



T.C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI

KOLOREKTAL ADENOKARSİNOMLARDA SOCS 1 GEN POLİMORFİZMİ
ANALİZİ VE SOCS 1 EKSPRESYONU İLE İLİŞKİSİ

Uzm. Dr. Talat AYYILDIZ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2011



T.C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI

KOLOREKTAL ADENOKARSİNOMLARDA SOCS 1 GEN POLİMORFİZMİ
ANALİZİ VE SOCS 1 EKSPRESYONU İLE İLİŞKİSİ

Uzm. Dr. Talat AYYILDIZ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Enver DOLAR

BURSA – 2011

İÇİNDEKİLER

Özet	ii
Summary.....	iv
Giriş	1
Kolon Kanserinin Epidemiyolojisi.....	1
Kolon Kanseri Etiyolojisi	4
Kolon Kanseri Patofizyolojisi	11
Kolon Anatomisi	14
Kolon Kanserinde Tanı	14
Prognostik belirleyiciler.....	18
İnsan DNA'sının Özellikleri ve İşlevleri	29
SOCS Proteinleri ve Hasta.....	33
SOCS Proteinlerinin İnsülin Direnci Ve Metabolik Sendrom ile İlişkisi.....	35
SOCS1 ve Kolorektal Kanser ilişkisi	35
Gereç ve Yöntem.....	37
Bulgular.....	43
Tartışma ve Sonuç.....	52
Kaynaklar.....	54
Teşekkür.....	68
Özgeçmiş.....	69

ÖZET

Kolorektal Adenokarsinomlarda SOCS 1 Gen Polimorfizmi Analizi ve SOCS 1 Ekspresyonu ile İlişkisi

Kolorektal karsinom (KRK) tüm dünyada kanser kökenli morbidite ve mortalitenin en önemli sebeplerinden biridir. Gelişiminde genetik yatkınlık ve çevresel farklılıklar önemli rol oynamaktadır. Karsinogenezde immün sistem hücrelerinin yanı sıra birçok organ sistemlerinin yaşamını, proliferasyonunu ve işlevsel aktivitesini etkileyen glikoprotein yapısında olan sitokinlerin önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Sitokinlerin indüklenebilen inhibitörleri Sitokin Sinyal Süpresorleri'dir (Supressor Of Cytokine Signaling; SOCS). SOCS proteinleri, sitokin sinyal transdüksiyon regülatörleri olarak görev yaparlar ve sinyal iletilişinin farklı aşamalarında rol alarak sitokinlerin aktivitelerini inhibe ederler. SOCS ailesindeki proteinler CIS ve SOCS 1-SOCS 7 olarak 8 grup altında toplanmaktadır. Bunlardan SOCS-1'in hepatosellüler kanser, pankreas kanseri, özofagus adenokanseri gibi kanserlerde, hayvan deneylerinde kolorektal karsinomda, karsinogenezde etkili olduğu ve tümör baskılayıcı aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Literatür tarandığında inflamasyonla giden bazı hastalıklarda SOCS-1 gen polimorfizmi çalışıldığı (Astım, Tip 1 diabetes mellitus vs) fakat KRK için SOCS-1 gen polimorfizmine dair bir çalışmanın insanda yapılmadığı görülmüştür. Planladığımız bu çalışmayla KRK'li hastalardaki SOCS1 1478 CA/DEL gen polimorfizmini ve immünohistokimyasal olarak SOCS1 ekspresyonu ile KRK'li hastaların klinikopatolojik özellikleri ve sağkalım analizleri arasındaki ilişkiyi ortaya koymaya çalıştık.

Çalışmaya KRK tanısı almış ve rezeksiyon yapılmış 53 hasta ve yaşları benzer çeşitli sebeplerle (delici-kesici alet yaralanması, megakolon vs) opere olmuş normal kolon mukozası olan 25 olgu dahil edilmiştir. Hastaların ve kontrol grubunun patoloji arşivindeki parafin blokları çıkarılarak hem SOCS1 için spesifik immünohistokimyasal araştırma kiti ile boyanması yapılmış hem de dokulardan elde edilen DNA'larda SOCS1 1478 CA/DEL

gen polimorfizmi, Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Restriksiyon Fragmanı Uzunluk Polimorfizmi (PZR-RFLP) yöntemi ile tayin edilmiştir.

Çalışmamızda SOCS1 ekspresyonu ile TNM evresi, diferansiyasyon, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu, Duke's evresi, cinsiyet, yaş, lenfovasküler, perinöral ve venovasküler invazyon gibi klinikopatolojik özellikler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ayrıca SOCS1 ekspresyonu ile hastalısız ve tam sağkalım arasında da anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bulgularımız SOCS1'in prognozu belirleyici bir kriter olmadığı yönündedir.

Gen polimorfizmi analizinde ise SOCS1 DEL/DEL (minör homozigot) gen polimorfizmi'nin hastalısız sağkalım ile ilişkili olduğu bulunmuş ($P=0.049$) ve daha kötü prognoza sahip olduğu gösterilmiştir. SOCS1 1478 CA/DEL gen polimorfizmi ile diğer klinikopatolojik özellikler arasında ise ilişki saptanmamıştır. Yine SOCS1 ekspresyonu ile SOCS1 1478 CA/DEL gen polimorfizmi arasında da anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

KRK'da SOCS proteinlerinde meydana gelebilecek polimorfizm inflamatuvar süreç gelişimine katkıda bulunarak hastalık etiyopatogenezinde yer alıyor olabilir.

Çalışmamız KRK'li hastalarda SOCS1 ekspresyonu ve SOCS1 1478 CA/DEL gen polimorfizmini araştıran ilk çalışma olması nedeniyle önemlidir. Elde edilen veriler fazla sayıda olgu içeren çalışmalarla daha anlamlı sonuçlara ulaşılacağı kanaatini uyandırmaktadır.

Anahtar kelimeler: Kolorektal karsinom, SOCS1, SOCS-1 1478 CA/DEL gen polimorfizmi.

SUMMARY

SOCS 1 Gene Polymorphism Analysis and Relationship with SOCS 1 Expression in Colorectal Adenocarcinoma

Colorectal carcinoma (CRC) is one of the most important reasons of cancer-based morbidity and mortality all over the world. Genetic predisposition and environmental differences plays an important role in the development of colorectal carcinoma. It is known that cytokines which have glycoprotein structure and effect functional activity, proliferation and live of many organ systems besides immune system cells have an important role in carcinogenesis. The inducible inhibitors of cytokines are suppressors of cytokine signalling (SOCS). SOCS proteins serves as cytokine signal transduction regulators and inhibits the activity of cytokines by acting different levels of signal transmission. Proteins in SOCS family divided to eight groups as CIS and SOCS1-SOCS7. It has been shown that SOCS1 plays role in carcinogenesis of hepatocellular cancer, pancreatic cancer, eosophageal adenocancer and experimental animal colorectal carcinoma and also have tumor suppressing activity According to literature, there are some studies on the SOCS-1 gene polymorphism in some inflammatory disease (such as asthma, type 1 diabetes mellitus) but no evidence SOCS-1 gene polymorphism in CRC in man. The aim of this study was investigate SOCS-1 1478 CA/DEL gene polymorphism of patients with CRC, immunohistochemically SOCS1 expression and relationship between survival analysis and clinicopathologic features of CRC patients.

This study were include CRC diagnosed and resected 53 patient and 25 control with normal colon mucosa which has been operated any reason (injury, megacolon etc) The paraffin blocks of patients and controls were stained by specific immunohistochemical research kit for SOCS1. SOCS1 1478 CA/DEL gene polymorphism was determined in tissue DNAs by using

Polimerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism technics.

There is no statistical difference between the SOCS1 expression and clinicopathologic features such as TNM stage, differentiation, tumor localization, tumor dimension, Duke's stage, gender, age, lenfovascular, perineural and venovascular invasion. Furthermore, There was no statistical difference between SOCS1 expression and disease-free or overall survive. According to our findings, SOCS1 is not a determinant criterion for prognosis. The relationship was found between SOCS1 DEL/DEL (minor homozigot) gene polymorphism and disease-free survival in analysis of gene polymorphism ($p=0.0049$). It was also worse the prognose. There was no relationship between the SOCS1 1478 CA/DEL gene polymorphism and the other clinicopathologic features. Additionally it was not relationship between SOCS1 expression and SOCS1 1478 CA/DEL gene polymorphism.

A polymorphism that may occure in SOCS proteins in CRC may play role in etiopathogenesis of disease by contributing to development of inflammatuar process.

SOCS1 expression and SOCS1 1478 CA/DEL gene polymorphism were the first time investigated in this. The results of present study suggested that the data from more patients are needed for meaningful results

Key words: Colorectal carcinoma, SOCS1, SOCS-1 1478 CA/DEL gene polymorphism.

GİRİŞ

Kolorektal karsinom (KRK) kanser kökenli morbidite ve mortalitenin en önemli sebeplerinden biridir. Gelişiminde genetik yatkınlık ve çevresel farklılıklar önemli rol oynamaktadır. Klinik ve patolojik birçok prognostik faktör KRK'in seyrini etkilemektedir. Karsinogenezde immün sistem hücrelerinin yanı sıra birçok organ sistemlerinin yaşamını, proliferasyonunu ve işlevsel aktivitesini etkileyen glikoprotein yapısında olan sitokinlerin önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Sitokinlerin indüklenebilen inhibitörleri Sitokin Sinyal Süpresorleri'dir (Supressor Of Cytokine Signaling; SOCS). SOCS proteinleri, sitokin sinyal transdüksiyon regülatörleri olarak görev yaparlar ve sinyal iletilişinin farklı aşamalarında rol alarak sitokinlerin aktivitelerini inhibe ederler. SOCS ailesindeki proteinler CIS ve SOCS 1- SOCS 7 olarak 8 grup altında toplanmaktadır. Bunlardan SOC1'in birçok kanserle ilişkisi gösterilmiştir. Şu ana kadar elde edilen veriler KRK'li hastalardaki SOCS1 1478 CA/DEL gen polimorfizmi ve immünohistokimyasal olarak SOCS1 ekspresyonu ile hastaların klinikopatolojik özellikleri arasındaki ilişki olabileceğini düşündürmektedir.

1. Kolon Kanserinin Epidemiyolojisi

1.1 İnsidans ve Mortalite

Küresel olarak yaklaşık 800.000 yeni kolorektal kanser vakası olduğuna inanılmaktadır, bu tüm kanserlerin yaklaşık %10'u kadardır. Kolorektal kanserden mortalite oranının ise yaklaşık 450.000 olduğu tahmin edilmektedir (1). Prevalans tahminleri 50 yaş ve üzerinde taranamamış bireylerde invaziv kolorektal kanser riskinin % 0,5-2, insitu karsinom riskinin % 1-6, 1 cm veya daha büyük adenom riskinin % 7-10 ve herhangi bir büyüklükte adenom riskinin ise % 25-40 olduğunu ortaya koymaktadır (2,3).

1.2. Yaş

Kolorektal kanser (KRK) insidansına yaş diğer demografik faktörlerden daha fazla etkilidir. Tüm gruplarda 45-50 yaş üzerinde sporadik

kolorektal kanser riski dramatik olarak artmaktadır. Hemen hemen tüm ülkelerde kadınlarda erkeklerden daha az görülmekte ,1990'da insidans her 100.000 kişide erkek için 19.4, kadın içinse 15.3 olarak ortaya konmuştur (Landis 1998). Amerikada 1992-1995 arasında tüm ırklarda yaş standardize iken insidans erkekte 50.5 kadın içinse 37.0 olarak tespit edilmiştir (Landis 1998). İlginçtir ki yaşam boyu kolorektal karsinom riski ABD'de kadın ve erkek için yaklaşık % 6 iken , ölüm riski kadınlarda % 2.7, erkeklerde ise % 2.6 olarak bulunmuştur (4). Bu çelişkili bulgulara rağmen kadınlarda ortalama yaşam süresi beklentisi erkeklerden daha fazladır. Türkiyede ise Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı tarafından 2005 yılında yayınlanan Türkiye kanser insidansı verilerine göre total kanser insidansı 173.85 / 100.000 olarak tespit edilmiş, bu tablo içerisinde kolon kanseri 7.51 /100.000 ile tüm kanserler içinde 7.sırada, cinsiyet dağılımına göre erkeklerde 8.69 /100.000 ile 6.sırada, kadınlarda ise 6.31 /100.000 ile yine 6.sıradadır (5).

1.3 Coğrafik Değişkenler

Coğrafi çeşitlilik kolorektal kanser insidansını büyük ölçüde etkilemektedir. İnsidans oranları en düşük ve en yüksek arasında 30-40 kat kadar farklılık göstermektedir. Alaska yerlilerinde insidans yüzbinde 70 iken Gambiya ve Cezayir'de yüzbinde 2'den azdır (1). Genellikle KRK insidansı ve mortalite oranlarının gelişmiş batı toplumlarında daha fazla olduğunu söyleyebiliriz (1,4).

Yukarda bahsedildiği gibi ABD'de yaş standardize edilerek yapılan incelemelerde KRK insidansı ve mortalite oranları son zamanlarda azalmaktadır (6). İlaveten 5 yıllık yaşam süreside düzelmektedir. Bu eğilim Hintli Amerikalılar hariç ırk, cinsiyet veya etnik köken ayırt etmeksizin görülmektedir. İlk bakışta diyet ve hayat tarzı değişiklikleri veya kemopreventif ajanların kullanımı buna yol açar düşüncesi uyanmakta ama bazı bölgelerde artmış kolonoskopi ve polipektomi uygulamaları önemli bir sebep olarak görülmektedir (7).

Türkiyede yine Sağlık Bakanlığınca 2005'te yayınlanan 8 ili (Ankara, Antalya, Edirne, Eskişehir,Erzurum, İzmir, Samsun, Trabzon) kapsayarak

yapılan analizlerde en yüksek KRK insidansı İzmir'de (10.69/100.000), en düşük ise Erzurum'da (2.72/100.000) tespit edilmiştir (5).

1.4 Irk ve Etnisite

Kalıtsal APC gen mutasyonu, I1307K, sık olan Askenazi Yahudilerinde KRK riskinin diğer etnik gruplara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (8). DNA uyumsuz onarım genlerinde kalıtsal mutasyonlar Afrikan-amerikanlarda daha fazladır ve kısmen ABD'deki ırklar arasında kolon kanseri anatomik varyasyonlarını açıklar (9).

1.5 Sosyo-ekonomik Faktörler

Genellikle kanser insidans ve mortalitesi ekonomik olarak ileri ülkelerde daha fazladır (4). Bu yüksek yağ, fazla kırmızı et tüketimi, fiziksel aktivite yokluğu sonucu ortaya çıkan obesite ile ilişkilidir.

1.6 Anatomik Şift

Klasik olarak kolon kanserinin bir sol veya distal kolon hastalığı olduğuna inanılıyordu. Ancak sağ kolon veya proksimal kolon kanseri sıklığı Kuzey Amerika (9) ve Avrupa'da (10) artmaktadır. Benzer eğilim Asya ülkelerinde de görülmektedir (11). Bu anatomik kayma muhtemelen multifaktöriyeldir:

- Artmış uzun ömür
- Luminal prokarsinojenlere ve karsinojenlere yanıt kolonun diğer yerleri ile rektum arasında değişkenlik gösterebilir
- Genetik faktörler, proksimal kolon kanserlerinde mikrosatellit instabilite ile sonuçlanan uyumsuz onarım genlerindeki defekt ile ilgili olabilir ve kromozomal instabilite yolağı sol kolon ve rektal kanserlerde baskın olabilir.

Anatomik varyasyondaki bu gelişmelerde kemoprovensiyon, kemoterapi (3,12,13) ve nihayetinde hastalığa spesifik tarama işlemlerinin kayda değer etkisi olduğunu düşündürmektedir.

2. Etiyoloji: Genetik ve Çevresel Risk Faktörleri

Kolorektal karsinom etiyojisi çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimini içeren bir komplekstir. Bu faktörler uzun yıllar içinde premalign bir adenomatöz polipten aşikar KRK 'a kadar geçen bir süreçte mukozal değişikliklere yol açabilir.

2.1 Kalıtsal Yatkınlık

Ailesel faktörler sporadik KRK riskine önemli oranda katkıda bulunur , birinci veya derece akrabalık , ve bunlarda kolorektal kanser başlama yaşı bunda önemlidir. Birinci dercede akrabasında KRK olanlarda 2 kat artmış KRK riski vardır (14). Birinci derece akraba 60 yaşından önce etkilenmişse risk artmaktadır. Birinci derece akrabada KRK olan kişilerde premalign adenom ve KRK olma olasılığı artmıştır (15,16). Milli Polip Çalışması (The National Polyp Study) (16) ilginç veriler ortaya koymakta, adenomlu hastaların ebeveyn ve kardeşlerinde risk 1.8 kat artmakta, eğer ilk hasta birey 60 yaşından küçükse bu oran 2.6 kat artmış olarak tespit edilmiştir.

Nüfus grubunun provokatif değerlendirmelerinde kolorektal adenom ve kanserlerde dominant kalıtsal duyarlılık ileri sürülmektedir, fakat bu kalıtsal değişkenlik çevresel faktör maruziyetine bağlı olabilir (17). Bu duyarlılık faktörleri nelerdir? Henüz ortaya çıkarılamamıştır. Buna rağmen genetik polimorfizmler (Glutasyon S transferaz , etilentetrahidrofolat redüktaz ve N asetiltransferaz özellikle NAT1 ve NAT2 gibi) herşey den önemli olabilir (18,19,20). Gerçekten genetik polimorfizm farklı ırklar ve etnik gruplar arasında çok değişken olabilir, ilave olarak kolorektal kanserlerin coğrafik varyasyonu hakkında ipucu sağlar (3,20).

2.2 Çevresel Faktörler

2.2.1 Diyet

Obesite ve total kalori alımının kohort ve olgu-kontrol çalışmalarında kolorektal karsinom için bağımsız risk faktörleri olduğu gösterilmiştir (21). Artmış vücut kitle indeksi kolorektal kanserde 2 kat artış ile sonuçlanabilir ve erkeklerde kolon (rektum değil) kanseri ile kuvvetli ilişki göstermektedir (3).

2.2.2 Et, Yağ ve Protein

Kırmızı et tüketimi artmış KRK ile ilişkilidir (22,23) ve kendi başına kırmızı et tüketimi bağımsız bir risk faktörüdür. Ancak kırmızı etten tamamen yoksun beslenmenin kolorektal kanser sıklığını azalttığına dair çalışma bulunmamaktadır. Kızartma, mangal ve işlenmiş etler KRK ile ilişkilidir, özellikle de rektal kanserle (20). Yüksek protein alımı karsinogenezisi artırmaktadır ancak bunun kesin bir kanıtı yoktur. Mekanik olarak yüksek proteinli diyet hızlanmış epitelyal proliferasyon ile ilişkilidir (24).

Kırmızı etteki yağ bileşenleri tümör başlatıcı olabilir çünkü yağlar luminal bakteriler tarafından karsinojenlere metabolize edilebilir (25), bu da anormal kolonik epitelyal proliferasyona neden olur. Yağ tipinin önemli olup olmadığı hakkında tartışmalar vardır. Bazı çalışmalar doymuş yağ asitlerinin yüksek riskli olduğunu öne sürmekte ancak henüz diğer çalışmalar herhangi spesifik diyet yağın artmış riske sahip olduğuna dair kanıt olmadığını ileri sürmektedir (3,26).

2.2.3 Lifli Beslenme

Klasik olarak Afrikada yüksek lifli beslenme düşük KRK insidansı ile ilişkilidir (27). Bu önermeyi kanıtlayan çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Buğday kepeği, meyve ve sebzenin korumayı sağladığına inanılmaktaydı (23). Yüksek fiberli diyet fekal karsinojenleri dilüe ederek, kolon transit zamanını azaltarak uygun bir luminal çevre sağladığına inanılmakta idi (25). Ancak bu standart kavramlar son zamanlarda yapılan KRK ve fiber alımı arasında ters ilişki olmadığını gösteren iyi kontrollü çalışmalarla sorgulanmaktadır (3,23).

Yaşları 34-59 arasında yaklaşık 90.000 kadın üzerinde yapılan bir çalışmada fiber ve adenomatöz polip yada KRK sıklığı arasında koruyucu etki olmadığı kaydedilmiştir (28). Bu iki büyük randomize kontrollü çalışma ile orta vadede yüksek fiberli diyetin kolonoskopide bulunan poliplerin sayısı, büyüklüğü ve histolojisi üzerinde etkisi olmadığı doğrulanmıştır (29). Bu noktada kanıtların büyük çoğunluğu liften zengin diyetin KRK gelişme riskinde rolü olmadığını göstermektedir (3).

2.2.4 Meyve ve Sebzeler

Meyve ve sebzelerin genellikle KRK 'a karşı koruyucu etkisi olduğuna inanılmaktadır (22). Kalsiyumun KRK'den koruyucu bir etkiye sahip olduğu ileri sürülmüştür. Kalsiyum bu etkisini zararlı safra asitlerine bağlanarak kolonik epitelyal proliferasyonu azaltıcı etkisi ile göstermektedir. Bu hücre kültürü modelleri ile desteklenmektedir. Ancak toplum bazlı çalışmalarda kesinlik kazanmamıştır (3,22,25).

2.2.5 Yaşam Tarzı

Fiziksel inaktivite rektal kanserden ziyade kolon kanseri için risk oluşturmaktadır (25). Sedanter bir yaşam tarzı mekanizma tam olarak anlaşılmamasına rağmen artmış kolorektal kanser riskinden sorumludur. Son veriler evre I-III kolon kanseri teşhisinden sonra kanser ilişkili mortaliteyi azaltabileceğini ileri sürmektedir ve aerobik egzersiz evre III kolon kanserinin rezeksiyon sonrası rekurrensinin azaltılması ile ilişkili bulunmuştur (30,31). Alkolle ilgili çoğu çalışmada minimal pozitif etki gösterilmiştir. Erkeklerde alkol tüketimi ile rektal kanser arasında kuvvetli bir ilişki vardır . Asetaldehit üzerinden folat metabolizması ile etkileşim sorumlu olabilir. Uzun süre sigara içimi KRK riski ile ilişkilidir (25) . 20 paket-yıldan fazla sigara içimi büyük adenom , 35 paket –yıldan fazla içimse kanser riski ile ilişkilidir. Kronik çay yada kahve kullanımının KRK riski ile tekrarlanabilen ilişkisi saptanmamıştır (3,32).

