi sonrası EGF düzeyinin preoperatif düzeye göre anlamlı derecede azalarak kontrol grubu düzeylerine yaklaştığını, kanserli hastalarda ise cerrahi operasyon sonrası EGF düzeyinin preoperatif düzeye göre anlamlı derecede azalmasına rağmen kontrol grubu düzeyinden anlamlı derecede yüksek seyrettiğini tespit ettik. Malign grupta lenfatik invazyon olan tümörlerde, lenfatik invazyon olmayanlara göre EGF düzeyini anlamlı derecede daha yüksek bulduk. Buna paralel olarak istatistiksel anlamlılık derecesinde olmasa da invazyon derinliği fazla olan, ileri evre ve çapı 5 cm'nin üzerinde olan tümörlerde de EGF düzeyini daha yüksek olduğunu saptadık. Kolorektal kanserli

hastalarda aşırı EGF üretiminin, EGFR'nin aşırı ekspresyonu ile aynı mekanizma yoluyla tümör progresyonuna katkıda bulunacağı düşüncesiyle bulgularımızın daha fazla lenf noduna metastaz yapmış ve ileri evre olan tümörlerde EGFR ekspresyonunun daha fazla olduğunu bildiren çalışmalarla benzerlik gösterdiği kanaatindeyiz (187,188).

Preoperatif CEA ve CA 19-9 düzeyleri lenfatik invazyon varlığında bir farklılık göstermediği halde EGF düzeyinin gösteriyor olması EGF'yi yeni bir tümör belirteci olması açısından şanslı kılmaktadır. Polipli olgularda da kanserli olgulardakine yakın düzeylerde seyretmesi bu şansı azaltan bir dezavantaj olmasına rağmen bulgularımızın analiz sonuçlarına göre preoperatif serum EGF düzeyi 92.5 pg/ml cut off değeri ile, %78 doğrulukla kolorektal kanserli olguları %78 oranında yakalayabilmekte, sağlıklı olguları kolorektal kanserlilerden %76 oranında ayırt edebilmektedir (Tablo 4.15).

Kontrol grubunda EGF-IGF-I ve EGF-TGF β 1 arasında görülen korelasyonun hücrelerin fizyolojisinin bozulması ve transformasyona uğrayarak kanser hücresine dönüşmesiyle ortadan kalkması karsinogenezde önemli role sahip büyüme faktörlerinin sinyalizasyonlarının değiştiğinin göstergesi olarak düşünülebilir.

Sonuç olarak;

EGF ve TGF β 1 düzeylerinin kolorektal polipli hastalarda yüksek olup, polipektomi sonrasında kontrol grubu düzeyine inmesi koruyucu önlemlerin alınması açısından uyarıcıdır. Kolorektal kanserlerin çok büyük bir bölümünün polip zemininden kaynaklandığı göz önünde bulundurulduğunda daha kansere ilerlemeden bu lezyonların çıkartılmasının kanser insidansında azalma sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Serum EGF düzeyinin kolorektal kanserli olgularda kontrol grubuna ve polipli olgulara göre daha yüksek olmasının klinik açıdan yararlı olduğu görüşündeyiz. Ayrıca kanserli olgularda postoperatif EGF düzeyinin kontrol grubu seviyesine inmemesi hastalarda tespit edilemeyen bir tümör odağının daha mevcut olabileceği veya operasyonda tümörlü dokunun tamamen çıkarılıp çıkarılmadığı gibi operasyonun etkinliği konusunda incelemeye sevkedici bilgi sağlayabileceği kanaati uyandırmaktadır. Bununla birlikte EGF'nin polipli hastaların takibinde yararlı olacağı düşüncesindeyiz.

IGF-I düzeyinin sadece kolorektal kanserli grupta yükselmesi, polipli grupta kontrol grubu düzeylerinde olması kolorektal lezyonların malign-benign ayırıcı tanısında yardımcı olsa da postoperatif anlamlı düşüş göstermemesi klinik kullanımı sınırlayan bir dezavantajdır.

Bu çalışmada araştırılan serum parametreleri içinde, preoperatif düzeyinin kolorektal kanserli olgularda kontrol ve polipli olgulara göre anlamlı derecede yüksek olması, küratif rezeksiyon sonrasında anlamlı düşüş göstermesi ve tümör büyüklüğü ile ilişkili olması nedeniyle tümör belirteci olarak klinikte kullanım potansiyeli en yüksek olan TGF β 1'dir.

Özellikle meme kanserinde tedavi hedefi olarak kabul gören c-erbB-2'nin dolaşımdaki düzeyinin kolorektal kanser açısından herhangi bir klinik önemi olmadığı sonucuna varılmıştır.

6. ÖZET

Son yıllarda yapılan birçok çalışma büyüme faktörlerinin karsinogenezde önemli rolleri olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada kolorektal kanserli ve kolorektal polipli hastalarda bu büyüme faktörlerinden EGF, TGF β 1, IGF-I ve çözünebilir c-erbB-2 onkoproteini düzeylerinin prediktif değeri olup olmadığının belirlenmesiyle birlikte prognostik faktörlerle ilişkileri ve tedavi hedefi olarak dikkate alınabilirlikleri konusunda bulgular saptanması amaçlandı.

Üç çalışma grubu oluşturuldu. Bunlardan malign grup 31 kolorektal kanserli hastadan, benign grup 23 kolorektal polipli hastadan ve kontrol grubu 30 sağlıklı gönüllüden oluşmaktaydı. Hastalardan cerrahi müdahale öncesi ve sonrasındaki 30. günde kan örnekleri alındı. Elde edilen serumlarda ELISA yöntemiyle EGF, TGF β 1, IGF-I ve c-erbB-2 düzeyleri belirlendi.

Preoperatif IGF-I düzeyi malign grupta benign grup ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek iken preoperatif EGF düzeyi hem benign grupta hem de malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Preoperatif TGF β 1 düzeyi ise benign grupta kontrol grubuna göre, malign grupta hem benign hem de kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olarak belirlenmiştir. Çalışma grupları arasında preoperatif c-erbB-2 düzeyleri bakımından anlamlı fark bulunmamış, anlamlı bir postoperatif değişim gözlenmemiştir.

