

**T.C**  
**ZONGULDAK KARAEMLAS ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KOLOREKTAL KANSERLERDE PLAZMA TROMBOMODULİN VE**  
**SOLUBLE ENDOTELYAL PROTEİN C RESEPTÖR**  
**(sEPCR) DÜZEYLERİ**

**Dr. Serap ÜNAL TİLKİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Doç. Dr. Hüseyin ENGİN**

**ZONGULDAK**

**2010**

**T.C**  
**ZONGULDAK KARAEMLAS ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KOLOREKTAL KANSERLERDE PLAZMA TROMBOMODULİN VE**  
**SOLUBLE ENDOTELYAL PROTEİN C RESEPTÖR**  
**(sEPCR) DÜZEYLERİ**

**Dr. Serap ÜNAL TİLKİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Doç. Dr. Hüseyin ENGİN**

**ZONGULDAK**

**2010**

## TEZ ONAY TUTANAĐI

**Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte:** Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi

**Tez Başlığı :** Kolorektal Kanserlerde Plazma Trombomodulin ve Soluble Endotelyal Protein C Reseptör (sEPCR) Düzeyleri

**Tez Yazarı :** Arř. Gör. Dr. Serap ÜNAL TILKI

**Tez Savunma Tarihi:** 06/09/2010

**Tez Danışmanı :** Doç. Dr. Hüseyin ENGİN

Prof. Dr. Yücel ÜSTÜNDAĞ  
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Hüseyin ENGİN  
Üye

Doç. Dr. Eyyüp KÜLAH  
Üye

Doç. Dr. Hasan ÜSTÜN  
Üye

Yrd. Doç. Dr. Ayla GÖKMEN AKÖZ  
Üye

UYGUNDUR

06/09/2010

Prof. Dr. A. Eksal KARGI  
Dekan V.

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden her zaman yararlandığım, yetişmemde emekleri olan değerli hocalarım Prof. Dr. Yücel ÜSTÜNDAĞ, Doç. Dr. Selim AYDEMİR, Doç. Dr. Eyüp KÜLAH, Doç. Dr. Hulusi ATMACA, Doç. Dr. Taner BAYRAKTAROĞLU, Yrd. Doç. Dr. Ayla GÖKMEN'e teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez danışmanım olan ve bu çalışma süresinde benim için yardımını esirgemeyen Doç. Dr. Hüseyin ENGİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Rotasyonlarım sırasında bilgi ve tecrübeleri ile eğitimime katkıda bulunan Prof. Dr. Meltem TOR, Prof. Dr. Deniz AKDUMAN, Doç. Dr. Mustafa AYDIN, Doç. Dr. Görkem MUNGAN'a teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanması sırasındaki destekleri için Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Vildan SÜMBÜLOĞLU ve tezimin istatistik çalışmaları boyunca yardımcı olan Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim görevlisi Füzüzan KÖKTÜRK'e,

Tezimin oluşturulmasında katkılarından dolayı İmmünoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. İshak Ö. TEKİN'e

Berber çalışmaktan mutluluk ve onur duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma ve diğer sağlık çalışanlarına,

Sevgi ve destekleriyle hep yanımda olan, bugünlerimin ve hayallerimin yapılanmasındaki her türlü desteklerinden dolayı canım annem Sadiye ÜNAL ve güzel kardeşim Selda ÜNAL'a,

Son 8 yıldır hayatıma daha güzel bir anlam katan, şimdiye kadar karşılaştığım tüm zorluklara benimle birlikte katlanan, hayat arkadaşım, eşim Umut TİLKİ'ye gönülden sonsuz teşekkürler...