2.2.6 İlaçlar

Toplum bazlı çalışmalar aspirin ve diğer NSAİİ kullanımı ile hem KRK hemde adenom arasında ters bir ilişki olduğunu kuvvetle desteklemektedir (33). NSAİİ ilaç kullanım süresi önemlidir, sağ kolon kanserleri sol taraf kanserlerinden daha fazla faydalanabilir. İlginç olarak NSAİİ tipi önemli değildir. Sonuç olarak bu ve diğer çalışmalarda NSAİİ'ler ve selektif COX-2 inhibitörleri FAP ve sporadik kolorektal kanserde yoğun şekilde araştırılmaktadır (3).

2.2.7 Familial Kolorektal Kanserler

I. Familial Adenomatöz polipozis

FAP tüm kolorektal kanserlerin %1'ini oluşturmaktadır. Belirgin özelliği hastaların genç yaşlarından 30'lu yaşlarına kadar yüzlerce binlerce polip gelişmesidir, eğer kolon cerrahi olarak çıkarılmazsa hastaların %100'ünde kolorektal kansere ilerleme olmaktadır. Kolon dışı bulguları benign durumları (retinal pigment epitelinin konjenital hipertrofisi, mandibular osteomalar, aksesuar dişler, epidermal kistler, adrenal kortikal adenomlar, desmoid tümörler) ve malign durumları (tiroid tümörleri, gastrik küçük intestinal polipler, %5-10 duodenal ve/veya ampuller adenokarinomlar ve beyin tümörleri) içermektedir (34). Beyin tümörleri (glioblastoma multiforme veya medulloblastoma olabilir) ile kolon polipleri arasındaki ilişki **Turcot sendromu** olarak adlandırılır. Turcot sendromundaki kolonik polipler daha az ve klasik FAP'tan daha büyüktür. FAP'ın daha zayıf bir formunda yaklaşık 100 kadar kolonik polip bulunmakta ve hastalar 50-60 yaşlarına geldiği zaman kolorektal kansere eğilim yaratmaktadır (35).

FAP otozomal dominant geçişli ve hemen hemen %100 penetrans (Tablo-1) (3) gösteren bir bozukluktur. Ancak hastaların %30'da denovo mutasyon var ve görünür bir aile öyküsü bulunmamaktadır. Karyotip analizi insan kromozomu 5q üzerinde interstisyel bir delesyon göstermektedir takiben yapılan genetik bağlantı analizinde 5q21 FAP'tan sorumlu gen adenomatozis polipozis koli için sorumlu gen APC olarak tanımlanmıştır. FAP hastaları mutasyona uğramış APC gen kopyası edinirler, böylece erken başlangıçlı polipozis oluşumuna eğilim olur. Hayat boyunca FAP hastaları kalan APC gen kopyasının inaktivasyonu ile KRK 'e progresyonu hızlandırır. APC gen mutasyonu lokalizasyonu ile belli klinik belirtiler arasında (retinal pigment epitelinin konjenital hipertrofisi, desmoid tümörler ve zayıflatılmış FAP' a karşın klasik FAP gibi) ilginç genotipik-fenotipik ilişkiler vardır (3).

Tablo-1: Ailesel ve Ailesel Olmayan Kolorektal Kanseri Sebepleri

Adenomatöz Polip Sendromları

APC gen mutasyonları (1%)
Famillal adenomatous polipozis
Attenuated APC
Turcot sendromu (Ailelerin 2/3'de)
MMR gen mutasyonları (3%)
Hereditör nonpolipozis kolorektal kanser tip I ve tip III
Muir-Torre sendromu
Turcot sendromu (Ailelerin 1/3'ü)

Hamartomatöz Polip Sendromları (1%)

Peutz-Jeghers (LKB1)
Juvenil polipozis (SMAD4, PTEN)
Cowden (PTEN)
Bannayan-Ruvalcaba-Riley
Mixed polipozis

Diğer Ailesel Sebepler (Yaklaşık % 20- 25)

Adenomatöz polip aile hikayesi (MYH)
Kolon kanser aile öyküsü
Risk >3— kolon kanseri olan iki birinci derece akraba veya 50 yaşından küçük bir birinci derece akraba
Risk 2— eğer ikinci derece akraba etkilenmişse
Ailesel kolon-meme kanseri

Ailesel Olmayan Sebepler

Kişisel adenomatöz polip öyküsü
Kişisel kolorektal kanser öyküsü
İnflamatuar barsak hastalığı (ülseratif kolit, Crohn's koliti)
Radyasyon koliti
Üreterosigmoidostomi
Akromegali
Cronkhite-Canada sendromu

II. Hereditör Nonpolipozis Kolorektal Kanseri

Tüm kolorektal kanserlerin %3'ünden sorumludur. Göze çarpan özellikleri yaklaşık 100 kadar kolonik polip içermeleri özel olmasa da sağ veya proksimal kolonda yerleşmeleridir. Bu dimünitif bazen flat polipler hızla kolorektal kansere progresyon gösterirler KRK başlangıç yaşı ortalama

43'tür. Bu HNPCK tip 1 olarak tanımlanmıştır. HNPCK tip 2 mide ince barsak, safra kanalı, renal pelvis, mesane, uterus ,over, deri ve belki de pankreastan orijin almaktadır. HNPCK'da hayat boyu kolorektal kanser riski %80, endometrial kanser riski %40 ve diğer kanserler ise %10'dan azdır. Dikkat çekici bir nokta HNPCK'nın bir varyantı Muir-Torre sendromu olarak tanımlanmıştır. HNPCK klasik olarak modifiye Amsterdam kriterleri ile tanımlanmıştır (Tablo-2) (3). Kalıtsal kolorektal kanserlerde yapılan genetik testler ve izlenecek yol Tablo-3 te gösterilmiştir (3).

III. Hamartomatöz Polipozis Sendromları

Nadirdir çoğunlukla pediatrik ve adölesan yaş grubunu etkiler ve yıllık kolorektal kanserlerin %1'den azını temsil eder. Peutz-Jeghers sendromu büyük ancak az sayıda kolonik ve incebarsak poliplerini kapsar. Bunlar da gastrointestinal kanama veya obstrüksiyon ve artmış kolorektal kanser riski ile bulgu verebilir. Polipler submukozadaki bir kas bandı ile ayırt edilir. Fizik muayenede ayırt edici özellikleri ellerde , dudak etrafında , yanak mukozasında ve periorbital bölgedeki çillerdir. Sinus bronşial ve mesane polipleri ilişkili özellikleri vardır ve yaklaşık hastaların %5-10'unda seks kord tümörleri vardır. Hastalarda akciğer ve pankreas kanseride gelişebilir. Bu sendromla ilişkili gen LKB1 olarak adlandırılır ve bir serin treonin kinazdır. Juvenil polipozis Peutz-Jeghers in klinik bulguları ile örtüşebilir fakat polipler kolona sınırlı olmak eğilimindedir, buna rağmen mide ve incebarsak polip vakaları da tanımlanmıştır ve artmış kolorektal kanser riski vardır. Kolon dışı belirtileri yaygın değildir. Poligenik bir hastalıktır, PTEN, SMAD4, BMPR1 da ve henüz aydınlatılmayan diğer genlerde germline mutasyonları içermektedir (3).

IV. Cowden sendromu

Gastrointestinal sistemin herhangi bir yerinde bulunabilir şaşırtıcı şekilde KRK riski yoktur. Ancak hastaların %10 kadarında tiroid tümörleri ve yaklaşık %50'sinde meme tümörleri bulunmaktadır. Germline PTEN mutasyonları bildirilmiştir.

Kolorektal kanserlerin %20-30'unun bilinen sendromlardan bağımsız olarak bir kalıtsal yatkınlıkla uyumlu olduğu tahmin edilmektedir (36). Diğer sorumlu genlerin tanımlanması büyük klinik etki yapacaktır.

Tablo-2: Kolorektal Kanseri Tarama Kriterleri

Amsterdam I Kriterleri

- En az 3 akrabada kolorektal kanser olması
- Bir akraba birinci derece olması en az iki ardışık jenerasyon etkilenmiş olmalıdır
- En az birisinin 50 yaşından önce kolorektal kanser olması
- FAP dışlanmış olmalıdır
- Tümörler histopatolojik olarak değerlendirilmiş olmalıdır

Amsterdam II Kriterleri

-
- En az 3 akrabada HNPCC ilişkili kanser (kolorektal, endometrial, incebarsak, üreter veya renal pelvis olması)
 - En az iki ardışık jenerasyon etkilenmiş olmalıdır
 - En az birisinin 50 yaşından önce bir kanser olması
 - FAP dışlanmış olmalıdır
 - Tümörler histopatolojik olarak değerlendirilmiş olmalıdır

Bethesda Kriterleri

-
- Amsterdam kriterlerini karşılayan ailelerdeki kanserler
 - HNPCC ilişkili iki kanser (kolorektal veya kolon dışı)
 - Kolorektal kanser ve/veya birinci derece akraba ile ilişkili kolorektal kanser veya HNPCC ilişkili
 - Kolon dışı kanser ve/veya kolorektal adenom : bir kanser 45 yaşından önce ve adenom 40 yaşından önce
 - Kolorektal kanser veya endometrial kanser (45 yaşından önce)
 - 45 yaşından önce undiferansiye sağ yerleşimli kolorektal kanser
 - 45 yaşından önce taşlı yüzük hücreli kolorektal kanser
 - Adenom 40 yaşından önce
-

Tablo-3: Kalıtsal Kolorektal Kanselerde Genetik Testler	
FAP (Familyal Adenomatöz Polipozis Koli Sendromu)	APC protein truncating test (tercih edilen)
	APC mutasyonu varsa ailede mutasyon taraması
	Daha az tercih edilen alternatifler: gen sekanslama ve linkeage analizi
HNPCC (Hereditör non-polipozis koli sendromu)	Tümörde mikrosatellit instabilite testi (MSI)
	Eğer MSI varsa hem hMLH1 hemde hMSH2 gen sekanslama
	Mutasyon bulundu ise aile mutasyon taraması
Peutz –Jeghers sendromu, Juvenil polipozis, Cowden sendromu	Gen mutasyon analizi

3. Patofizyoloji ve Moleküler Genetik

Kolon kanseri moleküler genetik açısından en iyi anlaşılmış çok adımlı kompleks bir kanserdir. Karsinogeneziste ilk adım neoplastik poliplerin gelişimidir. Polip histolojisi malign potansiyeli belirlemede hayatidir (37). İki yaygın histolojik tip vardır birisi hiperplastik diğeri ise adenomatöz. Histolojik olarak hiperplastik polipler azalmış sitoplazmik mukus ve artmış sayıda glandüler hücre içerir. Fakat nükleer hiperkromatizm, tabakalaşma veya atipi yoktur (38). Adenomatöz genellikle hiperkromatik genişlemiş sigara şeklinde ve kalabalıktır. Adenomlar tubuler veya villöz olarak sınıflandırılmıştır. Tubuler adenomlar dallı tüpler şeklindedir, ancak villöz adenomlar bir yaprak içinde parmaklı şekilde yerleşmiş villuslar halindedir. Tubülovillöz adenomlar her ikiside içerir. Kolon kanserlerinin çoğu epidemiyolojik, klinik, patolojik ve moleküler genetik bulgularla gösterildiği gibi adenomlardan oluşmaktadır. Birincisi kolon kanseri içeren operasyon spesmenleri sıklıkla eş zamanlı adenomlar içerir. İkincisi kolonda adenomatöz polip sayısı arttıkça kolon

kanser riski artmaktadır (39). Üçüncüsü adenomatöz doku sıklıkla belirgin karsinom bitişiğinde bulunmuştur (40).

Dördüncüsü familial adenomatöz polipli hastalar yüzlerce veya binlerce polip içerir, kaçınılmaz olarak bunlarda kolon kanseri gelişir (41). Beşincisi baryumlu enema ile tespit edilen 1 cm'den büyük adenomlarda kolonoskopik polipektomi yapılmazsa yıllık olarak % 1-1.5 oranında kolon kanseri gelişir (42). Çoğu hiperplastik polibin kolon kanseri ile ilişkisinin çok az olması veya olmamasına rağmen, bazı hiperplastik poliplerin kolon kanseri ile ilişkisi bulunmaktadır. Hiperplastik poliplerde malignensi gelişimi için risk faktörleri hiperplastik poliplerin boyutu (>1 cm çap) sağ kolonda yerleşik olması, mikst hiperplastik- adenomatöz yapıda olması, kolonda 20'den fazla hiperplastik polip olması, ailesel hiperplastik polipozis olması ve ailede kolon kanseri hikayesi olması (43). Daha önceden bir hiperplastik polip olarak sınıflandırılan serrated adenomun son zamanlarda yeniden sınıflandırması ile hiperplastik poliplerin kolon kanseri ile bağlantılı olduğu görülmektedir (44). Bir serrated adenom bir hiperplastik polip dahilinde ortaya çıkar fakat kript epitelinin anormal proliferasyonu ve nükleer atipisi ile sıradan hiperplastik polipten ayrılır (45). Bir çalışmada orijinal olarak hiperplastik olarak raporlanan çıkarılmış olan poliplerin %18'i yeniden sınıflama kullanıldığında serrated adenom olarak tanımlanmıştır (46). Serrated adenom konvansiyonel adenomlardan farklı şekilde kolon kanserine dönüşmektedir. Serrated adenomlarda diğer adenomlardan farklı olarak sıklıkla BRAF genetik mutasyonuna sahiptir ve yaygın DNA metilasyonu gösterir fakat adenomatöz polipozis koli (APC) gen mutasyonu yoktur (47). Serrated adenom yüksek mikrosatellit instabilitesi (MSI-H) kolorektal karsinomun bir prekürsör lezyonudur, buda sporadik kolon kanserlerinin yaklaşık %15'ini oluşturur (48). MSI-H kolon kanserleri serrated adenomlar gibi BRAF gen mutasyonu ve yaygın DNA metilasyonu gösterirler fakat genellikle APC gen mutasyonu ve K-ras onkogeni yoktur. Promoter bölgede DNA metilasyonu DNA mutasyonu olmaksızın gen ekspresyonunu sessizleştirebilir ve sonlandırabilir (49). Örneğin DNA metilasyonu DNA uyumsuz onarım genlerini inaktive edebilir, hMLH1 gibi, ve sonra

Mikrosatellit instabiliteye (MSI) yol açar (50,51). Ancak serrated adenomdan sorumlu spesifik genetik defektler bilinmemektedir (37).

3.1 Histoloji

Kolon kanserleri normal bez yapısının korunma derecesine ve sitolojik özelliklerine göre iyi, iyi-orta ve az diferansiye diye sınıflandırılır. Az diferansiyasyon muhtemelen altta yatan şiddetli genetik mutasyonların bir histolojik belirteçidir az diferansiyasyon ile ilgili altta yatan genetik mutasyonlar bilinmemektedir. Kolon kanserlerinin yaklaşık %20'si az diferansiyedir. Kötü prognozları vardır (52). Kolon kanserlerinin%15'i belirgin intrasellüler musin birikiminden dolayı musinöz veya kolloid olarak sınıflandırılır. Musinöz kolon kanserinin taşlı yüzük varyantında kanseröz hücreler oldukça fazla musin içerir öyleki nukleus periferde yer değiştirir. Bu kanser tipi çok agresiftir ve kötü bir prognoza sahiptir (53).

HNPCC ile ilişkili kolon kanseri olağandışı histopatolojik özelliklere sahiptir, musinöz diferansiyasyon, belirgin lenfositik reaksiyon ve medüller büyüme paterni gibi (54). Kolon kanserinin medüller formu önceden glandüler elementlerin olmadığı küçük lenfositlerle yoğun şekilde infiltre poligonal hücreler ve eozinofilik tabakalarla karakterize andiferansiye karsinom olarak sınıflandırılırdı. Kanser bu formu yüksek MSI ile ilişkilidir (55).

Kolonun diğer kanserleri nadirdir. Kaposi sarkomu kazanılmış immün yetmezlik sendromu dissemine hastalığının bir parçası olarak kolonu tutabilir (56).

Kolon lenfoması nadirdir. Non-Hodgkin lenfoma görülür. Kazanılmış immün yetmezlik sendromu ile ilişkili olabilir (56). Karsinoid tümör genellikle rektum veya apendikste olur, kolonun kalan kısmında nadiren görülür (37).

3.2 Gros Patoloji

Kolon kanseri saplı polip, sesil polip, kitle veya striktür şeklinde ortaya çıkabilir. Dimünitif poliplerin sadece yaklaşık %1 kadarı kanser içerir (57). Sesil polipten kayanaklanan kanserde saplı polibe göre metastaz daha erken olur çünkü lenfatik drenaja daha yakındır (58). Yine flat lezyon saplı polipten biyolojik olarak daha agresif olabilir çünkü hücresel büyüme kolonik lümeninden ziyade kolonik duvara doğrudur. Sağ kolon kanser sıklığı nispeten

geçmiş yıllara göre tedricen arttı ve şimdi kolon kanserlerinin yaklaşık yarısı sağ kolondadır (59). Bunda fleksibl sigmoidoskopi ile premalign sol kolon poliplerinin polipektomi ile çıkarılması etkili olmuş olabilir (60).

4. Kolon anatomisi

Kalın barsak 150 cm uzunluğundadır, vasküler beslenmesine ve ekstrapitoneal veya retroperitoneal yerleşimine göre 5 kısma ayrılmaktadır. Bu segmentler çekum ve çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumdur.

5.Tanı

Kolorektal kanserle ilişkili alarm semptomları alt GİS kanama, barsak alışkanlığında değişiklikler, karın ağrısı, kilo kaybı, iştah değişiklikleri ve özellikle obstrüktif semptomlardır (61) . Obstrüktif semptomlar dışında diğer semptomlar hastalığın evresi ile korele veya belli bir tanı habercisi olması gerekmemektedir. Yakın bir takip önemlidir.

Fizik muayenede palpabl bir kitle, genellikle sol kolon veya rektum yerleşimli kanserlerde parlak kan, sağ kolon yerleşimli kanserlerde ise melena veya daha az miktarda kanama görülebilir. Adenopati, hepatomegali, sarılık veya hatta pulmoner hastalık bulguları metastatik hastalıkla birlikte olabilir. Obstrüksiyon genellikle sigmoid veya sol kolon yerleşimli kolon kanserlerinde görülür, abdominal distansiyon ve konstipasyonla sonuçlanır, sağ kolon kanserleri daha sinsi olma tabiatındadır. KRK komplikasyonları akut GİS kanama, akut obstrüksiyon, perforasyon ve uzak organ fonksiyonlarında bozulma ile giden metastazlardır (71).

Laboratuar değerleri demir eksikliği anemisi, elektrolit bozuklukları ve karaciğer fonksiyon anormallikleri yansıtır olabilir. CEA seviyesi yükselmiş olabilir, eğer cerrahi sonrası sonuçlar normale kadar düşmüşse postoperatif takipte en yardımcı tetkik olur (62). Değerlendirme için iyi bir anamnez, aile hikayesi, fizik muayene ve laboratuar testleri, kolonoskopi, tüm vücut

bilgisayarlı tomografisi yapılmalıdır (63). BT eğer primer hastalık tanısı konmuşsa yapılmalıdır. Tanı ve evreleme tamamlanması üzerine (rektal kanser evrelemede endoskopik ultrason olaya entegre edilmelidir) medikal, radyasyon ve cerrahi onkologların tedavi planı hazırlamak ve uygulamak için bir araya gelmesi gereklidir

Moleküler biyolojik tekniklerin gelişmesiyle dikkat gayta bazlı araçlara ve yeni kan bazlı testlere yönelmiştir. Gaytadan protein veya genomik DNA elde ederek genetik değişiklikleri kanıtlamak için şimdiki teknoloji uygundur (64,65) .

Dışkı bazlı tanı tarama modaliteleri kolorektal kanserleri düşük, orta ve yüksek diye tabakalandırmak suretiyle de katkı sağlayacaktır. Kan dayalı testler kesinlikle hastalığın teşhisi yanı sıra adjuvan tedavi ile cerrahi ve cerrahi sonrası rekürrensi takip etmek için cazip olacaktır.

Ortalama riskli hasta herhangi bir gizli veya akut gastrointestinal kanaması olmayan kişisel veya ailesel adenomatöz polip ve kolorektal kanser öyküsü olmayan 50 yaş üstü erke veya kadın olarak tanımlanmıştır. Geçmişte rektal tuşe , gaytada gizli kan testi, sigmoidoskopi, baryumlu enema ve kolonoskopi gibi birçok tarama metodu uygulanmıştır.

Optik kolonoskopi günümüzde en duyarlı tarama metodudur. Direkt görüntüleme , anatomik yeri ve boyutu hız kısıtlayıcı faktörler olmasına rağmen poliplerin çıkartılması ve biyopsi alınması avantajlı taraflarıdır. Dezavantajları ise hazırlık aşaması, işlemin invaziv tabiatı ve %1'den az olmasına rağmen perforasyon gibi potansiyel yan etkileridir (71) .

5.1 Evreleme

Rekürrens ve yaşam süresi üzerine birçok faktör tanımlanmış olmasına rağmen hiçbirisi prognostik önem açısından evrelemenin yerini tutmamıştır (66). Kolorektal kanser sınıflamasında günümüzde Joint Committee on Cancer (AJCC)/Union Internationale Contre le Cancer (UICC) evreleme sisteminin tümör-nod-metastaz (TNM) sınıflaması kullanılmaktadır (67). Diğer sistemler sadece tarihi öneme sahip olarak kabul edilmelidir ve bu anlamda eski sınıflamalar geçmişte yapılan çalışmaları anlamak amacıyla kavranmalıdır.

5.1.1 Dukes Sınıflaması ve Modifikasyonları

1930'larda İskoç patolog Cuthbert Dukes rektal kanser için bir sınıflama şeması üzerinde çalışmaktaydı ve geliştirdiği sınıflama onun adını taşımaktadır. Yaygın bir şekilde kolon ve rektum kanserine uygulanmış olan bu sistem cerrahi spesmenlerin patolojik muayenesi ile elde edilen bilgilere odaklanmaktadır. Tümörler A, B veya C olarak sınıflandırılmıştır. Evre A barsak duvarında mukozaya sınırlı, Evre B barsak duvarına penetrasyonu göstermekte ve Evre C ise lokal bölgesel lenf nodlarına yayılımı göstermektedir. Dukes daha sonra Evre C'yi C1 (lokal lenf nodu tutulumu var) ve C2 (rektal duvarı aşmış lenf nodu tutulumu var) diye ikiye ayırdı, daha sonrada buna uzak metastaz için dördüncü evre eklendi (Evre D olarak bilinen) (71).