Kontrol grubunda yaş-VKİ, EGF-IGF I, EGF-TGF β 1; benign grupta VKİ-TGF β 1, tümör çapı-IGF I; malign grupta tümör çapı-TGF β 1 ve CA 19-9 ile CEA arasında korelasyon saptanmıştır.

EGF ve TGF β 1'in serum düzeylerinin kolorektal polipli hastalarda yükselmesinin koruyucu önlemlerin alınması açısından uyarıcı olduğu, serum TGF β 1 düzeyinin kolorektal kanser tanısında ve prognozun izlenmesinde iyi bir belirteç olabileceği, serum IGF-I düzeyi ile ilgili daha güvenilir veriler elde edilebilmesi için daha geniş kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiği, serum c-erbB-2 düzeylerinin ise kolorektal kanser açısından klinik önemi olmadığı sonucuna varılmıştır.

7. SUMMARY

Recent studies have shown that growth factors play an important role in carcinogenesis. In this study, it was aimed to determine the predictive values of the levels of growth factors including EGF, TGF β 1, IGF-I and soluble c-erbB-2 oncoprotein and their relationship with prognostic factors and also to detect the findings about how they could be taken into consideration as therapeutic targets in patients with either colorectal cancer or colorectal polyp.

Three working groups were formed. One of them was malign group included 31 patients with colorectal cancer, other one was benign group included 23 patients with colorectal polyps and last one was control group that was constituted 30 healthy volunteers. Preoperative and postoperative 30th day, blood samples were obtained from patients. EGF, TGF β 1, IGF-I and c-erbB-2 levels were detected in obtained serum samples with ELISA.

While, the preoperative IGF-I levels of malign group were significantly higher than benign group and control group, preoperative EGF levels were significantly higher in both malign and benign group than control group. It is determined that preoperative TGF β 1 levels of benign group were higher than control group and also TGF β 1 levels of malign group were significantly higher than both benign and control group. There were no significant difference between all study groups for preoperative c-erb B-2 levels and also there were no significant postoperative changes.

It was founded that there were correlations between age and BMI, EGF and IGF I, EGF and TGF β 1 in control group; BMI and TGF β 1, tumor size and TGF- β 1 in benign group, CA 19-9 and CEA in malign group.

It was concluded that increased EGF and TGF β 1 levels in patients with colorectal polyp are cautionary sign for protective procedures; serum TGF β 1 levels might be a good predictor for both diagnose and prognostic follow up in colorectal cancer patients; further investigations are needed to obtain more reliable data for serum IGF-I levels; serum c-erbB2 level has not clinical significance in terms of colorectal cancer.

8. KAYNAKLAR

1. Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Matthews JB, Pollock RE. Oncology. In: Brunicaardi FC (Ed.). Textbook of Schwarz's Principles of Surgery. 9th edition, Newyork: McGraw-Hill, 2010; 10: 235-271.
2. Mendelsohn J. Neoplastic Diseases. İn Wilson JD. Braunwald E. Isselbacher KJ. Petersdorf RG. Martin JB. Fauci AS. Root RK (Eds.). Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th ed. Newyork: McGraw-Hill, 1990: 1579-1612.
3. Sclafani RA, Schaurer IE, LanganTA. Alterations in cell cycle control in lung cancer. In: Kane MA, BunnPA (Eds.). Biology of lung cancer. Newyork: Marcel Dekker Inc. 1998: 295-315.
4. Kikuchi-Yanoshita R, Konishi M, Ito S, Seki M, Tanaka K, Maeda Y, Iino H, Fukayama M, Koike M, Mori T, Genetic changes of both p53 alleles associated with the conversion from colorectal adenoma to early carcinoma in familial adenomatous polyposis and non-familial adenomatous polyposis patients. Cancer Res 1992; 52: 3965-71.
5. Hussain SP, Harris CC. Molecular epidemiology and carcinogenesis: endogenous and exogenous carcinogens. Mutat Res 2000; 462: 311-22.
6. Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Matthews JB, Pollock RE. Colon, Rectum and Anus. In: Brunicaardi FC (Ed.). Textbook of Schwarz's Principles of Surgery. 9th edition, Newyork: McGraw-Hill, 2010; 29: 1013-1073.
7. Kumar V, Abbas AK, Fausto N et al. Neoplazi. Robbins Temel Patoloji. Uğur Çevikbaş (ç. Ed.). 8. baskı, İstanbul: Nobel, 2007: 173-225.
8. Karagakis K. Garbe C. Zouboulis C.C. Orfanus C.E. Growth control of melanoma cells and melanocytes by cytokines. Recent Results in Cancer Research 1995; 139: 169-182.
9. Raff M.J. Size control: The regulation of cell numbers in animal development. Cell 1996; 86: 173-175.
10. Cohen, S. Epidermal Growth Factor, Bioscience Reports 1986; 6: 1017-1028.

11. Ekmekçi A, Erbas D. Kanserin Moleküler Mekanizması, Onkogenler ve Büyüme Faktörleri. Ankara 1991: 136-168.
12. De Larco JE, Todaro GJ. Epitheloid and fibroblastic rat kidney cell clones: epidermal growth factor (EGF) receptors and the effect of mouse sarcoma virus transformation. *J Cell Physiol* 1978; 94: 335-342.
13. Graus-Porta D, Beerli RR, Daly JM, Hynes NE. ErbB-2, the preferred heterodimerization partner of all ErbB receptors, is a mediator of lateral signaling. *EMBO J* 1997; 16: 1647-1655.
14. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. Ağız Boşluğu ve Gastrointestinal Sistem. Robbins Temel Patoloji. Uğur Çevikbaş (ç. Ed.). 8. baskı, İstanbul: Nobel, 2007: 579-631.
15. Pinkas-Kramarski R, Soussan L, Waterman H, Levkowitz G, Alroy I, Klapper L, Lavi S, Seger R, Ratzkin BJ, Sela M, Yarden Y. Diversification of Neu differentiation factor and epidermal growth factor signaling by combinatorial receptor interactions. *EMBO J* 1996; 15: 2452-2467.
16. Holland EC, Hively WP, DePinho RA, Varmus HE. A constitutively active epidermal growth factor receptor cooperates with disruption of G1 cell-cycle arrest pathways to induce glioma-like lesions in mice. *Genes Dev* 1998; 12: 3675-3685.
17. Voldborg BR, Damstrup L, Spang-Thomsen M, Poulsen HS. Epidermal growth factor receptor (EGFR) and EGFR mutations, function and possible role in clinical trials. *Ann Oncol* 1997; 8: 1197-1206.
18. Wu X, Fan Z, Masui H, Rosen N, Mendelsohn J. Apoptosis induced by an anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody in a human colorectal carcinoma cell line and its delay by insulin. *J Clin Invest* 1995; 95: 1897-1905.
19. Shao ZM, Shen ZZ, Barsky SH. Genistein inhibits both constitutive and EGF-stimulated invasion in ER-negative human breast carcinoma cell lines. *Anticancer Res* 1998; 18: 1435-1440.
20. Salamon DS. Epidermal growth factor related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Haematol* 1995; 19: 183-232.

21. Pavelic K, Banzac Z, Pavelic J, Spaventi S. Evidence for a role of EGF receptor in the progression of human lung carcinoma. *Anticancer Res* 1993; 13: 1133-1138.
22. Yasui W, Sumiyoshi H, Hata J, Kameda T, Ochiai A, Ito H, Thara E. Expression of epidermal growth factor receptor in human gastric and colonic carcinomas. *Cancer Res* 1988; 48: 137-141.
23. Scambia G, Benedetti Panici P, Battaglia F, Ferrandina G, Greggi S, De Vincenzo R, Mancuso S. Significance of epidermal growth factor receptor in advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol* 1992; 10: 529-535.
24. Neal DE, Marsh C, Bennett MK, Abel PD, Hall RR, Sainsbury JR, Harris AL. Epidermal growth factor receptors in human bladder cancer: comparison of invasive and superficial tumours. *Lancet* 1985; 1: 366-368.
25. Prakash I, Mathur RP, Kar P, Ranga S, Talib VH. Comparative evaluation of cell proliferative indices and epidermal growth factor receptor expression in gastric carcinomas. *Indian J Pathol Microbiol* 1997; 40: 481-490.
26. Radinsky R, Risin S, Fan D, Dong Z, Bielenberg D, Bucana CD, Fidler IJ. Level and function of epidermal growth factor receptor predict the metastatic potential of human colon carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 1995; 1: 19-31.
27. Brunton VG, Ozanne BW, Paraskeva C, Frame CM. A role for egfr, c-Src and focal adhesion kinase in an in vitro model for the progression of colon cancer. *Oncogene* 1997; 14: 283-293.
28. Ahnen DJ, Feigl P, Quan G, Fenoglio-Preiser C, Lovato LC, Bunn PA. Jr, Stemmerman G, Wells JD, Macdonald JS, Meyskens FL Jr. Ki-ras mutation and p53 overexpression predict the clinical behavior of colorectal cancer: a Southwest Oncology Group study. *Cancer Res* 1998; 58: 1149-1158.
29. Herbst RS, Shin DM. Monoclonal Antibodies to Target Epidermal Growth Factor Receptor-Positive Tumors. *American Cancer Society* 2002: 1593-1611.
30. Khalifa MA, Law C. Expression of Epidermal Growth Factor Receptor in Primary Colorectal Adenocarcinoma Predicts Expression in Recurrent Disease. *Am J Clin Pathol* 2006; 125: 229-233.

31. Gregory, H. Isolation and Structure of Urogastrone and its Relationship to EGF, *Nature* 1975; 257: 325-327.
32. Gross ME, Zorbas MA, Danels YJ, Garcia R, Gallic GE, Olive M, Brattain MG, Boman BM, Yeoman LC. Cellular growth response to epidermal growth factor in colon carcinoma cells with and amplified epidermal growth factor receptor derived from a familial adenomatous polyposis patient. *Cancer Res* 1991; 51: 1452-1459.
33. Ciardiello F, Caputo R, Bianco R, Damiano V, Pomatice G, De Placido S, Bianco AR, Tortora G. Antitumor effect and potentiation of cytotoxic drugs activity in human cancer cells by ZD-1839 (Iressa) an epidermal growth factor receptor selective tyrosine kinase inhibitor. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2053-2063.
34. Robert RB, Min L, Washington MK, Olsen SJ, Settle SH, Coffrey RJ, Threadgill DW. Importance of epidermal growth factor receptor signaling in establishment of adenomas and maintenance of carcinomas during intestinal tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 1521-1526.
35. Popescu NC, King CR, Kraus MH. Localization of the human erbB-2 gene on normal and rearranged chromosomes 17 to bands q12-21.32. *Genomics* 1989; 4: 362-366.
36. Yarden Y, Biology of HER2 and Its Importance in Breast Cancer. *Oncology* 2001; 61: 1-13.
37. Burtis CA, Ashwood ER, Burns DE. Tumor Markers. In: Mindy Hutchinson (Ed.). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 4th edition, St. Louis: Elsevier Saunders, 2006; 23: 745-797.
38. Pinkas-Kramarski R, Lenferink AEG, Bacus SS, Lyass L, van de Poll MLM, Klapper LN, Tzahar E, Sela M, van Zoelen EJJ, Yarden Y. The oncogenic ErbB-2 /ErbB-3 heterodimer is a surrogate receptor of the epidermal growth factor and betacellulin. *Oncogene* 1998; 16: 1249-1258.
39. Klapper LN, Glathe S, Vaisman N, Hynes NE, Andrews GC, Sela M, Yarden Y. The ErbB-2/ HER2 oncoprotein of human carcinomas may function solely as a shared coreceptor for multiple stroma-derived growth factors. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96: 4995-5000.