Çeşitli araştırmacılar Dukes sınıflamasında modifikasyon yaptılar (Kirklin, Astler ve Coller, Gunderson ve Sosin) (71). Dukes sınıflamasında sorun uygun nodal örnekleme tespiti yapılamaması ve lenf nodu tutulum yaygınlığının değerlendirilmemesi idi. National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Program (NSABP) tarafından 844 lenf nodu pozitif hastanın analizinde (68) tümörün penetrasyon derinliği ve pozitif lenf nodu sayısı iki önemli prognostik faktör olarak bulundu. Bir ila dört lenf nodu pozitif olanların daha büyük sayıdaki lenf nodu tutulumu olanlara göre belirgin şekilde daha iyi prognoza sahip olduğu gösterildi. Pozitif lenf nodu sayısı en önemli prognostik faktör olarak görülmektedir.

Orijinal ve modifiye Dukes sınıflamalarında diğer bir zayıflıkta tümör derecesi ve diğer patolojik özelliklerin değerlendirilmemesi idi (71).

5.1.2 TNM Sınıflaması

Kolorektal kanser için geçerli ortak AJCC ve UICC evreleme sistemi artık kullanılması gereken tek sınıflandırma sistemidir (69). TNM sistemi primer invazivlik (T evresi), metastatik kanser içeren lokal rejyonel lenf bezi sayısı (N) ve uzak metastatik hastalık varlığı ve yokluğu (M evresi) (67) esasına dayanan kolorektal kanser sınıflamasıdır.

Tablo-4: TNM Sınıflaması (70)

Primer Tümör (T)

TX

- Primer tümör değerlendirilemedi

T0

- Primer tümör kanıtı yok

Tis

- Karsinoma in situ:intraepitelyal veya lamina propriya invazyonu

T1

- Tümör submukozaya invaze

T2

- Tümör muskularis propriaya invaze

T3

- Tümör perikolorektal dokular içine muskularis propria aracılığıyla invaze

T4a

- Tümör visseral peritoneum yüzeyine penetre

T4b

- Tümör diğer organlara direkt olarak invaze yada yapışık

Regional lenf nodu

NX

- Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor

N0

- Bölgesel lenf nodu metastazı yok

N1

- 1-3 Bölgesel lenf nodu metastazı

N1a

- 1 bölgesel lenf nodu metastazı

N1b

- 2-3 bölgesel lenf nodu metastazı

N1c

- Bölgesel lenf nodu metastazı olmaksızın subserozada mezenterde veya nonperitonealize perikolik veya perirektal dokuda tümör depositleri.

N2

- 4 veya daha fazla bölgesel lenf nodu metastazı

N2a

- 4-6 bölgesel lenf nodu metastazı

N2b

- 7 veya daha fazla bölgesel lenf nodu metastazı

Uzak metastaz (M)

M0

- Uzak metastaz yok

M1

- Uzak metastaz

M1a

- Bir organ veya yere metastaz (Karaciğer , akciğer , over, bölgesel olmayan lenf nodu)

M1b

- Birden fazla organ veya yerde veya peritonda metastaz

Tablo-5: Anatomik Evreleme / Prognostik Gruplar (70)

Evre	T	N	M	DUKES	MAC
0	Tis	N0	M0	-	-
I	T1	N0	M0	A	A
	T2	N0	M0	A	B1
IIA	T3	N0	M0	B	B1
IIB	T4A	N0	M0	B	B2
IIIA	T1-2	N1/N1c	M0	C	C1
	T1	N2a	M0	C	C1
	T3-T4a	N1/N1c	M0	C	C2
IIIB	T2-T3	N2a	M0	C	C1/C2
	T1-T2	N2b	M0	C	C1
	T4a	N2a	M0	C	C2
	T3-T4a	N2b	M0	C	C2
IIIC	T4b	N1-N2	M0	C	C3
	Any T	Any N	M1a	-	-
IVB	Any T	Any N	M1b	-	-

6. Prognostik Belirleyiciler

Kolorektal karsinomun rezeksiyon sonrası sonuçlarının en önemli göstergesi başlangıçtaki patolojik evresidir (Tablo-5) (70,72).

Beş yıllık sağkalım oranları kolon kanserleri için daha yüksek olma olma eğilimindedir (73).

TNM evresi klinik ve patolojik metodlar tarafından belirlenen sadece tümörün anatomik boyutu ile ilgili unsurları içerir. Artan sayıda bağımsız prognostik faktör tespit edilmektedir, bunlardan bazıları sonuç tahminlerini ve

tedavi kararlarını etkileyebilir. Hasta tedavisinde kullanılabilen ve iyi literatürle desteklenen faktörler arasında rezidüel hastalık, histolojik tip ve grade, CEA seviyesi, ektramural venöz invazyon, malign poliplerde submukozal vasküler invazyon sayılabilir (74). 1999'da CAP biyolojik, moleküler ve diğer doku bazlı faktörlerin rolünü değerlendirmek için bir prognostik faktörler konsensus toplantısı düzenledi (75). Varsayılan prognostik faktörler yayınlanmış olan onların prognostik değerlerini gösteren kanıtların gücüne göre kategorilere ayrıldı. Prognostik faktör kategorileri aşağıdaki gibi tanımlandı:

- Kategori I: çok sayıda istatistiksel olarak güçlü yayınlanmış çalışmalara ve genellikle tedavi yönetiminde kullanılan kanıtlara dayalı kesinlikle prognostik önemi olduğu kanıtlanmış
- Kategori IIA: yaygın şekilde biyolojik ve/ veya klinik olarak çalışılmış ve sonuç ve tedaviye yanıt açısından prediktif değeri olan ve prognostik değeri gösterilmiş.
- Kategori IIB: çeşitli çalışmalarda umut verici olduğu gösterilmiş, kategori I ve IIA'ya dahil etmek için yetersiz veriler.
- Kategori III: prognostik değerlerini göstermek için henüz yeterli çalışma yok.
- Kategori IV: iyi çalışılmış ve prognostik önemi olmadığı gösterilmiş.

6.1 Kategori I Faktörler

6.1.1 Lokal Tümör Boyutu

Hastalığın lokal boyutu (tümör penetrasyon derinliği vs.) bağımsız olarak yaşam süresini etkilemektedir (76). Ancak T evresinin belirlenmesi ve raporlanması değişkenlik gösterir, özellikle de serozal tutulumun varlığı veya yokluğu. Tümör tarafından serozal tutulum olması kötü bir patolojik faktördür (72). Ancak serozal tutulum tanımlanması konusunda belirgin karışıklık vardır. Serozal penetrasyonun histolojik tanımlanması zordur ve konservatif yorumlama hastalığın düşük evrelenmesine yol açabilir. Örnek olarak

serozal kazıntılarının sitolojik incelemesinde histolojik olarak pT3 olarak tanımlanan spesmenlerin yakalılık %26'sında malign hücreler görülmektedir (77) . Peritoneal tümör tutulumu ile ilişkili histopatolojik bulgular heterojendir ve onların tanısal yorumunda standart rehberler yetersizdir. Lokal peritoneal tutulum aşağıdakilerden biri tarafından yansıtılabilir:

- Tümöre yakın serozal yüzeyle mezotelyal inflamatuvar ve/veya hiperplastik reaksiyon.
- Bir inflamatuvar reaksiyonla, mezotelyal hiperplazi ve/veya erozyon veya ülserasyonla ilişkili serozal yüzeyde tümör varlığı.
- Altta yatan ülsera visseral periton içinde serozal yüzeyde serbest tümör hücreleri.

Lokal peritoneal tutulumun üç tipide serozal tutulumu tanımlamak için kullanılabilir (örneğin T4A tümör) ve ve hepside prognoza kötü etki eder (75,77). Serozal yüzey üzerinde serbest hücre varlığı intraperitoneal rekurrensi ve /veya kalıcılığı diğer iki formdan daha iyi gösterir (77). Peritoneal tutulumu belli olmayan vakalarda daha düşük evre (örneğin T3) verilmelidir.

6.1.2 Bölgesel Lenf Nodları

Bölgesel lenf nodu tutulumu kolrektal kanserin cerrahi rezeksiyonu sonrası ortaya çıkan en kuvvetli prediktörlerinden biridir, ikincisi uzak metastazdır . nodal yayılım hem kolon hemde rektal kanserde adjuvan tedavi için bir endikasyondur.

Hem kolon hemde rektal kanser için bölgesel lenf nodu tutulumu insidansı hem primer tümör transmural invazyon derinliği ile hemde histolojik grade ile ilişkilidir. Tutulan lenf nodu sayısı sonucun en kuvvetli bir prediktörüdür (74,78). Böylece 2010 TNM sınıflaması tutulan lenf nodu sayısına göre nodal tutulumu tabakalandırır (Tablo 4).

Tutulan lenf nodu sayısına ilave olarak cerrahi spesmendeki total lenf nodu sayısı direkt olarak hem evre II (nod negatif) hemde evre III (nod pozitif) hastalığın prognozunu etkiler. 17 çalışmalık bir meta analizde her hastanın incelenen lenf nodu sayısı (tümör tutulumu olsun olmasın) evre II ve

III hastalığı olan hastalarda 5 yıllık hastaliksız sağ kalım ve tam sağ kalım ile belirgin şekilde korele bulunmuş (79). Lenf nodu oranı kullanımı (metastatik lenf nodu /incelenen lenf nodu sayısı) prognostik tabakalamada anlamlı olduğu ileri sürülmüştür (80,81,82).

Evre III kolon veya rektal kanser olan 33.984 hastayı içeren 16 çalışmalık bir sistematik derlemede LNR tam sağ kalım hastaliksız ve kanser spesifik sağ kalımda bağımsız bir prediktör olduğu sonucuna varıldı ve LNR prognostik tabakalamada pozitif lenf nodu sayısına (N evresi) göre daha üstün olduğu sonucuna varıldı (81). Ancak optimal cutoff değeri konusunda fikir birliği bulunmamaktadır. Bu konuya vurgu yapan prospektif bir çalışma yoktur ve mevcut retrospektif analizlerde kullanılan değerler çok değişkendir.

En aşikar açıklama ne kadar fazla lenf nodu çıkarılırsa evreleme doğruluğu o kadar artmaktadır. Ancak total lenf nodu sayısı ve sağkalım arasındaki kuvvetli ilişki evreleme ile tam olarak açıklanamamaktadır. Çok sayıda lenf nodu cerrahinin kalitesini ve daha fazla tam mezenterik sap rezeksiyonu yapıldığını yansıtabilir. Alternatif olarak tutulan lenf nodu açısından kolon kanserli hastalardaki bireysel farklılıklar alttaki biyolojik farklılığı yansıtabilir (83,84).

Çelişkili bulgulara rağmen rehberler nodal durumu tam olarak belirlemek için en az 12 nodun histolojik olarak incelenmesini önermektedir, ancak bu sayı eski büyük gözlemsel verilere dayanmaktadır, T evresi ve tümör derecesine göre hesaplanmış değildir (85,86).

6.1.3 Mezenterik nodüller

2010 TNM sınıflamasında komşu mezenter içindeki perikolik ve perirektal yağ içerisinde herhangi bir boyutta farklı yuvarlak tümör nodüllerini belirlemek için satellit tümör depositleri terimi kullanılmaktadır (74). Bunlar nodal metastazın eşdeğeri olarak düşünülmektedir ve başka nodal metastaz yokluğunda N1c hastalık olarak evrenmektedir. pN durumunu belirleyen tutulmuş lenf nodunun her biri ayrı ayrı sayılmalıdır.

Tümör depositlerinin varlığı güçlü bir kötü prognostik faktördür (87). İzole tümör hücreleri tek tümör hücreleridir veya en büyüğü 0.2 mm veya daha az büyüklükte küçük tümör hücre kümeleridir. Histolojik kesitlerde

veya immünohistokimyasal metodlar kullanılarak veya RT-PCR gibi moleküler metodlar ile tespit edilirler (88). Bu mikrometastazların biyolojik önemi açık değildir, bütün çalışmalarda olmasa da bazı çalışmalarda prognozu değiştirdiği gösterilmiştir (88). Klinik değerlendirme için iyi tasarlanmış çalışmalara ihtiyaç vardır.

Tüm bu sebeplerden dolayı 2010 TNM sınıflamasında standart histolojik tetkiklerle veya immünohistokimyasal olarak tespit edilen tümör pN0 (i+) olarak s ve özel moleküler tetkiklerle (RT-PCR) gibi tespit edilen bir tümörde pN0 (mol+) olarak kodlanmıştır (74).

6.1.4 Vasküler invazyon

Venlere veya küçük kas tabakası olmayan damarlara tümör invazyonu ya post kapiller lenfatikleri veya venülleri temsil eder önemli bir prognostik belirteçtir. Sadece polipektomi ile rezeke edilmiş T1 KRK'da lenfovasküler invazyon varlığı hem lokal hemde uzak metastaz artmış riskini gösterir ve daha yaygın bir cerrahi rezeksiyon gerektirir. T2-4 tümörü olan hastalarda venöz invazyon özellikle ektramural venlerde bütün çalışmalarda olmasada çoğunda bağımsız risk faktörü olarak tanımlanmıştır (89,90). Benzer veriler lenfatik invazyon içinde raporlanmıştır (90,91).

6.1.5. Rezidüel Tümör

Kesin tedavi sonrası rezidüel tümör kötü bir prognostik faktördür (92). R tanımı tedavi tamamlandıktan sonra ve sadece M0 hastalık durumunda lokal rezidüel hastalığı göstermek için yapılmıştır. TNM sınıflamasında rezidüel hastalık (R0, R1, R2) aşağıdaki şekilde tanımlanmıştır (74):

- R0- Tüm kenarlarıyla histolojik tutulumu olmayan tam tümör rezeksiyonunu gösterir.
- R1- Mikroskopik cerrahi rezeksiyon kenar tutulumu inkomplet tümör rezeksiyonunu gösterir.
- R2- Tam rezeke edilemeyen büyük rezidüel tümör olan inkomplet tümör rezeksiyonunu işaret eder.

6.1.6 Serum CEA

CEA seviyesi preoperatif rutin olarak ölçülmelidir. Bunun iki sebebi vardır:

- Preoperatif CEA seviyeleri yüksek olan değerler cerrahi rezeksiyonu takiben normalleşmez ise persistan hastalığı işaret eder ve ileri değerlendirme gerektirir.
- Preoperatif CEA değerlerinin prognostik önemi vardır. CEA seviyesi ≥ 5.0 ng / ml ise tümör evresinden bağımsız olarak sağ kalım üzerine kötü etkisi vardır (93).

Preoperatif CEA seviyesi >5 ng/mL olması klinik karar verme üzerine etkisi açık değildir özellikle lenf nodu pozitif kolon kanserinde eğer preoperatif CEA değeri yüksek ise farklı bir tedavi gerekli değildir.

Ancak nod-negatif kanserli hastalarda yüksek preoperatif CEA olanlarda sadece cerrahi olanlara göre rekürrens daha fazladır, bu adjuvan kemoterapi verilmesi kararını etkileyebilir özellikle diğer risk faktörleride varsa (obstrüksiyon, perforasyon). Ancak bu durumda adjuvan kemoterapi verilmesinin direkt faydasını destekleyen veri yoktur (94) (98). 2010 TNM evreleme sistemin kriterlerinde serum CEA içermemektedir fakat prognostik değer için bilgi toplanmalıdır önerinde bulunmaktadır (Tablo 1) (74).

6.2. Kategori II A

6.2.1 Tümör Derecesi

Histolojik derece tümör diferansiyasyon derecesini gösterir ve evreden bağımsız bir faktör olarak gösterilmektedir (95).. Ancak histolojik derece subjektiftir, inceleyen kişiye göre farklılık göstermekte, tek başına uniform bir sistem olarak kabul edilmemektedir (72). Çalışmaların çoğu grade'in prognostik önemini istatistiksel analiz için iki tabakalı değişkene düşürmüştür; düşük grade (iyi ve orta diferansiye) ve yüksek grade (kötü veya andiferansiye). CAP ve AJCC/UICC KRK için hem iki tabakalı dercelendirme sistemini hemde gland formasyonunu grade değerlendirmek için (<50 gland formasyonunu yüksek grade olarak değerlendirmekte) salık vermektedir (74). İyi belirlenmiş kesme noktası ile iki tabakalı sistemin

gözlemci varyasyonunu azaltacağı ve grade'in prognostik gücünü iyileştireceği umut edilmektedir (72).

6.2.2 Dairesel (Radial) Kenar

Dairesel rezeksiyon kenarı cerrahi olarak diseke edilmiş nonperitonealize spesmen yüzüne tekabül eder. Rektal kanser için cerrahi tekniğin kalitesi ve Dairesel kenarın durumu sağ kalım yanı sıra hem lokal hemde uzak rekurrensin en önemli prediktif faktörlerinden biridir. Cerrahi numune analizinde dairese kenar ölçülmeli ve milimetre olarak kaydedilmelidir. Tartışmalı olmakla beraber dairese kenar ≤ 1 mm ise pozitif kabul edilmelidir (96).

CRM durumu ve sonuç arasındaki ilişkiyi tanımlayan çalışmalar kolon kanserleri için yetersiz olsa da, rektal kanser de olduğu gibi, herhangi bir non-peritonealize segmentte lokal tümör nüksü için daha büyük risk beklemek mantıklıdır. Preoperatif radyoterapi almayan hastalarda, CRM pozitifliği özellikle rektal kanser için, lokal tümör yaygınlığı ne olursa olsun, ameliyat sonrası radyoterapi endikasyonu gereksinimi olduğunu gösterir (72).

6.2.3 Neoadjuvan Tedavi Sonrası Tümör Regresyonu

TNM evreleme sistemi başlangıçta daha önceden tedavi edilmemiş tümörler için geliştirilmiştir. Preoperatif veya neoadjuvan tedavi rektal tümörler için kullanımı artmaktadır. Neoadjuvan adjuvan tedaviye göre daha kısa süreli tedavi toksisitesi ile ilişkili ve bazı vakalarda sfinkter fonksiyonunu korumaktadır.

Patolojik TNM evrelemesi neoadjuvan tedaviyi takiben cerrahi rezeksiyon yapılan hastalarda ayrı bir sınıflama yapmıştır (ypTNM sınıflaması). İlaveten preoperatif tedaviye bağlı tümör regresyon derecesi önemli bir prognostik faktördür (97) ve patoloji raporunda belirtilmelidir. CAP/AJCC kılavuzunda tümör regresyon derecesi değerlendirilmektedir.

6.3 Kategori IIB Faktörler

6.3.1 Histolojik Tip

Genel bir kural olarak, histolojik tipin birkaç yüksek dereceli alt tipi (örneğin, taşlı yüzük, kötü diferansiye veya undiferansiye tümörler) dışında kolorektal adenokarsinom için bağımsız bir prognostik faktör olduğu kanıtlanmış değildir (98). Sınırlı sayıda çalışma mikrosatellit instabilite (MSI) varlığı ve yokluğuna göre histolojik alt tiplerin etkinliğini değerlendirdi.

Tümör infiltre eden lenfosit varlığı birçok çalışmada kayda değer bir prognostik faktör olarak değerlendirildi. Lenfoid infiltrasyon MSI ile ilişkisinden dolayı prognostik bir faktör olarak görülmektedir. Tümör çok sayıda lenfoid hücre içerir. Medüller karsinoma KRK'un bir histolojik tipidir ve hemen daima mikrosatellit unstable ve HNPCC ile ilişkilidir. İntratümöral lenfositik infiltratlarla karakterizedir. Ancak bir bildiride MSI-H ve intratümöral lenfositik infiltrasyonun her biri bağımsız bir prognostik faktör olarak belirtildi (99).

Lenfositik infiltrasyon klinik kullanımda rutin standart prognostik indikatör olarak görülmeden önce daha büyük çalışmalarla intratümöral ve peritümöral lenfositik infiltrasyon arasındaki farklılık analiz edilmelidir (72).

6.3.2 18q Delesyon

18.kromozom uzun kolunda bir bölgede allelik kayıp görülür. Bu bölge intestinal tümörigenezisi etkileyen 3 alan içerir (DCC, SMAD4 ve SMAD2), bunlardan en iyi çalışılanı DCC (Deleted in colon cancer) genidir. 18q heterozigosite kaybı ve veya onun tarafından eksprese edilen protein yokluğu hem nod pozitif hemde nod negatif KRK de kötü prognozla ilişkilidir (100).

DCC kaybı mevcut moleküler prognostik belirteçlerin en umut verici olanıdır.Nod negatif ve DCC kaybı olan hastalar özellikle kötü prognozu

temsil eder, bu grupta özellikle ilave teadvi stratejileri hedeflenmelidir. Randomize kontrollu çalışmalar bu prensibi doğrulamak için devam etmektedir.

6.3.3 Tümör sınırı

Kolorektal kanser için tümör sınırındaki tümör konfigürasyonu evreden bağımsız ve karaciğer metastazını öngörebilir prognostik öneme sahip olduğu gösterilmiştir. Özellikle irregüler infiltratif büyüme paterni düz genişleyici kenarın aksine bağımsız bir faktör olarak gösterilmiştir (101).

Çeşitli çalışmalarda, tek başına perinöral invazyon çok değişkenli analizlerde kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (69). Yinede hala kategori IIB faktör olarak kabul edilir.

Tümör tomurcuklanması tümör kenarında bulunan diğer bir spesifik özelliktir invaziv tümörün hemen önünde farklılaşmamış kanser hücrelerinin mikroskopik kümelenmesi olarak tanımlanır ve fokal dediferansiyasyon olarak adlandırılmaktadır (102). T1 Abdominoperineal rezeksiyon spesmenlerinde ve yüzeysel T2 rektal kanserlerde prediktif değeri vardır ve tek başına lokal eksizyon (transanal disk eksizyonu) sonrası rekürrens riskinin kullanışlı bir endikatörü olduğu ileri sürülmektedir (102).

6.4 Kategori III Faktörler

6.4.1 DNA İçeriği

DNA içerik anormallikleri (anöploidi) çoğu çalışmada bağımsız şekilde kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (103). Tümöral DNA içeriği flow sitometri veya analitik görüntüleme teknikleri ile elde edilebilir. Akım sitometri rutin kullanım için pratik değildir ve prosedür standardizasyonu yetersizliğinden (özellikle taze olmayan dokular için) dolayı sınırlıdır.