40. Pinto-de-Sausa J, David L, Almeida R, Leitao D, Preto JR, Seixas M, Pimenta A, cerbB-2 expressionis associated with tumor location and venous invasion and influences survival of patients with gastric carcinoma. *Int J Surgical Pathol* 2002; 10: 247-256.
41. Ross JS, Fletcher JA. HER2/neu (c-erb-B2) gene and protein in breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1999; 112: 53-67.
42. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuhs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001; 344: 783-792.
43. Berchuck A, Kamel A, Whitaker R, Kerns B, Olt G, Kinney R, Soper JT, Dodge R, Clarke-Pearson DL, Marks P, McKenzie S, Yin S, Bast RC. Overexpression of HER2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 1990; 50: 4087-4091.
44. Kern JA, Schwartz DA, Nordberg JE, Weiner DB, Grene MI, Torney L, Robinson RA. p185 neu expression in human lung adenocarcinomas predicts shortened survival. *Cancer Res* 1990; 50: 5184-5191.
45. Ross JS, Sheehan C, Hayner-Buchan AM, Ambros RA, Kallakury BVS, Kaufman R, Fisher HAG, Muraca PJ. HER2/neu gene amplification status in prostate cancer by fluorescence in situ hybridization. *Hum Pathol* 1997; 28: 827-833.
46. Rolitsky CD, Theil KS, McGaughy VR, Copeland LJ, Niemann TH. HER-2/neu amplification and overexpression in endometrial carcinoma. *Int J Gyn Pathol* 1999; 18: 138-143.
47. Annes JP, Munger JS, Rifkin DB. Making sense of latent TGF-beta activation. *J Cell Sci* 2003; 116: 217-224.
48. Massague J. TGF-beta signal transduction. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 753-791.
49. Siegel PM, Massague J. Cytostatic and apoptotic actions of TGF-beta in homeostasis and cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 807-821.

50. Pardali K, Kurisaki A, Moren A, Ten Dijke P, Kardassis D, Moustakas A. Role of Smad proteins and transcription factor Sp1 in p21 (Waf/Cip1) regulation by transforming growth factor-beta. *J Biol Chem* 2000; 275: 29244-29256.
51. Seoane J, Pouponnot C, Staller P, Schader M, Eilers M, Massague J. TGF β influences MYc, Miz-1 and Smad to control the CDK inhibitors p15INK4b. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 400-408.
52. Chen JR, Kang Y, Siegel PM, Massague J. E2F4/5 and p107 as Smad cofactors linking the TGF-beta receptor to c-myc repression. *Cell* 2002; 110: 19-32.
53. Lavarone A, Garg P, Lasorella A, Hsu J, Israel MA. The helix-loop-helix protein Id2 enhances cell proliferation and binds to the retinoblastoma protein. *Genes Dev* 1994; 8: 1270-1284.
54. Fischbach W, Zidianakis Z, Luke G, Kirchner T, Mössner J. DNA mapping of colorectal neoplasms: A flow cytometric study of DNA abnormalities and proliferation. *Gastroenterology* 1993; 105: 1126-1133.
55. Shi Y, Massague J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell* 2003; 113: 685-700.
56. Massague J, Seoane J, Wotton D. Smad transcription factors. *Genes Dev* 2005; 19: 2783-2810.
57. Kang Y, Chen CR, Massague J. A self enabling TGF-beta response coupled to stress signaling: Smad engages stress response factor ATF3 for Id1 repression in epithelial cells. *Mol Cell* 2003; 11: 915-926.
58. Xu L, Massague J. Nucleocytoplasmic shuttling of signal transducers. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 209-219.
59. Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signaling. *Nature* 2003; 425: 577-584.
60. Heldin CH, Miyazono K, ten Dijke P. TGF-beta signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature* 1997; 390: 465-471.
61. Moustakas A, Heldin CH. Non-Smad TGF-beta signals. *J Cell Sci* 2005; 118: 3573-3584.

62. Mulder KM. Role of Ras and Mapks in TGF-beta signaling. *Cytokine Growth Factor Rev* 2000; 11: 23-35.
63. Petritsch C, Beug H, Balmain A, Oft M. TGF-beta inhibits p70 S6 kinase via protein phosphatase 2A to induce G1 arrest. *Genes Dev* 2000; 14: 3093-3101.
64. Lagna G, Hata A, Hemmati-Brivanlou A, Massague J. Partnership between DPC4 and SMAD proteins in TGFbeta signalling pathways. *Nature* 1996; 383: 832-836.
65. Suzuki A, Chang C, Yingling JM, Wang XF, Hemmati- Brivanlou A. Smad5 induces ventral fates in Xenopus embryo. *Dev Biol* 1997; 184: 402-405.
66. Itoh S, Itoh F, Goumans MJ, Ten Dijke P. Signaling of transforming growth factor-beta family members through Smad proteins. *Eur J Biochem* 2000; 267: 6954-6967.
67. Massague J. G1 cell-cycle control and cancer. *Nature* 2004; 432: 298-306.
68. Fynan TM, Reiss M. Resistance to inhibition of cell growth by transforming growth factor-beta and its role in oncogenesis. *Crit Rev Oncog* 1993; 4: 493-540.
69. Markowitz S, Wang J, Myeroff L, Parsons R, Sun L, Lutterbaugh J, et al. Inactivation of the type II TGF-beta receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science* 1995; 268: 1336-1338.
70. Levy L, Hill CS. Alterations in components of the TGF-beta superfamily signaling pathways in human cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006; 17: 41-58.
71. Sjoblom T, Jones S, Wood LD, Parsons DW, Lin J, Barber TD, Mandelker D, Leary LJ, Ptak J, Silliman N. The concensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *Science* 2006; 314: 268-274.
72. Cerutti JM, E bine KN, Matsuo SE, Martins L, Maciel RM, Kimura ET. Expression of Smad4 and Smad7 in human thyroid follicular carcinoma cell lines. *J Endocrinol Invest* 2003; 26: 516-521.
73. Dowdy SC, Mariani Reinboiz MM, Keeney GL, Spielberg TC, Podratz KC, Janknetcht R. Overexpression of the TGF-beta antagonist Smad7 in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2005; 96: 368-373.
74. Massague J, Blain SW, Lo RS. TGF-beta signaling in growth control, cancer, and heritable disorders. *Cell* 2000; 103: 295-309.