6.4.2. Diğer Moleküler Belirteçler

KRK'da çalışılmış ve prognozda potansiyel olarak klinik kullanımda uygulanabilir ve umut vaat eden belirteçler aşağıdadır (72);

- Tumor suppressor genes (LOH 1p, LOH 8p; LOH 5q; LOH 17p)
- Onkogenler (K-ras; c-myc)
- Apoptosis ilişkili genler (bcl-2;BAX;Apoptosis protease activating factor-1)
- DNA sentez ilişkili genler (thymidylate synthetase; thymidine phosphorylase)
- Growth faktör ve growth faktör reseptör genleri (TGFA; TGFb; HER2 [c-erbB-2]; EGF-R)
- Siklin ve siklin bağımlı kinaz inhibitör genleri (p27; p21)
- Anjiogenezis ilişkili genler (vascular endothelial growth factor [VEGF])
- Adhezyon molekül ve glikoprotein genleri (CD44; E-cadherin [CDH1]; sialo-Tn antigen)
- Matrix metalloproteinases ve onların inhibitörleri (MMPs; urokinase-type plasminogen activator)
- Metastaz suppressor genler (nm23-H1)
- microRNA Over-ekspresyonu
- Epigenetik aberrasyon
- Peroxisome proliferator-activated reseptor-gamma (PPARG)

6.4.3 Mikrodamar Yoğunluğu

Intratümöral mikrodamar yoğunluğu (MVD) tümörün indüklediği anjiogenezisi yansıtır. MVD bazı çalışmalarda daha kısa sağ kalımla bağımsız olarak ilişkili bulunmuştur. MVD ölçümünde CD31 veya CD34'e karşı antikolar kullanıldığında immünohistokimyasal ekspresyon ve sağ kalım arasında ters bir ilişki bulunmuştur. Prognostik faktör olarak MVD değerlendirmesi açısından çok değişkenli analizlere gerek vardır (102) .

6.4.4 Hücre Yüzey Molekülleri

Şimdiye kadar geniş bir çeşitlilikte hücresel proteinler ve karbonhidratlar çalışılmıştır. Ancak klinik çalışmalar kategori I, IIA veya IIB kriterlerini içeren faktörleri karşılamamaktadır . Aşağıda bunlardan bazıları bulunmaktadır;

- Klas I veya II HLA molekülleri
- CA 19-9 ve CA 72-4
- Sialyl Lex veya sialosyl-Tn
- Urokinase-type plasminogen aktivatör (uPA) ve plasminojen aktivatör inhibitör 2 (PAI-2)
- Glikoprotein 72
- P-glikoprotein (MDR gen ürünü)
- MUC-1 musin
- E-cadherin, integrins, type IV kollajen, gelatinase B (MMP-9), laminin, ve tenascin

6.4.5 Peritümöral Fibrozis ve İnflamatuar Yanıt

İnvaziv KRK'da desmoplastik stromal yanıt yaygındır. Bazı çalışmalarda tüm çalışmalarda olmamakla beraber bağımsız kötü faktör olarak gösterilmiştir (77). Birçok çalışmada özellikle tümör ilişkili granülositik veya miks sellüler inflamasyonun prognostik öneminin olduğu vurgulanmaktadır (101).

6.4.6 Fokal Nöroendokrin Diferansiyasyon

Yaygın nöroendokrin diferansiyasyon KRK'da kötü bir prognostik faktör olmasına rağmen yaygın veya fokal nöroendokrin diferansiyasyonun önemi açık değildir (104)). Değerlendirme rutin HE kesitlerde yapılmalıdır, veriler yetersiz olursa özel boyalar kullanılması önerilmektedir (kromogranin, nöron spesifik enolaz veya sinaptofizin).

6.4.7 Proliferatif Aktivite

Her bir tümör içindeki proliferatif oran , argyrophilic nukleolar organizing regions (AgNORs), mitotik indeks, akım sitometri ile S fazı analizi ve İmmün

histokimyasal proliferasyon markerları (Ki67 nükleer antijen ve proliferasyon olabilen hücre nükleer antijeni (PCNA) ile değerlendirilir.

7. İnsan DNA'sının Özellikleri ve İşlevleri

İnsanda kalıtsal bilginin taşıyıcısı deoksiribonükleik asit (DNA) molekülüdür. DNA her insan hücresinde çekirdek içinde bulunan 23 çift kromozom üzerinde çeşitli biçimlerde bulunmaktadır. Polimerik bir molekül olan DNA'nın temel birimi nükleotiddir. DNA'da bilginin şifrelenmesi 4 nükleotid ile yapılmaktadır. Yaklaşık iki metre uzunluğundaki DNA hücre bölünmesiyle yavru hücrelere aktarılır.

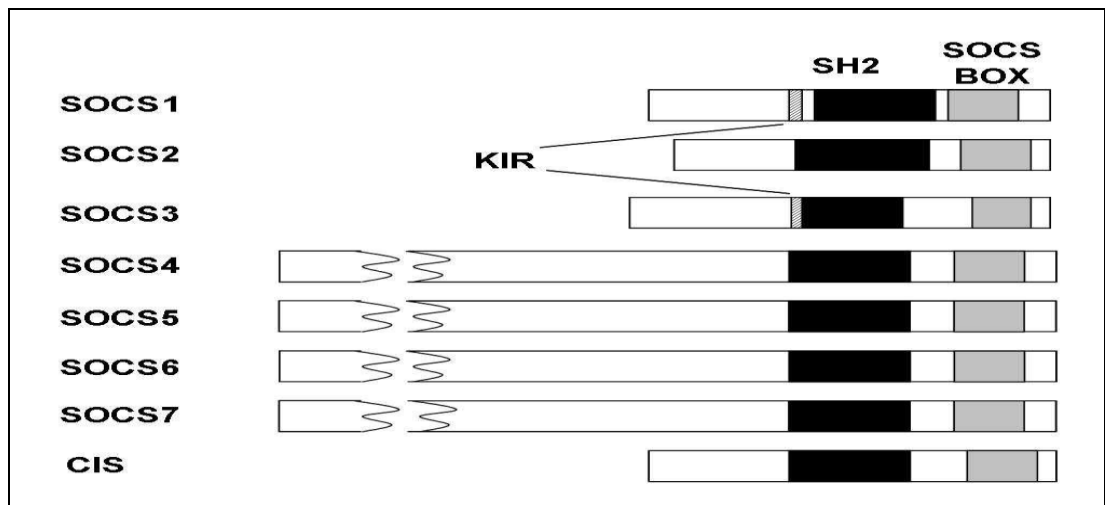
Bir nükleotidin baz, şeker ve fosfat olmak üzere üç bileşeni vardır. Bu nükleotidlerin farklılığı içerdikleri bazların farklılığından kaynaklanmaktadır. DNA'nın yapısında bulunan pürinler adenin (A) ve guanin (G); pirimidinler de sitozin (C) ve timin (T)'dir. İkinci şeker ise halka formunda beş karbon atomlu bir pentozdur. Fosfat grubu bu pentozun 5. karbon atomuna bağlıdır. DNA'da nükleotidlerin dizilimi fosfat grubunun bir sonraki nükleotide 3' karbonundan bağlanması şeklindedir ve karşısında ters paralel uzanan diğer dal ile bazlar arasındaki hidrojen bağları ile oluşur. Bu şekilde DNA molekülünün fosfodiester bağları ile oluşmuş sağa dönüşümlü A-helikol yapısı oluşur. Bu yapıda fosfat grupları sulu dış yüzeyde, hidrofobik bazlar ise molekülün iç kısmında yer alırlar. Molekülün bir dönüşümü 10 nükleotid içerir. DNA dallarının kopyası daima 5'→3' yönünde, RNA sentezi (transkripsiyon) ise 3'→5' yönünde gerçekleşir. Molekül yapısında bilgi şifresi olarak kullanılacak tek değişken bazlardır. Şeker-fosfat zinciri aynı şekilde tekrarlar.

7.1. Sitokin Sinyal Süpresörleri

Sitokin sinyal süpresör proteinleri sitokin sinyalinin inhibitörleridir ve ekspresyonları sadece JAK/STAT yolağı ile indüklenir. SOCS proteinlerinin keşfiyle sitokin-JAK-STAT yolağının negatif regülasyonu tanınmış, yapılan birçok çalışma ile SOCS proteinlerinin immünolojik ve patolojik birçok

durumla olan ilişkisi ortaya konulmuştur (105). Sekiz CIS/SOCS proteini mevcuttur: CIS, SOCS 1, SOCS 2, SOCS 3, SOCS 4, SOCS 5, SOCS 6 VE SOCS 7. Her biri src hemoloji-2 (SH2) domain içermekte, değişen uzunluklarda aminoterminal domen, SOCS-box adı verilen 40 aminoasit motifinden oluşan karboksiterminal domainden oluşmaktadırlar (Şekil-3) (105,106). Tüm aile üyeleri arasında sekans homolojisi olmasına rağmen (özellikle SOCS box ve SH2 domainde) CIS ile SOCS 2, SOCS 1 ile SOCS 3, SOCS 4 ile SOCS 5 ve SOCS 6 ile SOCS 7 arasında daha yakın homolojiler mevcuttur (105). Ayrıca, SOCS 1 ve SOCS 3'te diğerlerinden farklı olarak SH2-domaine bitişik kinaz inhibitör bölgesi (Kinase inhibitory Region; KIR) bulunmaktadır (105).

Hem SH2 domain hem de SOCS-box, sitokin reseptörüne veya JAK'lara bağlanarak ve sinyal iletimini direkt olarak zayıflatarak ya da proteozomlarda ubiquitin-aracılı degradasyon için reseptör komplekslerini hedef alarak uygun işlevlerin gerçekleşmesinde rol alır (106). SOCS proteinlerinden dördünün (CIS ve SOCS 1-3) fizyolojik işlevleri diğer kalan dört SOCS proteinine göre (SOCS 4-7) daha iyi ortaya konulabilmiştir. CIS ve SOCS1-3'ü kodlayan genlerin ekspresyonu bazal durumdayken düşüktür, fakat JAK/STAT yolağını aktive eden sitokinler tarafından hızla uyarılır (106). Bu da STAT yolağının negatif regülasyonuna yol açar.



Şekil-1: SOCS proteinlerinin moleküler yapıları (106).

I. CIS

CIS-transgenik farelerde büyümenin gerilediği, meme doku gelişiminin durduğu, natural killer (NK) hücre sayısının azaldığı görülmüştür (105). Bu farelerde görülen özellikler STAT 5a ve STAT 5b eksik farelerle benzerdir. CIS, STAT 5 aracılı sitokin cevabında spesifik bir role sahiptir. CIS'in reseptörlerinin STAT 5 bağlayan bölgesini maskeleyerek eritropoetin (EPO), IL-2, IL-3, BH ve prolaktin sinyal iletimini inhibe ettiği in vitro deneylerde gösterilmiştir (107).

II. SOCS 1

Invitro çalışmalar SOCS 1'in IFN- γ , IL-4, IL-6 ve IL-12 gibi çeşitli sitokinler tarafından aktive edilen farklı sinyal ileti yollarını inhibe edebildiğini göstermiştir. Yani, SOCS 1'in bu düzenleyici özellikleri tek bir özel sitokin sinyal ileti yoluyla sınırlı değildir (108). SOCS 1 eksik olan farelerin doğdukları anda normal iken büyümelerinin durduğu ve 3 hafta içinde ciddi lenfopeni, periferik T hücre aktivasyonu, karaciğer nekrozu ve ana organlarda makrofaj infiltrasyonu sonucu öldükleri gösterilmiştir (109,110). Hem SOCS 1 hem de IFN- γ bulunmayan farelerin ise sadece SOCS 1 eksik farelerin gösterdiği letal fenotipe sahip olmadığı rapor edilmiştir (111). Bu durum IFN- γ regülasyonunun SOCS 1 tarafından düzenlendiğini ve kontrolsüz IFN- γ aktivitesinin letal fenotipin gelişmesine katkıda bulunduğunu düşündürmektedir.

SOCS 1 SH2 domaini ile direkt olarak JAK'larla etkileşerek onların tirozin kinaz aktivitesini inhibe edebilir (106). Ayrıca SOCS 1'in tip-I IFN reseptör ve IFN- γ reseptörüne de direkt olarak bağlanabildiği ve böylece çok düşük düzeylerde SOCS 1 ekspresyonları olduğunda bile IFN sinyalini baskılayabildiği rapor edilmiştir (112). SOCS 1 ekspresyonu STAT yolağını aktive eden sitokinlerin yanı sıra insülin, lipopolisakkarid (LPS), CpG DNA ve diğer bazı moleküller tarafından da indüklenebilir (113).

III. SOCS 2

SOCS 2'nin BH reseptörüne bağlanarak STAT 5b aktivasyonunu inhibe ettiği bilinmektedir (114). SOCS 2 eksik olan farelerde kilo artışı, karaciğer ve diğer visseral organlarda hipertrofi olduğu görülmüştür. SOCS 2

aktive BH reseptörünün SHP2-bağlanma bölgesine bağlanmakta ve IGF-1 geninin transkripsiyonu için gerekli olan aktive BH reseptör yolağının son molekülünden biri olan STAT 5b'nin fosforilasyonu ve aktivasyonunu önlemektedir (115).

Öte yandan SOCS 2'nin aşırı ekspresyonu BH sinyalini arttırmakta ve SOCS 2 transgenik farelerde hafif bir jigantizm gelişmektedir (116). Bu bulgular SOCS 2'nin BH sinyalini düzenlemede daha karmaşık dual rolünün olduğunu göstermektedir. Nitekim düşük düzeydeki SOCS 2'nin tüm BH ile indüklenen STAT 5 aktivasyonunu inhibe etmesine karşın yüksek konsantrasyonlarının sinyal aktivitesini arttırdığı titrasyon deneyleri ile gösterilmiştir (117). İlginç olarak SOCS 2 hem BH hem de IGF-1 reseptörlerine bağlanır, fakat sadece BH tarafından direkt olarak indüklenebilmektedir (116).

IV.SOCS 3

SOCS 3, gp130 gibi reseptörlerin varlığında JAK'ı inhibe edebilmektedir (118). Ayrıca, SOCS 3'ün önce reseptörle yüksek afiniteli etkileşiminden sonra JAK'a bağlandığı hipotezi de ileri sürülmektedir (119). SOCS 3 eksik olan farelerin plasenta fonksiyon defekti nedeniyle embriyonik dönemde öldüğü gözlenmiştir (105). SOCS 3 eksik farelerde kardiyak hipertrofi nedeniyle prenatal ölüm olması LIF reseptörleri veya gp130 sinyal iletimi için gerekli olduğunu göstermektedir (105). SOCS-3'ün miyeloid hücrelerde ve hepatositlerde ekspresyonları engellenerek yapılan çalışmalarda, SOCS-3 eksikliğinin IL-6'ya yanıt olarak STAT-3'ün aktivasyonunda uzamaya yol açtığı gösterilmiştir (120). In vivo SOCS-3'ün sinyal komponenti olarak gp130'u kullanan IL-6-LIF ailesi sitokinlerin inhibitörü olduğu için, inflamasyonun negatif düzenleyicisi olabileceği düşünülmektedir (112). Son zamanlarda SOCS 3'ün endokrin sistem üzerindeki etkileri belirlenmiştir. SOCS 3 eksik farelerin kilo alımı ve hiperleptinemiye dirençli oldukları ve insülin direnci geliştirmedikleri saptanmıştır. Bu kanıtlar doğrultusunda SOCS 3'ün diyetle indüklenen leptin düzeylerinde ve insülin direncinde anahtar rol oynadığı sonucuna varılmıştır

(105). SOCS 3'ün başta diyabet ve obezite olmak üzere birçok metabolik durumda önemli görevleri olduğu düşünülmektedir.

V.SOCS 4-7

SOCS 4'den 7'ye kadar olan SOCS proteinleri ile ilgili sınırlı sayıda veri bulunmaktadır. SOCS 5'in IL-6 ile indüklendiği ve IL-4'ü inhibe ettiği, SOCS 6'nın MAPK, protein-kinaz B ve insülin reseptör substrat-1 (IRS-1) aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (121).

8. SOCS Proteinleri ve Hastalıklar

8.1 SOCS 1 Proteini ve Kanser

SOCS proteinlerinin kanser gelişiminde rol oynayabilecekleri birçok merkez tarafından bildirilmiştir. Kanser gelişimine büyüme faktörlerine aşırı cevaplılık göstermeleri ve onkogeneizde rol alan çeşitli sitokinler tarafından modüle edilmeleri sonucu neden oldukları düşünülmektedir. SOCS 1 ekspresyonunun hipermetilasyon sonucu azalması ile hepatosellüler karsinoma gelişebileceği veya progrese olabileceği gösterilmiştir (122). SOCS 1 gen DNA hipermetilasyonu kolon, mide, over, akciğer ve meme gibi birçok solid organ tümöründe saptanabilir ancak bu hepatosellüler karsinomdaki kadar sık değildir (105). Aynı zamanda SOCS1 ekspresyonunun lösemi, lenfoma ve multipl miyelom gibi hematolojik malignitelerdeki IFN direnci ile de ilişkili olduğu bulunmuştur (123). Hipermetilasyon dışında SOCS 1 gen silinmeleri ve mutasyonları da lenfomaların gelişmesinde rol oynamaktadır (123).

8.2. SOCS 1 Proteini ve Enfeksiyon

SOCS 1 tip I ve tip II IFN sinyalini inhibe eden bir proteindir. Bu nedenle IFN'ların antiviral ve inflamatuvar etkilerini dengelenmesinde önemli rol oynamaktadır. SOCS 1 olmayan farelerin viral enfeksiyona dirençli oldukları gösterilmiştir (112). SOCS 1'in pankreas beta hücrelerinde aşırı ekspresyonu ile coxsackie virus tarafından indüklene diabetes mellitus, kardiyak miyozitlerde ki aşırı ekspresyonu ile kardiyomiyopati geliştiği bildirilmiştir (124). Kardiyak miyozitlerde SOCS 1 inhibe edildiğinde ise

enteroviral enfeksiyonlarla oluşturulan akut kardiyak hasara karşı direnç olduğu saptanmıştır (124). Yapılan çalışmalarda SOCS 1 eksik farelerin hücre içi parazitlere karşı dirençli olduğu bildirilmektedir. SOCS1 eksik fare makrofajlarının IFN- γ 'ya aşırı duyarlılık göstermesi bunun nedeni olarak düşünülmektedir (125).

8.3. SOCS 1 Proteini ve İnflamatuar-Alerjik Hastalıklar

SOCS proteinleri sitokin aracılı immün düzenleyiciler oldukları için inflammatuar hastalık patogeneğinde rol oynamaktadırlar. Romatoid artritli hastaların kanından izole edilen CD4+ T hücrelerinin sağlıklı kontrol hastalarından daha yüksek düzeyde SOCS 1 ekspresyon ettikleri rapor edilmiştir (126). Zimosan ile artrit oluşturulan STAT 1 -/- farelerde sinoviyal SOCS 1 ekspresyonunun belirgin olarak düştüğünün gösterilmesi SOCS 1'in özellikle STAT 1'in kontrol ettiği eklem inflamasyonunda altta yatan mekanizmalardan biri olabileceğini düşündürmektedir (126). Ancak, SOCS 1'in eklem inflamasyonu ve artritteki rolleri henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır.

SOCS 1'in insanlarda hepatit ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. SOCS 1'in HCV hepatitinde DNA metilasyonu ile etkisizleştiği ve SOCS 1 gen metilasyonunun karaciğer fibrozisinin şiddeti ile korele olduğu saptanmıştır (127). Bu bulgulara dayanılarak DNA metilasyonu ile ortaya çıkan SOCS 1 gen ekspresyonunun azalmasının karaciğer inflamasyonuna neden olduğu düşünülmektedir.

8.4. SOCS Proteinleri ve Terapötik Yaklaşımlar

SOCS proteinleri kullanılarak sitokin sinyallerinin baskılanmasının özellikle inflammatuar hastalıkların tedavisinde ve transplantasyon sonrası rejeksiyonun önlenmesinde kullanılabileceği bildirilmektedir. SOCS protein mimetiği olan tirozin kinaz inhibitör peptid JAK 2 aracılı STAT1 aracılı fosforilasyonu inhibe ederek etkili olmaktadır (128). Bu peptidin farelerde alerjik ensefalomyelit gelişimini önlediği ve STAT 3 aktivasyonu görülen prostat kanseri hücre dizisinde proliferasyonu baskıladığı gösterilmiştir (128). Dominant negatif SOCS proteinleri kullanarak SOCS gen ekspresyon düzeylerinin aşağı çekilmesi ve böylece anti-viral veya antitümöral aktiviteyi

kuvvetlendirmek için sitokin sinyalinin artırılması da başka bir yaklaşımdır. SOCS 1 küçük karışık ribonükleik asit (small interfering RNA, siRNA) sistemik uygulanmasının farelerde gözlenen B16 tümörlerinin küçülmesine neden olduğu bildirilmiştir (129).

9. SOCS Proteinlerinin İnsülin Direnci ve Metabolik Sendrom ile İlişkisi

İnsülin direnci ve metabolik sendromda kronik inflamasyon olduğu ve proinflamatuvar sitokinlerin arttığı bilinmektedir. Obez diyabetik db/db farelerde SOCS 1 mesenger RNA ve karaciğerdeki protein ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (130). Metabolik sendrom ve tip 2 diabetes mellitusun patogeneğinde hepatik insülin duyarlılığı ve insülin reseptör substrat-2 (IRS-2) önemli rol oynamaktadır. SOCS 1 eksik olan farelerde IRS-2 ekspresyonunun ve hepatik insülin duyarlılığının arttığı in vivo olarak saptanmıştır (131). SOCS 1 IRS-2'yi hedeflemekte ve farelerde IRS-2 eksikliği insanda görülen tip 2 diyabetine benzer bir tablo oluşturmaktadır (132). SOCS 1 IRS-2 fosforilasyonunu ve IRS-2'ye spesifik insülin reseptörüne bağlanmayı inhibe ederek insülin iletimini bozmaktadır. Bunun da uzamış sitokin stimülasyonunun insülin direncine neden olabileceğini göstermektedir (133)

10. SOCS1 ve Kolorektal Kansere İlişkisi

Suppressor of cytokine signaling-1 (SOCS1) sitokin yanıtlarının fizyolojik düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve birçok insan kanserinde DNA metilasyonu ile oluşan SOCS1 gen sessizliği bulunmuştur.

Sporadik kolorektal kanserde en az iki yolak vardır birisi kromozomal instabilite (CIN) yolağı diğeri ise CpG island methylator phenotype (CIMP) (134). CIN yolağı kolorektal kanserlerin yaklaşık %80'inden sorumludur. Anöplodi ile adenom karsinom skansını devam ettirmek için gerekli genetik istikrarsızlığı sağlar (135). Kolorektal kanserde DNA metilasyonu iki temel

değişiklik geçirir; Hipometilasyon ve hipermetilasyon. Kanserdeki metile genler tip A (yaşla ilişkili genler) ve tip C (kansere spesifik genler) şeklinde karakterize edilmiştir (136).

Genellikle tip A genler hem normal hemde neoplastik dokuda metiledir. Metilasyon derecesi doku yaşı ile orantılıdır (136,137). Çoğu tip A genin hipermetilasyonu kolorektal karsinogenezisi direkt olarak etkileyebilir fakat doku yaşlanmasının bir indikatörü olabilir (136,137).

Ancak tip C genlerin metilasyonu neoplastik dokular için daha spesifiktir. DNA metilasyonu niceliksel olarak Tip A belirteçler (ESR1, GATA5, HIC1, HPP1, SFRP1) ve tip C belirteçler (MGMT, MLH1, CDKN2A, MINT2, MINT31, IGF2, CACNA1G, NEU-ROG1, SOCS1, RUNX3) ve LINE1 olarak tanımlanmıştır. Tip C'deki 5 belirteç (IGF2, CACNA1G, NEU-ROG1, SOCS1, RUNX3) CIMP paneli kapsamındadır (140).

CIN yolağının aksine CIMP kanserleri sıklıkla proksimal kolonda yerleşir adenomatöz poliplerden ziyade serrated poliplerden gelişir ve yaşlı bayanlarda daha sıktır, survival ve tedavi sonuçları farklıdır (138).

Hanada ve arkadaşları insan kanserlerinin yaklaşık % 20'sinin kronik inflamasyondan kaynaklandığı bilgisinden hareketle çalışmalarında SOCS1 eksik farelerde 6 aylıkken spontan nükleer beta katenin ve p53 mutasyonu içeren kolorektal kanseri geliştiğini göstermişler ve SOCS 1'in inflamasyon ilişkili kolon kanserinde tümör supressör adaylardan biri olduğunu, SOCS 1 eksikliğinde STAT 3, NF-κB ve STAT 1 aktivasyonu'nun arttığını ifade etmişlerdir (139).

Kolorektal Kanserlerde SOCS proteinlerinde meydana gelebilecek polimorfizm inflamatuvar süreç gelişimine katkıda bulunarak hastalık etyopatogenezinde yer alıyor olabilir.

Biz bu çalışmamızla ilk kez olmak üzere kolorektal kanserli hastalarda SOCS1 1478 CA/DEL gen polimorfizm ve tipleri (major homozigot CA/CA, minör homozigot DEL/DEL, heterozigot CA/DEL) ile kolorektal kanserli dokuda SOCS1 ekspresyonu durumunu ve bunların klinikopatolojik özellikler ile olan ilişkisini incelemeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

1. Çalışma Protokolü

Bu çalışmada Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 1999–2008 yılları arasında kolon kanseri tanısı ile takip ve tedavi edilen hastaların dosyaları tarandı. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu (Etik Kurul onam tarihi: 04.06.2009 ve karar no: 2009-9/55) tarafından onaylanan protokole göre çalışma yürütüldü. Primer tümörü opere edilmiş, TNM evreleme sistemine göre değerlendirilmiş ve en az 3 yıl süre ile takip edilmiş 67 hasta belirlendi. Bu hastalardan primer tümöre ait kesitleri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı arşivlerinde olup immünohistokimyasal değerlendirme için yeterli dokuya sahip olan 53 hasta çalışmaya alındı. Kontrol grubu olarakta çeşitli sebeplerle (travma vs) barsak rezeksiyonu yapılmış olgular çalışmaya alındı.

Hasta dosyalarından yaş, cinsiyet, tanı tarihi, tümör yerleşim yeri, tümör invazyonu (T), perinöral-lenfovasküler-venovasküler invazyon varlığı, nodal tutulumu (N), tümörün evresi, boyutu, tümörün histolojik derecesi, hastalısız sağ kalım (HSK), tam sağ kalım (TSK) ve takip süreleri gibi parametrelere ait bilgiler elde edildi. TSK tanı tarihinden ölüm tarihine kadar geçen süre; HSK ise tanı tarihinden ilk nüksün saptandığı tarihe kadar geçen süre olarak belirlendi.

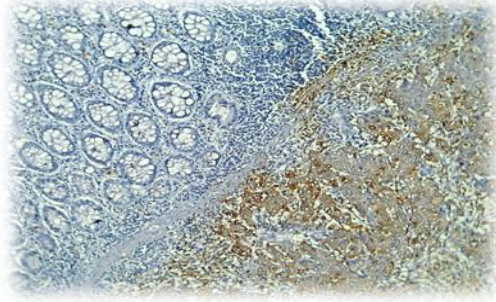
2. Laboratuar Yöntemleri

2.1. İmmünohistokimyasal Boyama

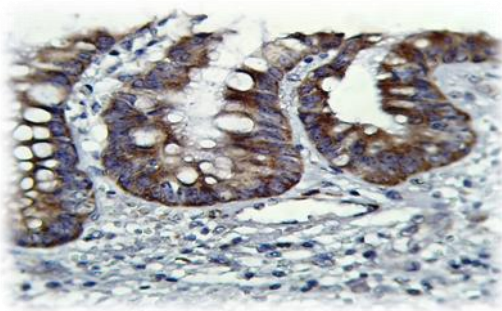
Dokularda SOCS1 ekspresyonunun varlığı immünohistokimyasal boyama ile araştırıldı. Primer antikor olarak Qiagen marka SOCS 1 antikorunu 1/100 oranında dilüe edilerek kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyama streptavidin–avidin–biotin yöntemiyle yapıldı. Dört mikron kalınlığında lizimli lamlara alınan kesitler bir gece boyunca 60 °C etüvde deparafinize edildi. Üç

kez 5 dakika ksilen, 3 kez 5 dakika %96'lık sitrat buffer (ph 6.0) içinde bekletildi. Mikrodalga fırında 750 watt eşdeğeri ısıda 5 dakika aralıklarla distile su eklenerek toplam 20 dakika kaynatıldı. Oda ısısında 20 dakika bekletildikten sonra PBS (phosphate buffer saline) içine alındı. PBS ile 2 kez yıkandı. Kesitler kurularak nemlendirilmiş 25 °C oda ısısı ortamında %3'lük hidrojen peroksit tatbik edilerek 15 dakika bekletildi. PBS ile bir kez yıkanarak protein blocking'de 10 dakika bekletildi. Kesitler primer antikor ile 1 saat inkübe edildi. Daha sonra iki kez 3 dakika PBS ile yıkandı. 15 dakika Biolynated Link (sekonder antikor)'den sonra PBS ile yıkanarak 10 dakika DAB kromojene alındı.

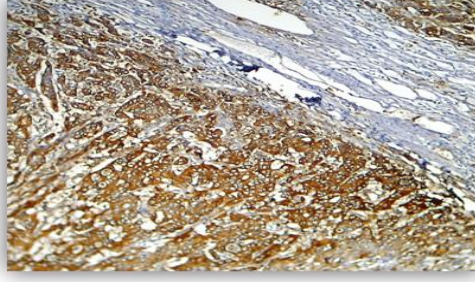
Distile su ile yıkanan kesitler ışık mikroskobunda değerlendirildi. Boyama yaygınlığına ve şiddetine göre değerlendirildi. Dokuda belirgin boyanma olan preparatlar pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 2,3,4,5).



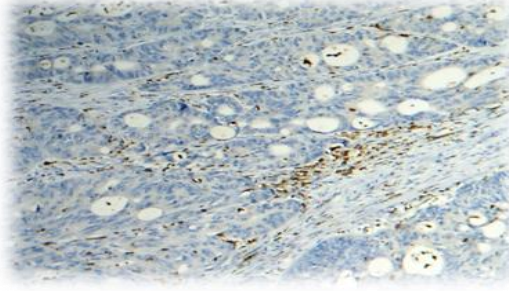
Şekil 2: SOCS1 Negatif- Normal Mukoza (DAB X 100)



Şekil 3: SOCS1 Pozitif- Normal Mukoza (DAB X 400)



Şekil 4: SOCS1 Kuvvetli Pozitif -Tümör Dokusu (DAB X 100)



Şekil 5: SOCS1 Negatif -Tümör dokusu (DAB X 100)

2.2 QIAamp DNA FFPE Tissue Kit-Doku İzolasyonu

Çalışmaya dahil edilen parafin dokulardan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı İmmünoloji Bilim Dalı laboratuvarında QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) kullanarak genomik DNA izolasyonu için 2x 10µm kesit alınıp çalışma yapıldı.

2.2.1 Deparafinizasyon

- İnce parçalar halinde kesilmiş doku örneği üzerine 1 ml xylene eklenip vortekslenerek oda ısısında 10 dk bekletildi.
- 14000 rpm 3 dk santrifüjlendi
- Süpernatant atılarak tekrar 1 ml xylene eklenip, vortekslenerek 10 dk oda ısısında bekletildi.
- 14000 rpm 3 dk santrifüjlendi
- Süpernatant atılarak 1 ml % 96 etanol eklenerek, vortekslendi.
- 14000 rpm 3 dk santrifüjlendi
- Süpernatant atılarak 1 ml % 80 etanol eklenerek, vortekslendi.
- 14000 rpm 3 dk santrifüjlendi
- Süpernatant atılarak 1 ml % 60 etanol eklenerek, vortekslendi.

- 14000 rpm 3 dk santrifüjlendi
- Süpernatant atılarak 1 ml distile su eklenerek, vortekslendi.
- 14000 rpm 3 dk santrifüjlendi
- Süpernatant tamamen atılarak, izolasyon işlemine geçildi.

2.2.2 DNA İzolasyonu

- Deparafinizasyon işlemi tamamlanmış örnek üzerine 180 µl Buffer ATL ve 20 µl Proteinase K eklenerek iyice vortekslendi.
- 56 ° C de 1 saat bekletildi.
- 90 ° C de 1 saat bekletildi.
- Tüp çeperindeki damlaları dibe indirmek için kısa süre santrifüjlendi.
- 200 µl Buffer AL ve 200 µl % 96 etanol eklenerek 10 sn vortekslendi.
- Tüp çeperindeki damlaları dibe indirmek için kısa süre santrifüjlendi
- Tüpün içindeki karışımın tamamı QIAamp Min Elute spin kolona aktarıldı.
- 8000 rpm de 1 dk santrifüjlenerek spin kolonun yerleştiği tüp atılarak, spin kolon temiz 2 ml lik toplama tüpüne yerleştirildi.
- Spin kolon tüplerine 500 µl AW1 eklenerek 8000 rpm de 1 dk santrifüjlendi.
- Spin kolonun yerleştiği tüp atılarak, spin kolon temiz 2 ml lik toplama tüpüne yerleştirildi.
- Spin kolon tüplerine 500 µl AW2 eklenerek 8000 rpm de 1 dk santrifüjlendi.
- Spin kolonun yerleştiği tüp atılarak, spin kolon temiz 2 ml lik toplama tüpüne yerleştirildi.
- Spin kolon tüpleri 14000 rpm de 3 dk santrifüjlendi.
- Spin kolonun yerleştiği tüp atılarak, spin kolon temiz 2 ml lik ependorf tüpe yerleştirildi.
- 100 µl Buffer ATE eklenerek 1 dk oda ısısında bekletildi
- 14000 rpm de 1 dk santrifüjlenerek, spin kolon tüp atılıp, ependorf tüpü kapatıldı.

2.2.3 DNA Konsantrasyon Ölçümü

Spektrofotometre ATE buffer ile sıfırlanarak bütün örneklerin ölçümleri yapılmıştır.

2.2.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

SOCS1 polimorfizmi (1478CA/Del) PZR-RFLP yöntemi ile tayin edildi. Bunun için promotor bölgesi ileri; (5-TGTCGTCCAGCTGCACCTC-3), ve geri primerler; (5-ACCACAGGCTTCAGAGGAAC-3) ile amplifiye edildi. Reaksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde karışım hazırlandı; 1x PCR Buffer , 25mM MgCl₂, 10mM dNTP, ileri-geri primer 0,5 µM , 2U Simpler Red™

DNA Polymerase enzimi (Thermo Fisher Scientific Inc - UK), distile su 14,8 µl ve parafinden izole 2 µl DNA eklenerek termal döngü cihazında (Corbett Research-Australia) PCR işlemi başlatıldı.

PCR İçin Kullanılan Termal Döngü Programı;

İşlem	Derece (santigrat)	Süre	İşlem sayısı
İlk Denatürasyon	95	2 dk	1
Denatürasyon	94	30 sn	37
Bağlanma	69	30 sn	37
Uzatma	72	30 sn	37
Son uzatma	72	10 dk	1

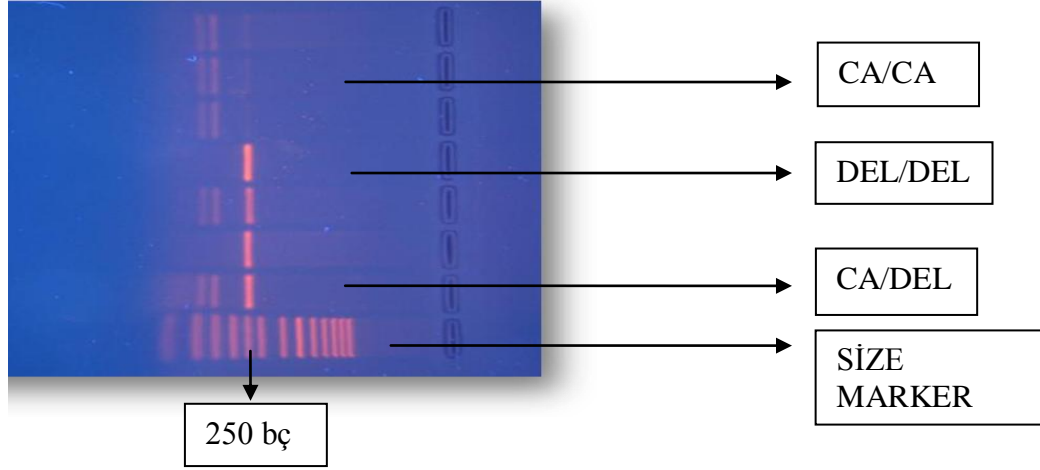
2.2.5 PZR-restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri (Restriction Fragment Length Polymorphisms-PZR-RFLP)

SOCS-1 1478 CA/DEL allellerini saptamak için kesim enzimi (Ddel-HpyF3I Fermentas) kullanıldı. RFLP deneyinde 10 µl PZR ürünü, RE 0,22 µl (500 U) RE, 2.1 µl RE tamponu ve 7.68 µl distile suya 10,1 µl pcr ürünü eklendi ve 37 °C de 1 gece inkübasyona bırakıldı.

2.2.6 Elektroforez

Elektroforez için etidyum bromür (EtBr) içeren % 2 lik agaroz jel hazırlandı. Kesim ürünleri ve " size marker" yükleme solüsyonu ile birlikte

kuyulara yüklenerek 40 dk 100 volt olacak şekilde elektroforez işlemi uygulandı. Oluşan bantlar translüminatör üzerinde uv ışığında "size marker" ile karşılaştırılarak değerlendirildi (Şekil 6).



Şekil 6: SOCS1 promotor bölgesinde gen polimorfizmlerinin RFLP jel görüntüsü. CA/CA, DEL/DEL ve CA/DEL gen polimorfizm bölgeleri görülmektedir En altta size marker ; Ölçü birimi Base Pair (Baz çifti) 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500

3. İstatistiksel Analiz

Hastaların verileri daha önceden hazırlanan çalışma formlarına kaydedildi. Daha sonra bu formlardaki verilerin kantitatif değerler olarak istatistiksel analizleri yapıldı. İstatistiksel hesaplamalar IBM uyumlu MS-DOS ve Windows XP işletim sistemi altında çalışan bir bilgisayarda SPSS for Windows 13.0 (Statistical Package for the Social Sciences INC., Chicago, USA) programı kullanılarak yapıldı.

Kantitatif değerler ortalama \pm standart sapma olarak belirtildi. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare ve Fisher'in kesin ki-kare testleri kullanıldı. Kolmogorov-Smirnov testiyle sürekli değişkenlerin normallik varsayımı (olasılık dağılımına uyumluluk gösterip göstermemesi) saptandı ve gruplar arası karşılaştırmalarda parametrik olmayan bir test olan Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tüm bu istatistiksel çalışmalarda p değerinin <0.05 olması anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Kolorektal Karsinom tanısı konmuş hastaların verilerine merkezi arşivden dosya taraması yapılarak ulaşılmıştır. Parafin bloklara gömülü 53 adet kolorektal kanser ve 25 adet çeşitli sebeplerle (delici-kesici alet yaralanması, megakolon vs) barsak rezeksiyonu geçirmiş ve patolojik incelemeleri normal olarak değerlendirilmiş kişilerin biyopsi materyalleri değerlendirmeye alınmıştır. Bu dokularda hem SOCS1 immünohistokimyasal boyama yapılmış ve hemde DNA'ları elde edilerek SOCS1 1478 CA/DEL gen polimorfizmi çalışması yapılmıştır. Ayrıca klinikopatolojik özellikler ve sağkalım analizleri yapılmıştır.

Kolorektal kanserli olguların yaş ortalaması 60.57 ± 12.239 (en küçük 32 en büyük ise 84 yaşında), 23'ü kadın (% 43.4), 30'u erkek (% 56.6) ; Kontrol hastaların yaş ortalaması ise 51.60 ± 18.894 (en küçük 20, en büyük 83 yaşında) 8'i kadın (% 32.0), 17'si erkek (% 68.0) idi (Tablo 6).

Kolorektal kanserli hastaların TNM sınıflamasına göre 2'si (% 3.8) evre I, 23'ü (% 43.4) evre II, 21'i (% 39.6) evre III, 7'si (% 13.2) evre IV durumunda idi. T evresine göre T1'de 2 (% 3.77), T2'de 4 (%7.55), T3'de 45 (%85), T4'te 2 (%3.77) olgu vardı. N evresine göre 22 olgu (% 41.5) N0, 19 olgu (% 35.8) N1, 12 olgu (% 22.6) N2 evresinde idi. Olguların 7'sinde (%13.2) tanı anında, 6'sında (%11.3) ise daha sonradan karaciğer metastazı vardı, 40 olguda (%75.5) karaciğer metastazı yoktu (Tablo 7)

Duke's sınıflamasına göre ise 1'i (% 1.8) A, 25'i (% 47.1) B, 20'si (% 37.7) C, 7'si (% 13.2) D evresinde idi. Tümörlerin 15'i (% 28.3) rektum, 22'si (% 41.5) sigmoid, 1'i (% 1.8) inen kolon, 15'i (% 28.3) sağ kolon yerleşimli idi. Olguların 40'ı (%75.47) iyi-orta diferansiye, 13'ü (%24.53) az diferansiye idi. Tümör dokusunda perinöral invazyon 8 (%15) olguda vardı, 45 (%85) olguda yoktu. Venovasküler invazyon aynı şekilde invazyon 8 (%15) olguda vardı, 45 (%85) olguda yoktu . Lenfovasküler invazyon ise 18 (%34) olguda izlendi, 35 (%66) olguda ise yoktu (Tablo 7).

Tümör genişliği açısından 23 olgu (% 43.3) 5 cm ve üzeri, 30 olgu (% 51.7) 5 cm altı boyutta idi. Olguların 11'i (%21) rekürrens gösterdi. Kansere ilişkili ölüm 16 (% 30) olguda izlendi, bunların 14'ü (%26.4) 5 yıldan önce, 2'si (%3.8) 5 yıl ve sonrası idi (Tablo 7).

SOCS1 1478 CA/DEL gen polimorfizmi açısından yapılan değerlendirmede hastaların 6'sında (%11.3) DEL/DEL , 35'inde (% 66) CA/DEL, 12'sinde (%22.7) CA/CA, kontrol grubunda ise 6'sında (% 24) DEL/DEL, 16'sında (% 64) CA/DEL, 3'ünde (%22.7) CA/CA gen polimorfizmi tespit edildi (Şekil 8,Tablo 8)

İmmünohistokimyasal incelemede hasta grubunda boyanma olmayanlar (SOCS 1 negatif) 26 (%49), boyanma olanlar (SOCS 1 pozitif) 27 (%51) olgu şeklinde idi. Başlangıçta boyanmalar zayıf pozitif ve pozitif olarak ikiye ayrıldı. Pozitif boyananlardan 9'u (%17) zayıf pozitif, 18'i (%34) pozitif olarak gözlendi, ancak istatistiksel analiz açısından yorum yapılabilmesi için ikisi birleştirilerek değerlendirmeye alındı. Kontrol grubunda ise SOCS 1 negatif 13 (% 52), SOCS 1 pozitif 12 (%48) olgu izlendi. SOCS 1 pozitif olanlar'dan 2'si (%8) zayıf pozitif, 10'u (%40) pozitif idi (Şekil7,Tablo 9)

Devamlı bir veri olarak, incelenen tüm klinikopatolojik veriler ve SOCS 1 gen polimorfizmi ile SOCS 1 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p > 0.05$). Aynı şekilde kontrol grubunda da SOCS 1 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, yerleşim ve SOCS 1 gen polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo 10)

SOCS 1 gen polimorfizmi ile hastaların klinikopatolojik verileri arasında ve yine kontrol grubunun klinik özellikleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo 10).

Hasta ve kontrol grubunun yaş, cinsiyet, SOCS 1 ekspresyonu ve SOCS 1 gen polimorfizmi açısından yapılan karşılaştırmasında anlamlı bir istatistiksel ilişki bulunamadı ($p > 0.05$) (Tablo 10)).

Tablo-6: Hasta ve kontrol grubu arasında yaş, cinsiyet ve SOCS1 ekspresyonu / gen polimorfizmi ilişkisi

		HASTA	KONTROL	P
YAŞ		60.57±12.239	51.60±18.894	0.055
CİNSİYET	KADIN	23(% 43.4)	8 (% 32.0)	0.337
	ERKEK	30 (% 56.6)	17 (% 68.0)	
SOCS1 EKSPRESYONU	SOCS1 NEGATİF	26 (%49.1)	13 (%52.0)	0.808
	SOCS1 POZİTİF	27 (%50.9)	12 (%48.0)	
SOCS1 GEN POLİMORFİZMİ	CA/CA	12 (%22.6)	3 (%12.0)	0.314
	CA/DEL	35 (%66.0)	16 (% 64.0)	
	DEL/DEL	6 (%11.3)	6 (%24.0)	

Sağkalım analizlerinde erken evre (TNM I-II) ve geç evrenin (TNM III-IV) hastalısız sağkalım (sırasıyla 135 ay, 71 ay) ve tam sağkalımla (sırasıyla 135 ay, 66 ay) ilişkili olduğu görüldü (her ikisi içinde $p = 0.02$). Geç evre prognozu kötü etkilemekte idi. Karaciğer metastazı olanlarda da prognoz anlamlı şekilde kötü olduğu görüldü. Karaciğer metastazı olanların ortalama sağkalımı 23.8 ay iken metastaz olmayanlarda 125.5 ay'dı ($p=0.000$).