75. Liu F. Receptor-regulated Smads in TGF-beta signaling. *Front Biosci* 2003; 8: 1280-1303.
76. Yu Q, Geng Y, Sicinski P. Specific protection against breast cancers by cyclin D1 ablation. *Nature* 2001; 411: 1017-1021.
77. Padua D, Massagua J. Roles of TGF-beta in metastasis. *Cell Res* 2009;19:89-102.
78. Ozdamar B, Bose R, Barrios Rodilers M, Wang HR, Zhang Y, Wrana JL. Regulation of the polarity protein Par6 by TGF-beta receptors controls epithelial cell plasticity. *Science* 2005; 307: 1603-1639.
79. Daughaday WH, Rotwein P. Insulin-like growth factors I and II: peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentrations. *Endocr Rev* 1989; 10: 68-91.
80. Lobel P, Dahms NM, Kornfeld S. Cloning and sequence analysis of the cation-independent mannose 6-phosphate receptor. *J Biol Chem* 1988; 263: 2563-2570.
81. Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 1995; 16: 3-34.
82. Morimoto LM, Newcomb PA, White E. Insulin-like growth factor polymorphisms and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1204-1211.
83. Morimoto LM, Newcomb PA, White E. Variation in plasma insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding protein-3: genetic factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1394-1401.
84. Giovannucci E. Insulin-like growth factor-I and their binding protein-3 and risk of cancer. *Horm Res* 1999; 51: 34-41.
85. Furstenberger G, Senn HJ. Insulin-like growth factors and cancer. *Lancet Oncol* 2002; 3: 298-302.
86. Yu H, Rohan T. Role of the insulin-like growth family in cancer development and progression. *J Natl Cancer Inst* 2000;92: 1472-1489.

87. Nolan CM, Kyle JW, Watanabe H, Sly WS. Binding of insulin-like growth factor II (IGF-II) by human cation-independent mannose 6-phosphate receptor/IGF II receptor expressed in receptor-deficient mouse L cells. *Cell Regul* 1990; 1: 197-213.
88. Jenkins PJ, Fairclough PD, Richards T, Lowe DG, Monson J, Grossman A, Wass JA, Besser M. Acromegaly, colonic polyps and carcinoma. *Clin Endocrinol* 1997; 47: 17-22.
89. Maiorano E, Ciampolillo A, Viale G, Maisonneuve P, Ambrosi A, Triggiani V, Marra E, Perlino E. Insulin-like growth factor I expression in thyroid tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2000; 8: 110-119.
90. Lee DY, Yang DH, Kang CW, Kim SJ, Joo CU, Cho SC, Kim JS. Serum Insulin-like Growth Factors (IGFs) and IGF Binding Protein (IGFBP)-3 in Patients with gastric cancer: IGFBP-3 protease activity induced by surgery. *J Korean Med Sci* 1997; 12: 32-39.
91. Lukanova A, Lundin E, Toniolo P, Micheli A, Akhmedkhanov A, Rinaldi S, Miti P, Lenner P, Biessy C, Krogh V, Zeleniuch-Jacquotte A, Berrino F, insulin-like growth factor-I and risk of ovarian cancer. *Int J Cancer* 2002; 101: 549-554.
92. Ayabe T, Tsutsumi O, Sakai H, Yoshikawa H, Yano T, Kurimoto F, Taketani Y. Increased circulating levels of insulin-like growth factor binding protein-1 in postmenopausal women with endometrial cancer. *Endocr J* 1997; 44: 419-424.
93. Steller MA, Delgado CH, Bartels CJ, Woodworth CD, Zou Z. Overexpression of the insulin-like growth factor-1 receptor and autocrine stimulation in human cervical cancer cells. *Cancer Res* 1996; 56: 1761-1765.
94. Harman SM, Metter EJ, Blackman MR, Landis PK, Carter HB. Serum levels of insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-II, IGF-binding protein-3, and prostate-specific antigen as predictors of clinical prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4258-4265.
95. Hankinson SE, Willet WC, Colditz GA, Hunter DJ, Michaud DS, Deroo B, Rosner B, Speizer FE, Pollak M. Circulating concentrations of insulin-like growth factor I and risk of breast cancer. *Lancet* 1998; 351: 1393-1396.

96. Kinzler K.W, Nilbert M.C, Su LK, Vogelstein B, Bryan TM, Levy DB, Smith KJ, Preisinger AC, Hedge P, McKechnie D. Identification of FAP locus genes from chromosome 5q21. *Science* 1991; 253: 661-665.
97. Arnold CN, Goel A, Niedzwiecki D, Dowell JM, Wasserman L, Compton C, Mayer RJ, Bertagnolli MM, Boland CR. APC promoter hypermethylation contributes to the loss of APC expression in colorectal cancers with allelic loss on 5q. *Cancer Biol Ther* 2004; 3: 960- 964.
98. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL. Genetic alterations during colorectal tumor development. *N Engl J Med* 1988; 319: 525-532.
99. <http://www.kanser.gov.tr/folders/file/8İL-2006-SON.pdf>
100. McPhee SJ, Papadakis MA. In: Tierney LM (Ed.). *Colorectal cancer, Current Medical Diagnosis and Treatment*. 2007: 652-658.
101. Samur M, Akbulut H. kolorektal karsinogenez ve herediter durumlar. *Hematoloji Onkoloji* 2003; 5: 115-121.
102. Rosai J. *Gastrointestinal Tract, Large Bowel*. In: Rosai J (Ed.). *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. 9th edition, Mosby, 2004; 1: 76-885.
103. Hamilton SR, Rubio CA, Vogelstein B, Sobin LH, Kudo S, Fogt F, Riboli E, Winawer SJ, Nakamura S, Goldgar DE. Carcinoma of the colon and rectum. In: Hamilton SR, Aaltonen LA, (Eds.). *World Healthy Organization classification of tumors. Tumors of digestive system*. Lyon, France: IARC Press; 2000: 103-145.
104. Compton CC, Carolyn C. Colorectal carcinomas: diagnostic, prognostic and molecular features. *Mod Pathol* 2003; 16(4): 376-388.
105. Oberg A, Stenling R. Are lymph node metastases of any clinical significance in Dukes Stage A and B colorectal cancer? *Dis Colob Rectum* 1998; 41: 1244-1249.
106. Vermeulen PB, Van den Eynden GG, Huget P, Gooaverts G, Weyler J, Lardon F, Van Marck E, Hubens G, Dirix LY. Prospective study of intratumoral microvessel density, p53 expression and survival in colorectal cancer. *Br J Cancer* 1999; 79: 316-322.

107. Cooper HS. Intestinal Neoplasms. In: Mills SE (Ed.). Stenberg's Diagnostic Surgical Pathology. 4th edition, Baltimore: Lippincott Williams&Wilkins, 2004; 2: 1543-1601.
108. Nielsen HJ, Hansen U, Christensen IJ, Reimert CM, Brunner N, Moesgaard F. Independent prognostic value of eosinophil and mast cells infiltration in colorectal cancer tissue. *J Pathol* 1999; 189: 487-495.
109. Elkablawy AM, Maxwell P, Williamson K, Anderson N, Hamilton PW. Apoptosis and cell-cycle regulatory proteins in colorectal carcinoma: Relationship to tumour stage and patient survival. *Journal of Pathology* 2001; 194: 436-443.
110. Bauer K, Bagwell CB, Giretti W, Melamed M, Zarbo RJ, Witzig TE, Rabinovitch PS. Consensus review of the clinical utility of DNA flow cytometry in colorectal cancer. *Cytometry* 1993; 14: 486-491.
111. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 71-96.
112. Chin KF, Greenman J, Gardiner E, Kumar H, Topping K, Monson J. Preoperative serum vascular endothelial growth factor can select patients for adjuvant treatment after curative resection in colorectal cancer. *British Journal of Cancer* 2000; 83: 1425-1431.
113. Osaki T, Mitsudomi T, Oyama T, Nakanishi R, Yasumoto K. Serum level and tissue expression of c-erbB-2 protein in lung adenocarcinoma. *Chest* 1995; 108: 157-162.
114. Kono K, Naganuma H, Sekikawa T, Amemiya H, Takanashi A, Lizuka H, Matsumoto Y. Serum level of HER-2/neu in patients with gastric cancer: correlation with HER-2/neu overexpression in gastric carcinoma tissue. *Tumour Biol* 2000; 21: 139-144.
115. Andersen TI, Paus E, Nesland JM, McKenzie SJ, Borresen AL. Detection of c-erbB-2 related protein in sera from breast cancer patients. Relationship to ERBB2 gene amplification and c-erbB-2 protein overexpression in tumour. *Acta Oncol* 1995; 34: 499-504.

116. Molina R, Jo J, Filella X, Zanon G, Pahisa J, Munoz M, Farrus B, Latre ML, Gimenez N, Hage M, Estape J, Ballesta AM. C-erbB-2 oncoprotein in the sera in tissue of patients with breast cancer, utility in prognosis. *Anticancer Res* 1996; 16: 2295-2300.
117. McKenzie SJ, DeSombre KA, Bast BS, Holis DR, Whitaker RS, Berchuck A, Boyer CM, Bast RC Jr. Serum level of HER-2/neu (c-erbB-2) correlate with overexpression of p185 neu in human ovarian cancer. 1993; 71: 3942-3946.
118. Fontana X, Ferrari P, Namer M, Peysson R, Salanon C, Bussiere F. C-erbB-2 gene amplification and serum level of c-erbB-2 oncoprotein at primary breast cancer diagnosis. *Anticancer Res* 1994; 14: 2099-2104.
119. Felip E, Encabo G, Vidal MT, Vera R, Del Campo JM, Rubio D. C-erbB-2 protein in ovarian epithelial cancer: correlation between expression in tumour tissue and blood levels. *Med Clin* 1995; 105: 5-8.
120. McCann A, Dervan PA, Johnston PA, Gullick WJ, Crney DN. C-erbB-2 oncoprotein expression in primary human tumours. *Cancer* 1990; 65: 88-92.
121. Arnaout AH, Dawson PM, Soomro S. HER-2 (c-erbB-2) oncoprotein expression in colorectal adenocarcinoma: an immunohistological study using three different antibodies. *J Clin Pathol* 1992; 45: 726-727.
122. Essapen S, Thomas H, Gren M. The expression and prognostic significance of HER-2 in colorectal cancer and its relationship with clinicopathological parameters. *Int J Oncol* 2004; 24: 241-248.
123. Kovacevic D, Sonicki Z, Kusic Z, Bolanca A, Grubisic G, Lukac M, Lukac J. Preoperative serum levels of c-erbB-2 do not seem to be useful in management of patients with rectal cancer. 2007; 22: 827-831.
124. Tsigris C, Karayiannakis AJ, Zbar A, Syrigos KN, Baibas N, Diamantis T, Alexiou D. Clinical significance of serum and urinary c-erbB-2 levels in colorectal cancer. 2002; 184: 215-222.
125. LeRoith D, Baserga R, Helman L, Roberts CT Jr. Insulin-like growth factors and cancer. *Ann Intern Med* 1995; 122: 54-59.

126. Baserga R. The Insulin growth factor I receptor: a key to tumour growth? *Cancer Res* 1995; 55: 249-252.
127. Singh P, Rubin R. Insulin-like growth factors and binding proteins in colon cancer. *Gastroenterology* 1993; 105: 1218-1237.
128. Sandhu MS, Dunger DB, Giovannucci EL. Insulin, Insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF binding proteins, their biologic interactions and colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 972-980.
129. Chakravarti A, Loeffler JS, Dyson NJ. Insulin like growth factor receptor I mediates resistance to antiepidermal growth factor receptor therapy in primary human glioblastoma cells through continued activation of phosphoinositide 3-kinase signaling. *Cancer Res* 2002; 62: 200-207.
130. Camirand A, Lu Y, Pollak M. Co-targeting HER-2/ErbB2 and insulin like growth factor I receptors causes synergistic inhibition of growth on HER-2-overexpressing breast cancer cells. *Med Sci Monit* 2002; 8: 521-526.
131. Dunn SE, Kari FW, French J, Leininger JR, Travlos G, Wilson R. Dietary restriction reduces insulin-like growth factor-I levels, which modulates apoptosis, cell proliferation and tumour progression in p53-deficient mice. *Cancer Res* 1997; 57: 4667-4672.
132. Kari FW, Dunn SE, French JE, Barret JC. Roles of insulin-like growth factor-I in mediating the anticarcinogenic effects of caloric restriction. *J Nutr Health Aging* 1999; 3: 92-101.
133. Butler A, Blakesley A, Tsokos VA, Pouliki M, Wood TL, LeRoith D. Stimulation of tumour growth by recombinant human insulin-like growth factor-I is dependent on the dose and the level of IGF-I receptor expression. *Cancer Res* 1998; 58: 3021-3027.
134. Wu Y, Yakar S, Zhao L, Hennighausen L, Leroith D. Circulating insulin-like growth factor-I levels regulate colon cancer growth and metastasis. *Cancer Res* 2002; 62: 1030-1035.
135. Cats A, Dullart R, Kleibeuker JH. Increased epithelial cell proliferation in the colon of patients with acromegaly. *Cancer Res* 1996; 56: 523-526.