SOCS 1 gen polimorfizmi ile sağkalım arasındaki ilişkiye bakıldığında DEL/DEL gen polimorfizmi ile hastalısız sağkalım arasında anlamlı ilişki olduğu görüldü ($p=0.049$). DEL/DEL gen polimorfizmi olanlarda ortalama hastalısız sağkalım süresi 27 ay iken CA/DEL gen polimorfizmi olanlarda 110 ay, CA/CA gen polimorfizmi olanlarda ise 99.9 ay idi. SOCS 1 gen polimorfizmi ile tam sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ($P=0.063$). SOCS 1'in immünohistokimyasal ekspresyonu ile hastalısız ve tam sağkalım arasında anlamlı ilişki tespit edilemedi (sırasıyla P değerleri 0.062 ve 0.716 idi).

Tablo 7 : Kolorektal kanserli hastaların klinikopatolojik özellikleri

ÖZELLİK		n (%)
Yaş	≥55 yaş	39 (73.6)
	<55 yaş	14 (26.4)
Cinsiyet	Erkek	30 (56.6)
	Kadın	23 (43.4)
Tümör Lokalizasyonu	Rektum	15 (28.3)
	Sigmoid kolon	22 (41.5)
	İnen kolon	1 (1.8)
	Sağ kolon	15 (28.3)
Patolojik Evre (TNM)	Evre 1	2 (3.77)
	Evre 2	23 (43.39)
	Evre 3	21 (39.62)
	Evre 4	7 (13.20)
T Evresi	pT1	2 (3.77)
	pT2	4 (7.55)
	pT3	45 (85)
	pT4	2 (3.77)
N Evresi	N0	22 (41.5)
	N1+N2	31 (58.5)
Dukes Sınıflaması	A+B	26 (49)
	C+D	27 (51)
Diferansiyasyon	İyi	2 (3.77)
	Orta	38 (71.7)
	Az	13 (24.53)
Perinöral İnvazyon	Var	8 (15)
	Yok	45 (85)
Venöz İnvazyon	Var	8 (15)
	Yok	45 (85)
Lenfatik invazyon	Var	18 (34)
	Yok	35 (66)
SOCS1 Polimorfizmi	DEL/DEL	6 (11.3)
	CA/DEL	35 (66)
	CA/CA	12 (22.7)
SOCS1 Ekspresyonu	Negatif	26 (49)
	Pozitif	27 (51)
Kanserle ilişkili ölüm	≥ 5YIL	2 (3.8)
	< 5 YIL	14 (26.4)
Tümör genişliği	<5CM	30 (56.7)
	≥5CM	23 (43.3)
Rekürrens	Var	11 (21)
	Yok	42 (79)
Karaciğer metastazı	Var	13 (24.5)
	Yok	40 (75.5)

Tablo 8: KRK'li olgularda SOCS1 1478 CA/DEL gen polimorfizmi ve klinikopatolojik özellikler arasındaki ilişki.

KLİNİKOPATOLOJİK ÖZELLİK		DEL/DEL	CA/DEL	CA/CA	P değeri
		n (%)			
<u>Yas</u>	≥55 YAŞ	4 (66.7)	25 (71.4)	10 (83.3)	0.748
	<55 YAŞ	2 (33.3)	10 (28.6)	2 (16.7)	
<u>Cinsiyet</u>	Erkek	3 (50.0)	19 (54.3)	8 (66.7)	0.635
	Kadın	3 (50.0)	16 (45.7)	4 (33.3)	
<u>Tümör lokalizasyonu</u>	Rektum	2 (33.3)	11 (31.4)	2(16.7)	0.471
	Sigmoid kolon	3 (50.0)	12 (34.3)	7 (58.3)	
	İnen kolon	0(0.0)	1 (2.9)	0 (0.0)	
	Sağ kolon	21(16.7)	11 (31.4)	3 (25.0)	
<u>T evresi</u>	pT1+ pT2	1 (16.7)	4 (11.4)	1 (8.3)	0.1.0
	pT3+ pT4	5 (83.3)	31 (88.6)	11 (91.7)	
<u>N evresi</u>	N0	1 (16.7)	18 (51.4)	3 (25.0)	0.191
	N1+N2	5 (83.3)	17 (48.6)	9 (75.0)	
<u>TNM evresi</u>	EVRE 1+2	2(33.3)	18 (51.4)	5(41.7)	0.386
	EVRE 3+4	4 (66.6)	17 (48.6)	7 (58.3)	
<u>Dukes sınıflaması</u>	A+B	3(50.0)	17 (48.6)	4 (33.3)	0.502
	C+D	3 (50.0)	18 (51.4)	8 (66.6)	
<u>Diferansiyasyon</u>	İyi	2 (33.3)	8 (22.9)	3 (25.0)	0.543
	Orta+Az	4 (66.7)	27 (77.1)	9 (75.0)	
<u>Perinöral invazyon</u>	Var	1 (16.7)	6 (17.1)	1 (8.3)	0.701
	Yok	5 (83.3)	29 (82.9)	11 (91.7)	
<u>V.vasküler invazyon</u>	Var	1 (16.7)	5 (14.3)	2 (16.7)	1.00
	Yok	5 (83.3)	30 (85.7)	10 (83.3)	
<u>Lenfatik invazyon</u>	Var	2 (33.3)	12 (34.3)	4 (33.3)	0.947
	Yok	4 (66.7)	23 (65.7)	8 (66.7)	
<u>Kc metastazi</u>	Var	1 (16.7)	9 (25.7)	3 (25.0)	1.00
	Yok	5 (83.3)	26 (74.3)	9 (75.0)	
<u>Kanser ilişkili ölüm</u>	Yok	2 (33.3)	26 (74.3)	9 (75.0)	0.07
	Var	4 (66.7)	9 (25.7)	3 (25.0)	

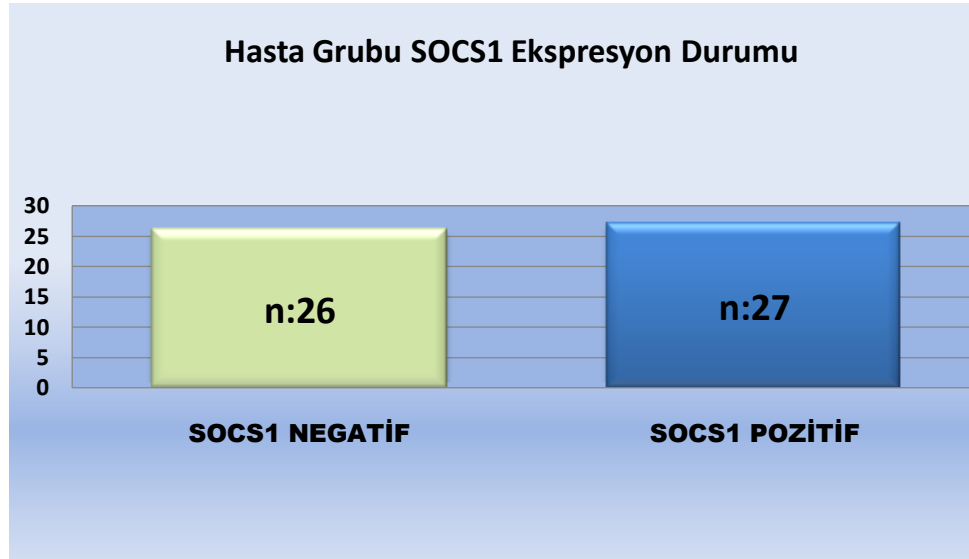
Tablo 9: KRK Klinikopatolojik Özellikleri ve SOCS1 Ekspresyonu İlişkisi

KLİNİKOPATOLOJİK ÖZELLİK		SOCS1 ekspresyonu n (%)		P DEĞERİ
		NEGATİF	POZİTİF	
<u>YAŞ</u>	≥55 YAŞ	9 (34.6)	5 (18.5)	0.184
	<55 YAŞ I	17 (65.4)	22 (81.5)	
<u>CİNSİYET</u>	ERKEK	24 (61.5)	23 (59.0)	0.817
	KADIN	15 (38.5)	16 (41.0)	
<u>T EVRESİ</u>	pT1+ pT2	2 (7.7)	4 (14.8)	0.669
	pT3+ pT4	24 (92.3)	23 (85.2)	
<u>N EVRESİ</u>	NO	11 (50.0)	15 (48.4)	0.565
	N1+N2	11 (50.0)	16 (51.6)	
<u>DUKES SINIFLAMASI</u>	A+B	13 (50)	11 (40.7)	0.344
	C+D	13 (50)	16 (59.3)	
<u>DİFERANSİYASYON</u>	İYİ	26 (100)	25 (92.6)	0.491
	ORTA+AZ	0	2 (7.4)	
<u>PERİNÖRAL İNVAZYON</u>	VAR	4 (15.4)	4 (14.8)	0.954
	YOK	22 (84.6)	23 (85.2)	
<u>VENOVASKÜLER İNVAZYON</u>	VAR	3 (11.5)	5 (18.5)	0.497
	YOK	23 (88.5)	22 (81.5)	
<u>LENFATİK İNVAZYON</u>	VAR	10 (38.5)	8 (19.7)	0.704
	YOK	16 (61.5)	19 (70.3)	
<u>REKÜRRENS</u>	VAR	6 (23.1)	5 (18.5)	0.682
	YOK	20 (76.9)	22 (81.5)	
<u>KARACİĞER METASTAZI</u>	VAR	5 (19.2)	8 (29.6)	0.379
	YOK	21 (80.8)	19 (70.4)	
<u>SOCS1 GEN POLİMORFİZMİ</u>	DEL/DEL	4 (15.4)	2 (7.4)	0.390
	CA/DEL	15 (57.7)	20 (74.1)	
	CA/CA	7 (26.9)	5 (18.5)	
<u>TÜMÖR GENİŞLİĞİ</u>	<5CM	12 (0.48)	18 (66.7)	0.173
	≥5CM	13 (52)	9 (29.3)	
<u>ÖLÜM</u>	VAR	8 (30.8)	8 (29.6)	0.928
	YOK	18 (69.2)	19 (70.4)	

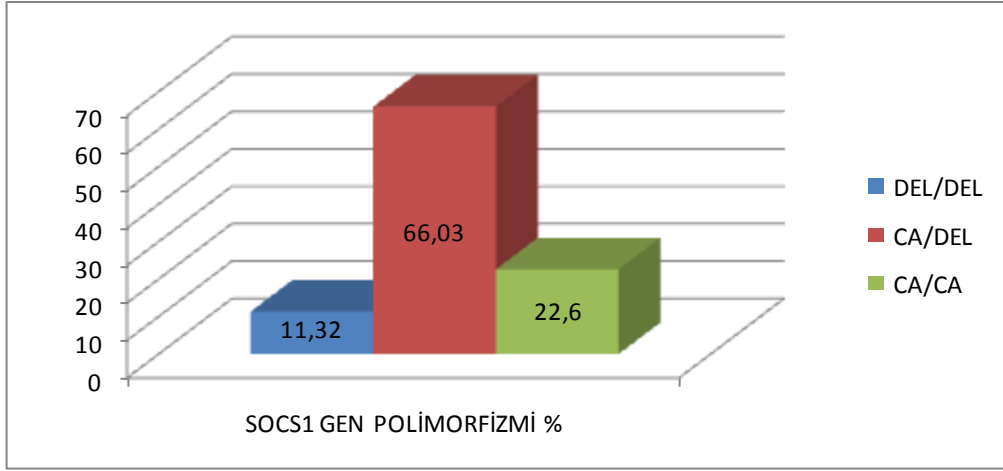
Tablo 10:Kolorektal Kanserli Hastalarda Klinikopatolojik Özellikler ile SOCS 1 Ekspresyonu ve SOCS 1 Gen Polimorfizmi'nin Hastalısız ve Tam Sağkalım İlişkisi

	Hastalısız Sağkalım <i>P DEĞERİ</i>	Anlamlılık	Tam Sağkalım <i>P DEĞERİ</i>	Anlamlılık
Yaş	0.085	A.D	0.057	A.D
Cinsiyet	0.088	A.D	0.746	A.D
TNM Evresi	0.02	A	0.02	A
T Evresi	0.930	A.D	0.756	A.D
N Evresi	0.154	A.D	0.183	A.D
Dukes Evresi	0.121	A.D	0.112	A.D
Diferansiyasyon	0.409	A.D	0.746	A.D
Lenfatik İnvazyon	<i>0.790</i>	A.D	0.894	A.D
Perinöral İnvazyon	0.045	A	0.020	A
Venovasküler İnvazyon	0.173	A.D	0.233	A.D
Karaciğer Metastazı	0.000	A	0.000	A
Socs 1 Ekspresyonu	0.062	A.D	0.716	A.D
SOCS 1 Gen Polimorfizmi (DEL/DEL)	0.049	A	0.063	A.D

A.D: Anlamlı değil
A: Anlamlı

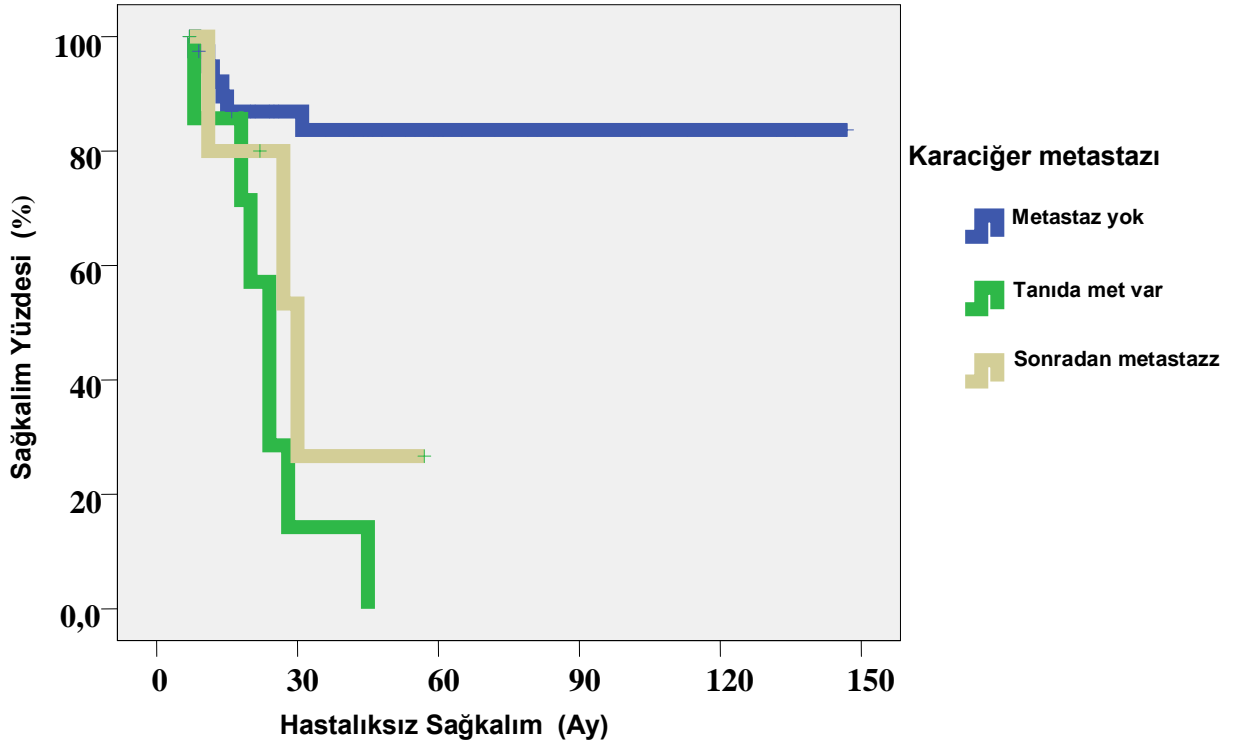


Şekil 7: Hasta grubundaki olguların SOC1 boyanması açısından (negatif ve pozitif) sayısal dağılımı.

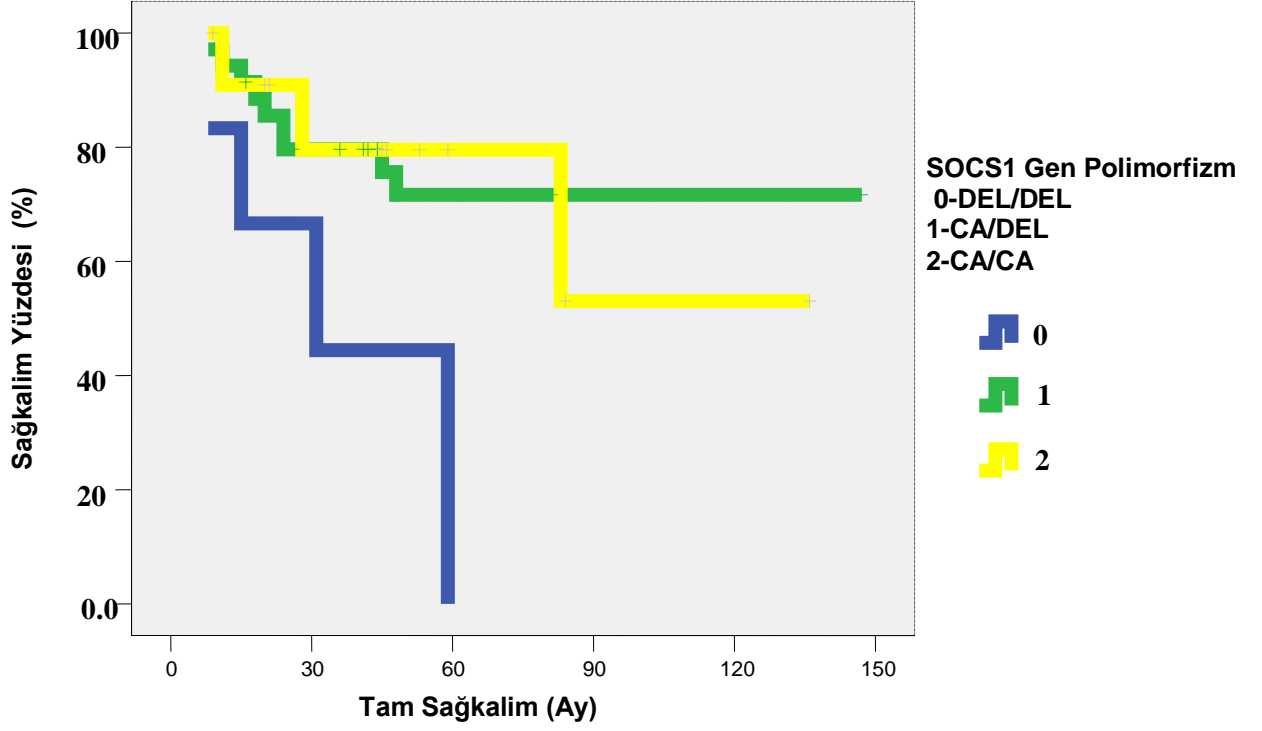


Şekil 8: Kolorektal kanserli olgularda SOCS1-1478 CA/DEL gen polimorfizmi dağılımı (%)

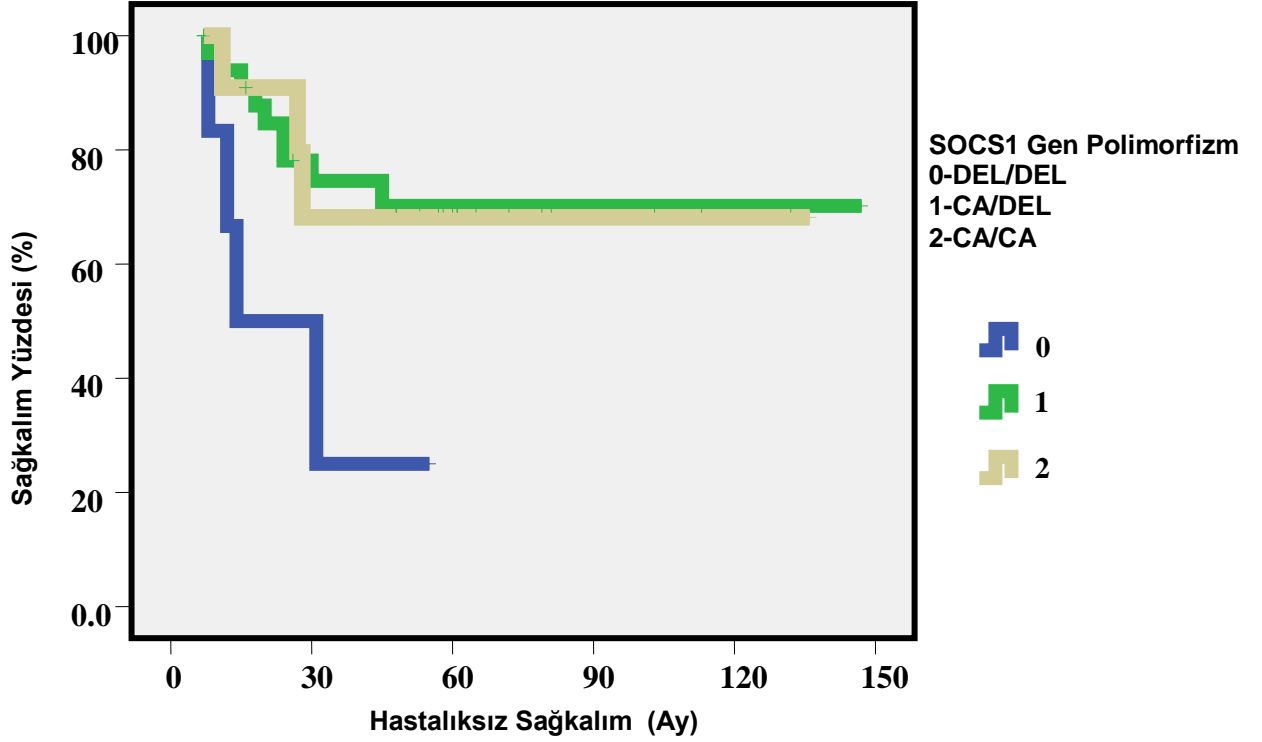
Şekil 9: Karaciğer Metastazı İlişkili Sağlıkım Analizi



Şekil 10: SOCS 1 Gen Polimorfizmi Tam Sağkalım Analizi



Şekil 11 SOCS1 Gen Polimorfizmi ve Hastalısız Sağkalım Analizi



TARTIŞMA VE SONUÇ

Karsinogenezin temelinde, hücrenin yaşaması, büyümenin kontrolü ve diferansiyasyon gibi biyolojik olayları etkileyen mutasyonların aşamalı olarak bir araya gelmesi yer almaktadır. Kanserin gelişimi sürecinde tümör hücreleri birçok fenotipik özellikler kazanır. Bu değişimler, tümör hücrelerinin hızlı ve sınırsız çoğalmalarına ve çevre dokuya yayılmalarına neden olur. Ayrıca, bu hücreler özgün mikroçevreden bağımsız olarak yaşamını devam ettirme ve metastaz yapma özelliğine sahiptir. Protoonkogenlerin ve tümör baskılayıcı genlerin seri mutasyonları farklı mekanizmalar aracılığıyla malign fenotipin oluşumuna katkıda bulunur. Sinyal iletimi yollarını ve sinyal proteinlerini hedef alan onkojenik mutasyonlara sık olarak rastlanmaktadır. Sinyal iletiminde meydana gelen değişimler hücrenin çoğalma ve/veya yaşama işlevlerinin kontrolünü ortadan kaldırır. Böylelikle, onkojenik sinyal iletimi tümör gelişimi ile invazyon/metastaz sürecinde etkin rol oynamaktadır.

Sitokin sinyal süpresör proteinleri sitokin sinyalinin inhibitörleridir ve ekspresyonları sadece JAK/STAT yolağı ile indüklenir. SOCS proteinlerinin keşfiyle sitokin-JAK-STAT yolağının negatif regülasyonu tanınmış, yapılan birçok çalışma ile SOCS proteinlerinin immünolojik ve patolojik birçok durumla olan ilişkisi ortaya konulmuştur (105). Sekiz CIS/SOCS proteini mevcuttur: CIS, SOCS 1, SOCS 2, SOCS 3, SOCS 4, SOCS 5, SOCS 6 VE SOCS 7 (106). SOCS proteinlerinden dördünün (CIS ve SOCS 1-3) fizyolojik işlevleri diğer kalan dört SOCS proteinine göre (SOCS 4-7) daha iyi ortaya konulabilmiştir.

İnvitro çalışmalar SOCS 1'in IFN- γ , IL-4, IL-6 ve IL-12 gibi çeşitli sitokinler tarafından aktive edilen farklı sinyal ileti yollarını inhibe edebildiğini göstermiştir. Yani, SOCS 1'in bu düzenleyici özellikleri tek bir özel sitokin sinyal ileti yoluyla sınırlı değildir (108). SOCS 1 eksik olan farelerin doğdukları anda normal iken büyümelerinin durduğu ve 3 hafta içinde ciddi lenfopeni, periferik T hücre aktivasyonu, karaciğer nekrozu ve ana organlarda makrofaj infiltrasyonu sonucu öldükleri gösterilmiştir (109,110). Hem SOCS 1 hem de IFN- γ

bulunmayan farelerin ise sadece SOCS 1 eksik farelerin gösterdiği letal fenotipe sahip olmadığı rapor edilmiştir (111). Bu durum IFN- γ regülasyonunun SOCS 1 tarafından düzenlendiğini ve kontrolsüz IFN- γ aktivitesinin letal fenotipin gelişmesine katkıda bulunduğunu düşündürmektedir.

SOCS 1 SH2 domaini ile direkt olarak JAK'larla etkileşerek onların tirozin kinaz aktivitesini inhibe edebilir (106). Ayrıca SOCS 1'in tip-I IFN reseptör ve IFN- γ reseptörüne de direkt olarak bağlanabildiği ve böylece çok düşük düzeylerde SOCS 1 ekspresyonları olduğunda bile IFN sinyalini baskılayabildiği rapor edilmiştir (112). SOCS 1 ekspresyonu STAT yolağını aktive eden sitokinlerin yanı sıra insülin, lipopolisakkarid (LPS), CpG DNA ve diğer bazı moleküller tarafından da indüklenebilir (113).

SOCS proteinlerinin kanser gelişiminde rol oynayabilecekleri birçok merkez tarafından bildirilmiştir. Kanser gelişimine büyüme faktörlerine aşırı cevaplılık göstermeleri ve onkogeneizde rol alan çeşitli sitokinler tarafından modüle edilmeleri sonucu neden oldukları düşünülmektedir. SOCS 1 ekspresyonunun hipermetilasyon sonucu azalması ile hepatosellüler karsinoma gelişebileceği veya progrese olabileceği gösterilmiştir (122). SOCS 1 gen DNA hipermetilasyonu kolon, mide, over, akciğer ve meme gibi birçok solid organ tümöründe saptanabilir ancak bu hepatosellüler karsinomdaki kadar sık değildir (105). Aynı zamanda SOCS1 ekspresyonunun lösemi, lenfoma ve multipl miyelom gibi hematolojik malignitelerdeki IFN direnci ile de ilişkili olduğu bulunmuştur (123).

Suppressor of cytokine signaling-1 (SOCS1) sitokin yanıtlarının fizyolojik düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve birçok insan kanserinde DNA metilasyonu ile oluşan SOCS1 gen sessizliği bulunmuştur.

Sporadik kolorektal kanserde en az iki yolak vardır birisi kromozomal instabilite (CIN) yolağı diğeri ise CpG island methylator phenotype (CIMP) (134). CIN yolağı kolorektal kanserlerin yaklaşık %80'inden sorumludur. Anöplodi ile adenom karsinom skansını devam ettirmek için gerekli genetik istikrarsızlığı sağlar (135). Kolorektal kanserde DNA metilasyonu iki temel değişiklik geçirir; Hipometilasyon ve hipermetilasyon. Kanserdeki metile genler

tip A (yaşla ilişkili genler) ve tip C (kanser spesifik genler) şeklinde karakterize edilmiştir (136).

Genellikle tip A genler hem normal hemde neoplastik dokuda metiledir. Metilasyon derecesi doku yaşı ile orantılıdır (136,137). Çoğu tip A genin hipermetilasyonu kolorektal karsinogenezisi direkt olarak etkilemeyebilir fakat doku yaşlanmasının bir indikatörü olabilir (136,137).

Ancak tip C genlerin metilasyonu neoplastik dokular için daha spesifiktir. CIN yolağının aksine CIMP kanserleri sıklıkla proksimal kolonda yerleşir adenomatöz poliplerden ziyade serrated poliplerden gelişir ve yaşlı bayanlarda daha siktir, survival ve tedavi sonuçları farklıdır (138).

Hanada ve arkadaşları insan kanserlerinin yaklaşık % 20'sinin kronik inflamasyondan kaynaklandığı bilgisinden hareketle çalışmalarında SOCS1 eksik farelerde 6 aylıkken spontan nükleer beta katenin ve p53 mutasyonu içeren kolorektal kanseri geliştiğini göstermişler ve SOCS 1'in inflamasyon ilişkili kolon kanserinde tümör supressör adaylardan biri olduğunu , SOCS 1 eksikliğinde STAT 3, NF-κB ve STAT 1 aktivasyonu' nun arttığını ifade etmişlerdir (139).

Prognosa göre tedavi planlaması gerekliliği kolorektal kanserde SOCS1'in prognoz belirleyici olup olmadığının araştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Birçok onkolojik hastalık hücre proliferasyonuna ve malign büyümeye katkıda bulunan artmış JAK/STAT aktivitesi ile ilişkili bulunmuştur (141). Hepatosellüler, pankreatik, akciğer, over ve meme kanserlerinde gen mutasyon ve delesyonlarına bağlı SOCS inaktivasyonu veya DNA hipermetilasyonu tarafından sessizleşmeye bağlı SOCS ekspresyonunda azalma sık bulunur (142,143,144,145,146). Tip C olarak ifade edilen genlerin metilasyonu neoplastik dokular için daha spesifiktir. Tip C'deki 5 belirteç (IGF2, CACNA1G, NEU-ROG1, SOCS1, RUNX3) CIMP paneli kapsamındadır ve kolon kanseri ile ilişkili bulunmuştur (147).

Lösemi ve lenfomayı içeren birçok hematolojik malignensi JAK-STAT yolağının yapısal aktivasyonunun baskılanması ile ilişkili bulunmuştur (148) Bu çalışmalar SOCS proteinlerinin tümör supressör fonksiyonlarının olduğunu

göstermektedir. Bu da SOCS ekspresyonunun forse edilmesinin bazı malignensilerde faydalı olabileceğine işaret etmektedir. SOCS proteinlerinin yapısal olarak ekspresyonu da tanımlanmış ve buda SOCS proteinlerinin koruyucu bir fonksiyonu olduğuna işaret etmektedir (149).

Klinik olarak literatürde SOCS1 ekspresyonu ve gen polimorfizmi ile TNM evresi, lenfatik, perinöral ve venovasküler invazyon varlığı, diferansiyasyon derecesi, tümör boyutu gibi klinikopatolojik özellikler arasındaki ilişkiyi irdeleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda immünohistokimyasal olarak SOCS1 ekspresyonu tümör dokusunda % 51, kontrol grubunda ise % 49 olarak tespit edilmiştir (Tablo 6). TNM evresi, diferansiyasyon, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu, Duke's evresi, cinsiyet, yaş, lenfovasküler, perinöral ve venovasküler invazyon gibi klinikopatolojik özellikler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ayrıca SOCS1 boyanmayan ve boyanan olgularla hastalıksız ve tam sağkalım arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Çok değişkenli analizlerde prognozun bağımsız belirleyicileri olarak TNM evresi, perinöral invazyon ve karaciğer metastaz varlığı belirlenmiştir (Tablo 10). Bulgularımız SOCS1'in prognozu belirleyici bir kriter olmadığı yönündedir.

Literatürde SOCS1 ekspresyonu ile kolorektal kanserin klinikopatolojik özellikleri arasında ilişkiyi ortaya koyan bir başka çalışma bulunmamaktadır. Kolorektal kanserler için bölgesel lenf nodu tutulumu, kanserin derinliği, nodal mikrometastaz, vasküler invazyon, diferansiyasyon ve karaciğer metastazı gibi belirgin prognostik faktörler vardır ve bunlar sağkalımı etkileyen faktörler arasında gösterilmiştir. Çalışmamızda da bağımsız prognostik faktör olarak TNM evresi, perinöral invazyon ve karaciğer metastazı bulunmuştur (Tablo 10).

Yine çalışmamızda SOCS1 1478 CA/DEL gen polimorfizmi ile kolorektal kanserli olguların yukarıda belirtilen klinikopatolojik özellikleri ile arasında ilişki olup olmadığı ve sağkalım ilişkisi ortaya konmaya çalışılmıştır. SOCS1 DEL/DEL (minör homozigot) gen polimorfizmi'nin hastalıksız sağkalım ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi olduğu bulunmuştur (P=0.049) (Tablo 10). SOCS1 DEL/DEL gen polimorfizmi olanların daha kötü prognoza sahip olduğu gösterilmiştir. SOCS1 1478 CA/DEL gen polimorfizmi ile diğer klinikopatolojik

özellikler arasında ilişki saptanmamıştır. Yine SOCS1'in immünohistokimyasal ekspresyonu ile SOCS1 1478 CA/DEL gen polimorfizmi arasında da anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. SOCS1 gen polimorfizmi alt grupları içinde en sık %66 oranla CA/DEL (heterozigot) gen polimorfizmi izlenmekte, bu oran kontrol grubunda da %64 olarak yakın bulunmuştur (Tablo 8).

Kolorektal Kanserlerde SOCS proteinlerinde meydana gelebilecek polimorfizm inflamatuvar süreç gelişimine katkıda bulunarak hastalık etyopatogenezinde yer alıyor olabilir.

Çalışmamızın sağkalım analizlerinde erken evre (TNM I-II) ve geç evrenin (TNM III-IV) hastalısız sağkalım (sırasıyla 135 ay, 71 ay) ve tam sağkalımla (sırasıyla 135 ay, 66 ay) ilişkili olduğu görüldü (her ikisi içinde $p = 0.02$). Geç evre prognozu kötü etkilemekte idi. Karaciğer metastazı olanlarda da prognozun anlamlı şekilde kötü olduğu görüldü. Karaciğer metastazı olanların ortalama sağkalımı 23.8 ay iken metastaz olmayanlarda 125.5 ay'dı ($p = 0.000$).

SOCS 1 gen polimorfizmi ile sağkalım arasındaki ilişkiye bakıldığında DEL/DEL gen polimorfizmi ile hastalısız sağkalım arasında anlamlı ilişki olduğu görüldü ($p=0.049$). DEL/DEL gen polimorfizmi olanlarda ortalama hastalısız sağkalım süresi 27 ay iken CA/DEL gen polimorfizmi olanlarda 110 ay, CA/CA gen polimorfizmi olanlarda ise 99.9 ay idi. SOCS 1 gen polimorfizmi ile tam sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ($P=0.063$). SOCS 1'in immünohistokimyasal ekspresyonu ile hastalısız ve tam sağkalım arasında anlamlı ilişki tespit edilemedi (sırasıyla P değerleri 0.062 ve 0.716 idi).

Çalışmamız kolorektal kanserli hastalarda SOCS1 ekspresyonu ve SOCS1 1478 CA/DEL gen polimorfizmini araştıran ilk çalışma olması nedeniyle önemlidir. Elde edilen veriler fazla sayıda olgu içeren çalışmalarla daha anlamlı sonuçlara ulaşılacağı kanaatini uyandırmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 1999;49(1):33-64.
2. Lieberman DA, Weiss DG, Bond JH, et al. Use of colonoscopy to screen asymptomatic adults for colorectal cancer. Veterans Affairs Cooperative Study Group 380. *N Engl J Med* 2000;343(3):162-168.
3. Libutti SK, Saltz LB, Tepper JE. Colon cancer. In; DeVita VT; Lawrence TS; Rosenberg SA (eds.). *Devita, Hellman and Rosenberg's Cancer: Principles and Practice of Oncology*, 8th Edition. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins; 2008. 1233-1285.
4. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1998. *CA Cancer J Clin* 1998;48(1):6-29.
5. <http://www.saglik.gov.tr/TR/belge/1-7179/kanser-istatistikleri.html>.
6. Jamal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007;57:43–66.
7. Nelson RL, Persky V, Turyk M. Determination of factors responsible for the declining incidence of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1999;42(6):741-752.
8. Laken SJ, Petersen GM, Gruber SB, et al. Familial colorectal cancer in Ashkenazim due to a hypermutable tract in APC. *Nat Genet* 1997;17(1):79-83.
9. Nelson RL, Dollear T, Freels S, Persky V. The relation of age, race, and gender to the subsite location of colorectal carcinoma. *Cancer* 1997;80(2):193-197.
10. Kempainen M, Raiha I, Sourander L. A marked increase in the incidence of colorectal cancer over two decades in southwest Finland. *J Clin Epidemiol* 1997;50(2):147-151.
11. Ji BT, Devesa SS, Chow WH, et al. Colorectal cancer incidence trends by subsite in urban Shanghai, 1972-1994. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7(8):661-666.
12. Fink D, Nebel S, Norris PS, et al. The effect of different chemotherapeutic agents on the enrichment of DNA mismatch repair-deficient tumour cells. *Br J Cancer* 1998;77(5):703-708.
13. Karnes WE Jr, Shattuck-Brandt R, Burgart LJ, et al. Reduced COX-2 protein in colorectal cancer with defective mismatch repair. *Cancer Res* 1998;58(23):5473-7.
14. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, et al. A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med* 1994;331(25):1669-74.
15. Pariente A, Milan C, Lafon J, Faivre J. Colonoscopic screening in first-degree relatives of patients with a sporadic colorectal cancer: a case-control study. The Association Nationale des Gastroenterologues des Hopitaux and Registre Bourguignon des Cancers Digestifs (INSERM CRI 9505). *Gastroenterology* 1998;115(1):7-12.

16. Winawer SJ, Zauber AG, Gerdes H, et al. Risk of colorectal cancer in the families of patients with adenomatous polyps. National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1996;334(2):82-87.
17. Ponz de Leon M, Scapoli C, Zanghieri G, et al. Genetic transmission of colorectal cancer: exploratory data analysis from a population based registry. *J Med Genet* 1992;29(8):531-8.
18. Harris MJ, Coggan M, Langton L, et al. Polymorphism of the Pi class glutathione S-transferase in normal populations and cancer patients. *Pharmacogenetics* 1998;8(1):27-31.
19. Chen J, Giovannucci E, Kelsey K, et al. A methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1996;56(21):4862-4.
20. Chen J, Stampfer MJ, Hough HL, et al. A prospective study of N-acetyltransferase genotype, red meat intake, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58(15):3307-11.
21. Singh PN, Fraser GE. Dietary risk factors for colon cancer in a low-risk population. *Am J Epidemiol* 1998;148(8):761-74.
22. Wilmink AB. Overview of the epidemiology of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1997;40(4):483-493.
23. Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, et al. Relation of meat, fat, and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women. *N Engl J Med* 1990;323(24):1664-72.
24. Caderni G, Palli D, Lancioni L, et al. Dietary determinants of colorectal proliferation in the normal mucosa of subjects with previous colon adenomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8(3):219-25.
25. Potter JD. Colorectal cancer: molecules and populations. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(11):916-32.
26. Howe GR, Aronson KJ, Benito E, et al. The relationship between dietary fat intake and risk of colorectal cancer: evidence from the combined analysis of 13 case-control studies. *Cancer Causes Control* 1997;8(2):215-28.
27. Burkitt DP. Epidemiology of cancer of the colon and rectum. 1971. *Dis Colon Rectum* 1993;36(11):1071-82.
28. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, et al. Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women. *N Engl J Med* 1999;340(3):169-76.
29. Schatzkin A, Lanza E, Corle D, et al. Lack of effect of a low-fat, high-fiber diet on the recurrence of colorectal adenomas. Polyp Prevention Trial Study Group. *N Engl J Med* 2000;342(16):1149-55.
30. Meyerhardt JA, Giovannucci EL, Holmes MD, et al. Physical activity and survival after colorectal cancer diagnosis. *J Clin Oncol* 2006;24(22):3527-34.
31. Meyerhardt JA, Heseltine D, Niedzwiecki D, et al. Impact of physical activity on cancer recurrence and survival in patients with stage III colon cancer: findings from CALGB 89803. *J Clin Oncol* 2006;24(22):3535-41.

32. Hartman TJ, Tangrea JA, Pietinen P, et al. Tea and coffee consumption and risk of colon and rectal cancer in middle-aged Finnish men. *Nutr Cancer* 1998;31(1):41-48.
33. Rosenberg L, Louik C, Shapiro S. Nonsteroidal antiinflammatory drug use and reduced risk of large bowel carcinoma. *Cancer* 1998;82(12):2326-33.
34. Rustgi AK. Hereditary gastrointestinal polyposis and nonpolyposis syndromes. *N Engl J Med* 1994;331(25):1694-702.
35. Spirio L, Olschwang S, Groden J, et al. Alleles of the APC gene: an attenuated form of familial polyposis. *Cell* 1993;75(5):951.
36. Burt RW. Familial risk and colorectal cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 1996;25(4):793.P.1280
37. Mitchell S. Cappell. Pathophysiology, Clinical Presentation, and Management of Colon Cancer. *Gastroenterol. Clin. N. Am* 37 (2008) 1-24.
38. Tsai CJ, Lu DK. Small colorectal polyps: histopathology and clinical significance. *Am J Gastroenterol* 1995;90:988-94.
39. Heald RJ, Bussey HJ. Clinical experiences at St. Mark's Hospital with multiple synchronous cancers of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum* 1975;18:6-10.
40. Cappell MS. From colonic polyps to colon cancer: pathophysiology, clinical presentation, and diagnosis. *Clin Lab Med* 2005;25:135-77.
41. Bussey HJR. Familial polyposis coli: family studies, histopathology, differential diagnosis and results of treatment. Baltimore (MD): Johns Hopkins University Press; 1975.
42. Stryker SJ, Wolff BG, Culp CE, et al. Natural history of untreated colonic polyps. *Gastroenterology* 1987;93:1009-13.
43. Jass JR. Hyperplastic polyps and colorectal cancer: is there a link? *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;2:1-8.
44. Higuchi T, Jass JR. My approach to serrated polyps of the colorectum. *J Clin Pathol* 2004;57:682-6.
45. Chulmska A, Boudova L, Zamecnik M. Sessile serrated adenomas of the large bowel: clinicopathologic and immunohistochemical study including comparison with common hyperplastic polyps and adenomas. *Cesk Patol* 2006;42:133-8.
46. Torlakovic E, Skovlund E, Snover DC, et al. Morphologic reappraisal of serrated colorectal polyps. *Am J Surg Pathol* 2003;27:65-81.
47. Spring KJ, Zhao ZZ, Karamatic R, et al. High prevalence of sessile serrated adenomas with BRAF mutations: a prospective study of patients undergoing colonoscopy. *Gastroenterology* 2006;131:1400-7.
48. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* 1993;260:816-9.
49. Brenner DA, editors. *Gastroenterology. Gastrointestinal basic science 2002-2003: the year in review.* *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;2:9-13.
50. Kane MF, Loda M, Gaida GM, et al. Methylation of the hMLH1 promoter correlates with lack of expression of hMLH1 in sporadic

- colon tumors and mismatch repair defective human tumor cell lines. *Cancer Res* 1997;57:808–11.
51. Kambara T, Simms LA, Whitehall VL, et al. BRAF mutation is associated with DNA methylation in serrated polyps and cancers of the colorectum. *Gut* 2004;53:1137–44.
 52. Hassan C, Zullo A, Riso M, et al. Histologic risk factors and clinical outcome in colorectal malignant polyp: a pooled-data analysis. *Dis Colon Rectum* 2005;48:1588–96.
 53. Kang H, O'Connell JB, Maggard MA, et al. A 10-year outcomes evaluation of mucinous and signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum* 2005;48:1161–8.
 54. Gryfe R. Clinical implications of our advancing knowledge of colorectal cancer genetics: inherited syndromes, prognosis, prevention, screening and therapeutics. *Surg Clin North Am* 2006;86:787–817.
 55. Gatalica Z, Torlakovic E. Pathology of the hereditary colorectal carcinoma. *Fam Cancer* 2007; [epub June 13].
 56. Janier M, Couderic LJ, Morel P, et al. Kaposi's disease in AIDS: 31 cases. *Ann Dermatol Venereol* 1987;114:185–202 [in French].
 57. Church JM. Clinical significance of small colorectal polyps. *Dis Colon Rectum* 2004;47:481–5.
 58. Cappell MS. The pathophysiology, clinical presentation, and diagnosis of colon cancer and adenomatous polyps. *Med Clin North Am* 2005;89:1–42.
 59. Jessup JM, McGinnis LS, Steele GD Jr, et al. The National Cancer Data Base: report on colon cancer. *Cancer* 1996;78:918–26.
 60. Cress RD, Morris CR, Wolfe BM. Cancer of the colon and rectum in California: trends in incidence by race/ethnicity, stage, and subsite. *Prev Med* 2000;31:447–53.
 61. Stein W, Farina A, Gaffney K, et al. Characteristics of colon cancer at time of presentation. *Fam Pract Res J* 1993;13(4):355–63.
 62. Rocklin MS, Senagore AJ, Talbott TM. Role of carcinoembryonic antigen and liver function tests in the detection of recurrent colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum* 1991;34(9):794–7.
 63. Stotland BR, Siegelman ES, Morris JB, Kochman ML. Preoperative and postoperative imaging for colorectal cancer. *Hematol Oncol Clin North Am* 1997;11(4):635–54.
 64. Villa E, Dugani A, Rebecchi AM, et al. Identification of subjects at risk for colorectal carcinoma through a test based on K-ras determination in the stool. *Gastroenterology* 1996;110(5):1346–53.
 65. Eguchi S, Kohara N, Komuta K, Kanematsu T. Mutations of the p53 gene in the stool of patients with resectable colorectal cancer. *Cancer* 1996;77(8 Suppl):1707–10.
 66. Compton CC. *Surgical Pathology of Colorectal Cancer*. Totowa, NJ: Humana Press, 2002.
 67. American Joint Committee on Cancer. *Colon and Rectum*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 2002.