136. Brunner JE, Johnson CC, Zafar S. Colon cancer and polyps in acromegaly: increased risk associated with family history of colon cancer. *Clin Endocrinol* 1990; 32: 65-71.
137. Ron E, Gridley G, Hrubec Z. Acromegaly and gastrointestinal cancer. *Cancer* 1991; 68: 1673-1677.
138. Chan JM, Stampfer MJ, Giovannucci E, Gann PH, Ma J, Wilkinson P, Hennekens CH, Polak M. Plasma insulin-like growth factor-I and prostate cancer risk: a prospective study. *Science* 1998; 279: 563-566.
139. Ma J, Pollak MN, Giovannucci E, Chan JM, Tao Y, Hennekens CH, Stampfer MJ. Prospective study of colorectal cancer risk in men and plasma levels of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF binding protein-3. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 620-625.
140. Glass AR, Kikendal JW, Sobin LH. Serum concentration of insulin-like growth factor-I in colonic neoplasia. *Acta Oncol* 1994; 33: 70-71.
141. El Atiq F, Garrouste F, Rémacle-Bonnet M. Alterations in serum levels of insulin-like growth factors and insulin-like binding proteins in patients with colorectal cancer. *Int J Cancer* 1994;57:491-497.
142. Manousos O, Souglakos J, Bosetti C, Tzonou A, Chatzidakis V, Trichopoulos D, Adami HO, Mantzoros C. IGF-I and IGF-II in relation to colorectal cancer. *Int J Cancer* 1999; 83:15-17.
143. Triantafyllidis JK, Merikas E, Govosdis V. Increased fasting serum levels of growth hormone and gastrin in patients with gastric and large bowel cancer. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 256-260.
144. Franciosi CM, Piacentini MG, Conti M, Romano F, Musco F, Caprotti R, Rovelli F, Yegeri F. IGF-1 and IGF-1BP3 in gastric adenocarcinoma. Preliminary study. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 297-300.
145. Sztéfko K, Hodorowicz-Zaniewska D, Popiela T, Richter P. IGF-I, IGF-II, IGFBP2, IGFBP3 and acid-labile subunit (ALS) in colorectal cancer patients before surgery and during one year follow up in relation to age. *Advances in Medical Sciences* 2009; 54: 51-58.

146. Underwood LE, Thissen JP, Lemozy S, Ketelslegers JM, Clemmons DR. Hormonal and nutritional regulation of IGF-I and its binding proteins. *Horm Res* 1994; 42: 145-151.
147. Nam SY, Lee EJ, Kim KR, Cha BS, Song YD, Lim SK, ee HC, Huh KB. Effect of obesity on total and free insulin-like growth factor-I (IGF-I) and their relationship to IGF binding protein IGFBP1, IGFBP2, IGFBP3, insulin and growth hormone. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997; 21: 355-359.
148. Janssen JA, Stolk RP, Pols HA, Grobbee DE, de Jong FH, Lamberts SW. Serum free IGF-I, total IGF-I, IGF-BP1 and IGF-BP3 levels in an elderly population: relation to age and sex steroid levels. *Clin Endocrinol* 1998; 48: 471-478.
149. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (WCRF/AICR). Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. Washington (DC): WCRF/AICR;1997.
150. Slattery ML, Potter J, Caan B, Edwards S, Coates A, Ma KN. Energy balance and colon cancer-beyond physical activity. *Cancer Res* 1997; 57: 75-80.
151. Kaaks R, Lukonova A. Energy balance and cancer:the role of insulin and insulin-like growth factor-1. *proc Nutr Soc* 2001; 60: 91-106.
152. Arosio M, Garrone S, Bruzzi P, Faglia G, Minuto P, Barreca A. Diagnostic values of the acid-labile subunit in acromegaly: evaluation in comparison with insulin-like growth factor (IGF) and IGF binding protein-1, -2, -3. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1091-1098.
153. Giovannucci E, Pollak M, Platz EA, Ma J. A prospective study of plasma insulin-like growth factor-I and binding protein-3 and risk of colorectal neoplasia in women. *Cancer Epidemiology* Apr 2000; 9: 345-349.
154. Ferry RJ Jr, Cerri RW, Cohen P. Insulin-like growth factor binding proteins: new proteins, new functions. *Horm Res* 1999;51: 53-67.
155. Brismar K, Fernqvist-Forbes E, Wahren J, Hall K. Effect of insulin on the hepatic production of insulin-like growth factor binding protein-1, IGFBP-3 and IGF-I in IDDM. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 872-878.

156. Conover CA, Lee PD, Kanaley JA, Clarkson JT, Jensen MD. Insulin regulation of insulin-like growth factor binding protein-1 in obese and non obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 1355-1360.
157. Harrela M, Koistinen H, Kaprio J. Genetic and environmental components of interindividual variation in circulating levels of IGF-I, IGF-II, IGFBP-1 and IGFBP-3. *J Clin Invest* 1996; 98: 2612-2615.
158. Watanabe M, Narai S, Hasegawa H, Nishibori H, Endo T, Kubota T, Kitajima M. Significance of transforming growth factor β 1 as a new tumor marker for colorectal cancer. *Int J Cancer* 2002; 97: 508-511.
159. Shim KS, Kim KH, Han WS, Park EB. Elevated serum levels of transforming growth factor β 1 in patients with colorectal carcinoma. Its association with tumor progression and Its significant decrease after curative surgical resection. *American Cancer Soc* 1999: 554-561.
160. Zagzag D. Anjiogenic growth factors in neural embriyogenesis and neoplasia. *Am J Pathol* 1995; 146: 293-309.
161. Merzak A, McCrea S, Koocheckpour S, Pilkinton GJ. Control of human glioma cell growth, migration and invasion in vitro by transforming growth factor β 1. *Br J Cancer* 1994; 70: 199-203.
162. Breier G, Blum S, Peli J. Transforming growth factor-beta and Ras regulate the VEGF/VEGF-receptor system during tumor angiogenesis. *Int J Cancer* 2002; 97: 142-148.
163. Murawaki Y, Ikuta Y, Nishimura Y, Koda M, Kawasaki H. Serum markers for fibrosis and plasma transforming growth factor-beta 1 in patients with hepatocellular carcinoma in comparison with patients with liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 11: 443-450.
164. Tsushima H, Kawata S, Tamura S, Ito N, Shirai Y, Kiso S. High levels of transforming growth factor beta 1 in patients with colorectal cancer: association with disease progression. *Gastroenterology* 1996; 110: 375-382.