68. Wolmark N, Fisher B, Wieand HS. The prognostic value of the modifications of the Dukes' C class of colorectal cancer. An analysis of the NSABP clinical trials. *Ann Surg* 1986;203(2):115.
69. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124(7):979.
70. AJCC (American Joint Committee on Cancer) Cancer Staging Manual, 7th ed, Edge, SB, Byrd, DR, Compton, CC, et al (Eds), Springer, New York 2010. p.133.
71. Dennis JA, Finlay AM. Clinical manifestations, diagnosis, and staging of colorectal cancer. *UpToDate* 19.1. January 2011.
72. Compton CC. Pathology and prognostic determinants of colorectal cancer. *UpToDate* 19.1. January 2011.
73. O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96:1420.
74. AJCC (American Joint Committee on Cancer) Cancer Staging Manual, 7th edition, Edge, SB, Byrd, DR, Compton, CC, et al (Eds) (Eds), Springer, New York 2010. p.143.
75. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124:979.
76. Tominaga T, Sakabe T, Koyama Y, et al. Prognostic factors for patients with colon or rectal carcinoma treated with resection only. Five-year follow-up report. *Cancer* 1996; 78:403.
77. Shepherd NA, Baxter KJ, Love SB. The prognostic importance of peritoneal involvement in colonic cancer: a prospective evaluation. *Gastroenterology* 1997; 112:1096.
78. Greene FL, Stewart AK, Norton HJ. A new TNM staging strategy for node-positive (stage III) colon cancer: an analysis of 50,042 patients. *Ann Surg* 2002; 236:416.
79. Chang GJ, Rodriguez-Bigas MA, Skibber JM, Moyer VA. Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: systematic review. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99:433.
80. Meyers, MO, Hollis, DR, Mayer, RJ, et al. Ratio of metastatic to examined lymph nodes is a powerful predictor of overall survival in rectal cancer: An analysis of Intergroup 0114 (abstract). *J Clin Oncol* 2007; 25:165s.
81. Ceelen W, Van Nieuwenhove Y, Pattyn P. Prognostic value of the lymph node ratio in stage III colorectal cancer: a systematic review. *Ann Surg Oncol* 2010; 17:2847.
82. Berger AC, Sigurdson ER, LeVoyer T, et al. Colon cancer survival is associated with decreasing ratio of metastatic to examined lymph nodes. *J Clin Oncol* 2005; 23:8706.
83. Tsikitis VL, Larson DL, Wolff BG, et al. Survival in stage III colon cancer is independent of the total number of lymph nodes retrieved. *J Am Coll Surg* 2009; 208:42.

84. Bui L, Rempel E, Reeson D, Simunovic M. Lymph node counts, rates of positive lymph nodes, and patient survival for colon cancer surgery in Ontario, Canada: a population-based study. *J Surg Oncol* 2006; 93:439.
85. Baxter NN, Virnig DJ, Rothenberger DA, et al. Lymph node evaluation in colorectal cancer patients: a population-based study. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97:219.
86. Bilimoria KY, Bentrem DJ, Stewart AK, et al. Lymph node evaluation as a colon cancer quality measure: a national hospital report card. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100:1310.
87. Lo DS, Pollett A, Siu LL, et al. Prognostic significance of mesenteric tumor nodules in patients with stage III colorectal cancer. *Cancer* 2008; 112:50.
88. Waldman, S, Hyslop, T, Schulz, S, et al. A prospective multicenter study of guanyl cyclase C (GCC), quantified by the reverse transcriptase-polymerase chain reaction (qRT-PCR), as a prognostic marker of occult metastases in lymph nodes of pN0 colorectal cancer patients (abstract). *J Clin Oncol* 2008; 26:580s.
89. Takahashi Y, Tucker SL, Kitadai Y, et al. Vessel counts and expression of vascular endothelial growth factor as prognostic factors in node-negative colon cancer. *Arch Surg* 1997; 132:541.
90. Takebayashi Y, Aklyama S, Yamada K, et al. Angiogenesis as an unfavorable prognostic factor in human colorectal carcinoma. *Cancer* 1996; 78:226.
91. Minsky BD, Mies C, Rich TA, Recht A. Lymphatic vessel invasion is an independent prognostic factor for survival in colorectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989; 17:311.
92. Wittekind C, Compton CC, Greene FL, Sobin LH. TNM residual tumor classification revisited. *Cancer* 2002; 94:2511.
93. Wolmark N, Fisher B, Wieand HS, et al. The prognostic significance of preoperative carcinoembryonic antigen levels in colorectal cancer. Results from NSABP (National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project) clinical trials. *Ann Surg* 1984; 199:375.
94. Locker GY, Hamilton S, Harris J, et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24:5313.
95. Griffin MR, Bergstralh EJ, Coffey RJ, et al. Predictors of survival after curative resection of carcinoma of the colon and rectum. *Cancer* 1987; 60:2318.
96. Nagtegaal ID, Quirke P. What is the role for the circumferential margin in the modern treatment of rectal cancer? *J Clin Oncol* 2008; 26:303.
97. Rödel C, Martus P, Papadopoulos T, et al. Prognostic significance of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23:8688.
98. Ofner D, Riedmann B, Maier H, et al. Standardized staining and analysis of argyrophilic nucleolar organizer region associated proteins (AgNORs) in radically resected colorectal adenocarcinoma-correlation with tumour stage and long-term survival. *J Pathol* 1995; 175:441.

- 99.Lanza G, Gafà R, Santini A, et al. Immunohistochemical test for MLH1 and MSH2 expression predicts clinical outcome in stage II and III colorectal cancer patients. *J Clin Oncol* 2006; 24:2359.
- 100.Watanabe T, Wu TT, Catalano PJ, et al. Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2001; 344:1196.
- 101.Halvorsen TB, Seim E. Association between invasiveness, inflammatory reaction, desmoplasia and survival in colorectal cancer. *J Clin Pathol* 1989; 42:162.
- 102.Goldstein NS, Hart J. Histologic features associated with lymph node metastasis in stage T1 and superficial T2 rectal adenocarcinomas in abdominoperineal resection specimens. Identifying a subset of patients for whom treatment with adjuvant therapy or completion abdominoperineal resection should be considered after local excision. *Am J Clin Pathol* 1999; 111:51.
- 103.Bazan V, Migliavacca M, Zanna I, et al. DNA ploidy and S-phase fraction, but not p53 or NM23-H1 expression, predict outcome in colorectal cancer patients. Result of a 5-year prospective study. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; 128:650.
- 104.Gaffey MJ, Mills SE, Lack EE. Neuroendocrine carcinoma of the colon and rectum. A clinicopathologic, ultrastructural, and immunohistochemical study of 24 cases. *Am J Surg Pathol* 1990; 14:1010.
- 105.Yoshimura A, Nishinakamura H, Matsumura Y, Hanada T. Negative regulation of cytokine signaling and immune responses by SOCS proteins. *Arthritis Res Ther* 2005; 7: 100-10.
- 106.Oral HB. Sitokin Sinyal Süpresörleri ve Hastalıklarla ilişkisi. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2007; 43: 26-32.
- 107.Yoshimura A, Ohkubo T, Kiguchi T, Jenkins NA, Gilbert DJ, Copeland NG, et al. A novel cytokine-inducible gene CIS encodes an SH2-containing protein that binds to tyrosine-phosphorylated interleukin 3 and erythropoietin receptors. *EMBO J* 1995; 14: 2816-26.
- 108.Kawazoe Y, Naka T, Fujimoto M, Kohzaki H, Morita Y, Narazaki M, et al. Signal transducer and activator of transcription (STAT)-induced STAT inhibitor 1 (SSI-1)/suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) inhibits insulin signal transduction pathway through modulating insulin receptor substrate 1 (IRS-1) phosphorylation. *J Exp Med* 2001; 193: 263-9.
- 109.Naka T, Matsumoto T, Narazaki M, Fujimoto M, Morita Y, Ohsawa Y, et al. Accelerated apoptosis of lymphocytes by augmented induction of Bax in SSI-1 (STAT-induced STAT inhibitor-1) deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 15577-82.

- 110.. Starr R, Metcalf D, Elefanty AG, Brysha M, Willson TA, Nicola NA, et al. Liver degeneration and lymphoid deficiencies in mice lacking suppressor of cytokine signaling-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 14395-9.
- 111.Alexander WS, Starr R, Fenner JE, Scott CL, Handman E, Sprigg NS, et al. SOCS1 is a critical inhibitor of interferon gamma signaling and prevents the potentially fatal neonatal actions of this cytokine. *Cell* 1999; 98: 597-608.
- 112.Fenner JE, Starr R, Cornish AL, Zhang JG, Metcalf D, Schreiber RD, et al. Suppressor of cytokine signaling 1 regulates the immune response to infection by a unique inhibition of type I interferon activity. *Nat Immunol* 2006; 7: 33-9.
- 113.Tan JC, Rabkin R. Suppressors of cytokine signaling in health and disease. *Pediatr Nephrol* 2005; 20: 567-75.
- 114.Greenhalgh CJ, Alexander WS. Suppressors of cytokine signalling and regulation of growth hormone action. *Growth Horm IGF Res* 2004; 143: 200-6.
- 115.Greenhalgh CJ, Metcalf D, Thaus AL, Corbin JE, Uren R, Morgan PO, et al. Biological evidence that SOCS-2 can act either as an enhancer or suppressor of growth hormone signaling. *J Biol Chem* 2002; 277: 40181-4.
- 116.Greenhalgh CJ, Bertolino P, Asa SL, Metcalf D, Corbin JE, Adams TE, et al. Growth enhancement in suppressor of cytokine signaling 2 (SOCS-2)-deficient mice is dependent on signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5b). *Mol Endocrinol* 2002; 16: 1394-406.
- 117.Ridderstrale M, Groop L. Differential phosphorylation of Janus kinase 2, Stat5A and Stat5B in response to growth hormone in primary rat adipocytes. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 183: 49-54.
- 118.Sasaki A, Yasukawa H, Suzuki A, Kamizono S, Syoda T, Kinjyo I, et al. Cytokine-inducible SH2 protein-3 (CIS3/SOCS3) inhibits Janus tyrosine kinase by binding through the N-terminal kinase inhibitory region as well as SH2 domain. *Genes Cells* 1999; 4: 339-51.
- 119.Yoshimura A, Naka T, Kubo M. SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 454-65.
- 120.Croker BA, Krebs DL, Zhang JG, Wormald S, Willson TA, Stanley EG, et al. SOCS3 negatively regulates IL-6 signaling in vivo. *Nat Immunol* 2003; 4: 540-5.
- 121.Fujimoto M, Naka T. Regulation of cytokine signaling by SOCS family molecules. *Trends Immunol* 2003; 24: 659-66.

122. Yoshikawa H, Matsubara K, Qian GS, Jackson P, Groopman JD, Manning JE, et al. SOCS-1, a negative regulator of the JAK/STAT pathway, is silenced by methylation in human hepatocellular carcinoma and shows growth-suppression activity. *Nat Genet* 2001; 28: 29-35.
123. Sakamoto H, Kinjyo I, Yoshimura A. The janus kinase inhibitor, Jab/SOCS-1, is an interferon-gamma inducible gene and determines the sensitivity to interferons. *Leuk Lymphoma* 2000; 38: 49-58.
124. Yasukawa H, Yajima T, Duplain H, Iwatate M, Kido M, Hoshijima M, et al. The suppressor of cytokine signaling-1 (SOCS1) is a novel therapeutic target for enterovirus-induced cardiac injury. *J Clin Invest* 2003; 111: 469-78.
125. Bullen DV, Hansen DS, Siomos MA, Schofield L, Alexander WS, Handman E. The lack of suppressor of cytokine signalling-1 (SOCS1) protects mice from the development of cerebral malaria caused by *Plasmodium berghei* ANKA. *Parasite Immunol* 2003; 25: 113-8.
126. Yamana J, Yamamura M, Okamoto A, Aita T, Iwahashi M, Sunahori K, et al. Resistance to IL-10 inhibition of interferon gamma production and expression of suppressor of cytokine signaling 1 in CD4+ T cells from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: R567-77.
127. Yoshida T, Ogata H, Kamio M, Joo A, Shiraishi H, Tokunaga Y, et al. SOCS1 is a suppressor of liver fibrosis and hepatitis-induced carcinogenesis. *J Exp Med* 2004; 199: 1701-7.
128. Flowers LO, Subramaniam PS, Johnson HM. A SOCS-1 peptide mimetic inhibits both constitutive and IL-6 induced activation of STAT3 in prostate cancer cells. *Oncogene* 2005; 24: 2114-20.
129. Yang R, Yang X, Zhang Z, Zhang Y, Wang S, Cai Z, et al. Single-walled carbon nanotubes-mediated in vivo and in vitro delivery of siRNA into antigen-presenting cells. *Gene Ther* 2006; 13: 1714-23.
130. Ueki K, Kadowaki T, Kahn CR. Role of suppressors of cytokine signaling SOCS-1 and SOCS-3 in hepatic steatosis and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2005; 33: 185-92.
131. Jamieson E, Chong MM, Steinberg GR, Jovanovska V, Fam BC, Bullen DV, et al. Socs1 deficiency enhances hepatic insulin signaling. *J Biol Chem* 2005; 280: 31516-21.
132. Brady MJ. IRS2 takes center stage in the development of type 2 diabetes. *J Clin Invest* 2004; 114: 886-8.
133. Gylvin T, Ek J, Nolsoe R, Albrechtsen A, Andersen G, Bergholdt R, et al. Functional SOCS1 polymorphisms are associated with variation in obesity in whites. *Diabetes Obes Metab* 2009; 11: 196-203.

134. Issa JP. Colon cancer: it's CIN or CIMP. *Clin Cancer Res* 2008;14: 5939–5940.
135. Grady WM, Carethers JM. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 2008;135: 1079–1099.
136. Toyota M, Issa JP. CpG island methylator phenotypes in aging and cancer. *Semin Cancer Biol* 1999; 9: 349–357.
137. Ahuja N, Issa JP. Aging, methylation and cancer. *Histol Histopathol* (2000). 15: 835–842.
138. Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, Kawasaki T, Meyerhardt JA, Loda M. CpG island methylator phenotype, microsatellite instability, BRAF mutation and clinical outcome in colon cancer. *Gut* 2009; 58: 90–96.
139. Hanada T, Kobayashi T, Chinen T, Saeki K, Takaki H, Koga K, Minoda Y, Sanada T, Yoshioka T, Mimata H, Kato S, Yoshimura A. IFN γ -dependent, spontaneous development of colorectal carcinomas in SOCS1-deficient mice. *J Exp Med*. 2006 Jun 12;203(6):1391-7. Epub 2006 May 22.
140. Worthley DL, Whitehall VL, Le Leu RK, Irahara N, Buttenshaw RL, Mallitt KA, Greco SA, Ramsnes I, Winter J, Hu Y, Ogino S, Young GP, Leggett BA. DNA methylation within the normal colorectal mucosa is associated with pathway-specific predisposition to cancer. *Dig Dis Sci*. 2011 Feb;56(2):387-96.
141. Chai, S. K., Nichols, G. L., and Rothman, P. Constitutive activation of JAKs and STATs in BCR-Abl-expressing cell lines and peripheral blood cells derived from leukemic patients. *J Immunol* 1997;159, 4720-4728.
142. Farabegoli, F., Ceccarelli, C., Santini, D., and Taffurelli, M. Suppressor of cytokine signalling 2(SOCS-2) expression in breast carcinoma. *J Clin Pathol* 2005; 58, 1046-1050.
143. He, B., You, L., Uematsu, K., Zang, K., Xu, Z., Lee, A. Y., Costello, J. F., McCormick, F., and Jablons, D. M.. SOCS-3 is frequently silenced by hypermethylation and suppresses cell growth in human lung cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100, 14133-14138.
144. Komazaki, T., Nagai, H., Emi, M., Terada, Y., Yabe, A., Jin, E., Kawanami, O., Konishi, N., Moriyama, Y., Naka, T., and Kishimoto, T. Hypermethylation-associated inactivation of the SOCS-1 gene, a JAK/STAT inhibitor, in human pancreatic cancers. *Jpn J Clin Oncol* 2004; 34, 191-194.
145. Nagai, H., Naka, T., Terada, Y., Komazaki, T., Yabe, A., Jin, E., Kawanami, O., Kishimoto, T., Konishi, N., Nakamura, M., et al.. Hypermethylation associated with inactivation of the SOCS-1 gene, a

JAK/STAT inhibitor, in human hepatoblastomas. *J Hum Genet* 2003 48, 65-69.

146. Yoshikawa, H., Matsubara, K., Qian, G. S., Jackson, P., Groopman, J. D., Manning, J. E., Harris, C.C., and Herman, J. G. SOCS-1, a negative regulator of the JAK/STAT pathway, is silenced by methylation in human hepatocellular carcinoma and shows growth-suppression activity. *Nat Genet.* 2001; 28, 29-35.

147. Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, Kawasaki T, Meyerhardt JA, Loda M et al. CpG island methylator phenotype, microsatellite instability, BRAF mutation and clinical outcome in colon cancer. *Gut* 2009; 58: 90–96.

148. Watanabe, D., Ezoe, S., Fujimoto, M., Kimura, A., Saito, Y., Nagai, H., Tachibana, I., Matsumura, I. Tanaka, T., Kanegane, H., et al. . Suppressor of cytokine signalling-1 gene silencing in acute myeloid leukaemia and human haematopoietic cell lines. *Br J Haematol* 2004; 126, 726-735.

149. Evans, M. K. Yu, C. R. Lohani, A., Mahdi, R. M., Liu, X. Trzeciak, A. R., and Egwuagu, C. E. Expression of SOCS1 and SOCS3 genes is differentially regulated in breast cancer cells in response to proinflammatory cytokine and growth factor signals. *Oncogene* 2007 26, 1941-1948.

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması sırasında desteğiyle çalışmalarına yön veren, asistanlığımın başından itibaren maddi ve manevi desteğini hep hissettiğim, aynı zamanda tez danışmanım olan Sayın Prof. Dr. Enver DOLAR'a sabrı, eksik etmediği ilgisi ve bana öğrettiği her şey için teşekkür ederim. Uzmanlık eğitimim süresince yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen, bilim ve insanlık adına hepsinden de ayrı ayrı çok şey öğrendiğim başta İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Selim Giray NAK olmak üzere, diğer hocalarım Sayın Prof. Dr. Macit GÜLTEN, Sayın Prof. Dr. Selim GÜREL ve Sayın Doç. Dr. Murat KIYICI'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim. Sayın Prof. Dr.Ömer YERCİ, Sayın Prof. Dr. Barbaros ORAL ve Sayın Doç. Dr. Şaduman Balaban ADIM'a yardımları ve tezime olan katkılarından dolayı teşekkür ederim. Yine tezimde katkılarından dolayı Patoloji Bölümünden Sayın Ayşe AKBAŞ, Mikrobiyoloji Bölümünden Sayın Figen AYMAK ve Biyoistatistik Bölümünden Sayın Dr. Şengül CANGÜR 'e teşekkür ederim. Ayrıca çalışma arkadaşlarım Uzm. Dr. Murat KESKİN, Uzm. Dr. Ahmet Tarık EMİNLER ve Uzm. Dr. Çınar YILDIRIM'a dostlukları, yardımları ve sabırları için teşekkür ederim. İhtisasım süresince emeklerini hiç esirgemeyen, güler yüzleri ile hep yanımda olan Gastroenteroloji Bilim Dalında çalışan hemşirelerimiz başta Gülnaz ÇALIŞKAN, Remziye TUNA, Gülseren YILMAZ, Nermin Mutlu ÖZGÜR olmak üzere tüm hemşire, personel ve sekreteryadaki arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan, desteklerini esirgemeyen ve bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan annem İhsaniye ve babam Yusuf AYYILDIZ olmak üzere tüm aileme sonsuz teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

Yozgat ili Boğazlıyan ilçesinde 1969 yılında doğmuşum. İlk, orta ve lise tahsilimi Kayseride yaptım. Takiben öğrenci seçme ve yerleştirme sınavı ile Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesine girdim. 1995 yılında mezun oldum. 1996-1997 yıllarında Niğde ili Çamardı kazasında Pratisyen Hekim olarak görev yaptım. 1998 yılında Tıpta Uzmanlık Sınavı ile Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları bölümünde uzmanlık eğitimine başladım. 2000 yılında Kıbrıs'ta askerlik görevimi yaptım. 2003 yılında " Mide kanserinde COX-2 ve CD31 ekspresyonunun prognostik önemi" isimli tezimi vererek İç Hastalıkları Uzmanı oldum. 2003 ve 2006 yılları arasında Ankara'da bir özel hastanede serbest hekim olarak çalıştım. 2006 ve 2007 yılları arasında 15 ay süre ile Başkent Üniversitesi Gastroenteroloji Bölümünde İç Hastalıkları uzmanı olarak görev yaptım. Aralık 2007 yılında ilk kez yapılan Yan Dal Uzmanlık Sınavı ile Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bölümünde yan dal uzmanlık eğitimine başladım. Halen aynı üniversitede ihtisasıma devam etmekteyim.