165. Kong FM, Washington MK, Jirtle RL, Anscher MS. Plasma transforming growth factor beta 1 reflects disease status in patients with lung cancer after radiotherapy: a possible tumor marker. *Lung Cancer* 1996; 16: 47–59.
166. Eder IE, Stenzl A, Hobisch A, Cronauer MV, Bartsch G, Klocker H. Transforming growth factors-beta 1 and beta 2 in serum and urine from patients with bladder carcinoma. *J Urol* 1996; 156: 953–957.
167. Chopra V, Dinh TV, Hannigan EV. Serum levels of interleukins, growth factors and angiogenin in patients with endometrial cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 1997; 123: 167–172.
168. Junker U, Knoefel B, Nuske K, Rebstock K, Steiner T, Wunderlich H. Transforming growth factor beta 1 is significantly elevated in plasma of patients suffering from renal cell carcinoma. *Cytokine* 1996; 8: 794–798.
169. Tsai JF, Jeng JE, Chuang LY, Yang ML, Ho MS, Chang WY. Elevated urinary transforming growth factor-beta1 level as a tumour marker and predictor of poor survival in cirrhotic hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 1997; 76: 244–250.
170. Thompson TC, Truong LD, Timme TL, Kadmon D, McCune BK, Flanders KC. Transforming growth factor beta 1 as a biomarker for prostate cancer. *J Cell Biochem Suppl* 1992; 16: 54–61.
171. Perry KT, Anthony CT, Case T, Steiner MS. Transforming growth factor beta as a clinical biomarker for prostate cancer. *Urology* 1997; 49: 151–155.
172. Tsushima H, Ito N, Tamura S, Matsuda Y, Inada M, Yabuuchi I, Imai Y, Nagashima R, Misawa H, Takeda H, Matsuzawa Y, Kawata S. Circulating transforming growth factor β 1 as a predictor of liver metastasis after resection in colorectal cancer. *Cancer Res* 2001; 7: 1258-1262.
173. Tsushima H, Kawata S, Tamura S. High levels of transforming growth factor β 1 in patients with colorectal cancer: association with disease progression. *Gastroenterology* 1996; 110: 375-382.
174. Singer CF, Hudelist G, Lamm W, Mueller R, Czerwenka K, Kubista E. Expression of tyrosinekinases in human malignances as potential targets for kinase specific inhibitors. *Endocr Relat Cancer* 2004; 11: 861-869.

175. Cunningham MP, Essapen S, Thomas H, Green M, Lovell D, Topham C, Marks C, Modjtahedi H. *Int Jour Oncol* 2006; 28: 329-335.
176. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, Khayat D, Bleiberg H, Santoro A, Bets D, Mueser M, Harstrick A, Verslype C, Chau I, Van Cutsem E. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 337-345.
177. Shao ZM, Wu J, Shen ZZ. Genistein inhibits both constitutive and EGF stimulated invasion in ER-negative human breast carcinoma cell lines. *Anticancer Res* 1998; 18: 1435-1439.
178. Koretz K, Schlag P, Moller P. Expression of epidermal growth factor receptor in normal colorectal mucosa, adenoma, and carcinoma. *Virchow Arch A Pathol Anat Histopathol* 1990; 416: 343-349.
179. Lee JC, Wang ST, Chow NH, Yang HB. Investigation of the prognostic value of coexpressed erbB family members for the survival of colorectal cancer patients after curative surgery. *Eur J Cancer* 2002; 38: 1065-1071.
180. Spano JP, Lagorce C, Atlan D, Milano G, Domont J, Benamouzig R, Atar A, Benichou J, Martin A, Morere JF, Raphael M, Penault LF, Breau JL, Fagard R, Khayat D, Wind P. Impact of EGFR expression on colorectal cancer patient prognosis and survival. *Annals of Oncology* 2005; 16: 102-108.
181. Shirai H, Ueno E, Osaki M, Tatebe S, Ito H, Kaibara N. Expression of growth factors and their receptors in human early colorectal carcinomas: immunohistochemical study. *Anticancer Res* 1995; 15: 2889-2894.
182. Mendelshon J, Baselga J. Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2787-2799.
183. Abdel-Aziz MM, Lotfy M, El-Kady IM, Abozaid M. Mutant p53 protein in the serum of patients with colorectal cancer: Correlation with the level of carcinoembryonic antigen and serum epidermal growth factor receptor. *Cancer Det Prev* 2009; 32: 329-335.

184. McKay JA, Murray LJ, Curan S, Ross VG, Clarc C, Murray GI, Cassidy J, McLeod HL. Evaluation of epidermal growth factor receptor (EGFR) in colorectal tumors and lymph node metastases. *Eur J Cancer* 2002; 38: 2258-2264.
185. Doger F, Meteoglu İ, Tunçyurek P, Okyay P. Does the EGFR and VEGF expression predict the prognosis in colon cancer. *Eur Surg Res* 2006; 38: 540-544.
186. Yoon SS, Kim SH, Gonen M, Heffernan NM, Detwiller KY, Jarnagin WR, D'Angelica M, Blumgart LH, Tanabe KK, DeMatteo RP. Profile of plasma angiogenic factors before and after hepatectomy for colorectal cancer liver metastases. *Ann Surg Oncol* 2006; 13: 353-362.
187. Karameris A, Kanavaros P, Aninos D et al. Expression of epidermal growth factor (EGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in gastric and colorectal carcinomas. An immunohistological study of 63 cases. *Pathol Res Pract* 1993; 189: 133–137.
188. Radinsky R. Modulation of tumor cell gene expression and phenotype by the organ-specific metastatic environment. *Cancer Metastasis Rev* 1995; 14: 323–338.