Dr. Serap ÜNAL TİLKİ  
ZONGULDAK, 2010

## ÖZET

### **Serap Ünal, Kolorektal Kanselerde Plazma Trombomodulin ve Soluble Endotelial Protein C Reseptör (sEPCR) Düzeyleri, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi. Zonguldak, 2010.**

Kolorektal kanserler dünyada en sık görülen kanserlerden biri olup, günümüzde gelişiminde ve metastazında rol alan faktörler daha iyi bilinmektedir. Hemostatik sistem komponentlerindeki kanser biyolojisinde önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır. Protein C yolunun en önemli komponentleri trombomodulin (TM) ve endotelial protein C reseptörü (EPCR)'dür. Bu iki proteinin kanser gelişiminin düzenlenmesinde ve metastazda rolü olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca soluble EPCR'nin yükselmiş plazma seviyesinin artmış tromboz riski ile ilişkili olabileceği kabul edilmektedir. Bizim çalışmamızın amacı, yeni tanı kolorektal kanserli hastalarda plazma soluble TM ve EPCR düzeylerinin, hem sağlıklı kontrol grubu ile hem de hastaların tanı anındaki evresi ve metastatik durumuyla ilişkisini belirlemektir. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Onkoloji Polikliniğine başvuran yeni tanı 50 kolorektal kanserli hasta ile yaş ve cinsiyet açısından benzer 50 sağlıklı birey çalışmaya alındı. Kolorektal kanserli hasta grubunda hem ortalama sTM düzeyleri (21,3±22,8 ng/ml vs. 13,2±16,2 ng/ml, p=0.01) hem de ortalama sEPCR düzeyleri (149,9±79,6 ng/ml vs. 113,3±49,3 ng/ml, p=0.007) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Ancak, kolorektal kanserli hastalarda tümör lokalizasyonuna, evresine, tümör diferansiyasyonuna, lenfovasküler invazyon durumuna, mikrovasküler trombus varlığına göre yapılan karşılaştırmada anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05). Tanı anında metastazı olan grupla, non-metastatik grup karşılaştırıldığında da her iki proteinin plazma düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05). Takip süresince hiçbir hastada tromboembolik olay gelişmedi. Çalışmamızın sonuçlarına göre, TM ve EPCR'nin plazma seviyeleri kolorektal kanserli hastalarda artmış olup, bu daha önce değişik kanser türlerinde yapılan çalışmaları desteklemektedir. Ayrıca bu çalışma; kolorektal kanserli hastalarda plazma soluble EPCR seviyelerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Daha fazla sayıda hasta içeren, dokuda da TM ve EPCR ekspresyonuna bakıldığı, tedavi öncesi ve sonrası da plazma ile doku düzeylerinin araştırıldığı daha büyük çapta çalışmalar yapılmasının bu konuda ek katkılar sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Trombomodulin, Soluble Endotelial Protein C Reseptör, Kolorektal Kanser

## ABSTRACT

**Serap Ünal. Plasma thrombomodulin and soluble endothelial protein C receptor levels in colorectal cancer, Zonguldak Karaelmas University Faculty of Medicine, Internal Medicine Specialist Thesis. Zonguldak, 2010.**

Colorectal cancer is one of the most frequently seen cancer in the world and factors responsible for its development and progression are well known. Components of the hematopoietic system are believed to play an important role in cancer biology. Most important components of the protein C pathway are thrombomodulin (TM) and endothelial protein C receptor (EPCR). These two proteins are thought to play important roles in tumor and metastasis development. In addition it is widely accepted that increased plasma levels of soluble EPCR might be related with increased thrombosis risk. In this study we aimed to investigate the relation of plasma soluble TM and EPCR levels with healthy control group and with stage and metastasis at the time of diagnosis in colorectal cancer patients. 50 healthy age and sex matched persons and 50 colorectal cancer patients who were seen in the outpatient Oncology clinic at Zonguldak Karaelmas University Faculty of Medicine hospital were enrolled. Both mean sTM ( $21,3 \pm 22,8$  ng/ml vs.  $13,2 \pm 16,2$  ng/ml,  $p=0.01$ ) and mean sEPCR values ( $149,9 \pm 79,6$  ng/ml vs.  $113,3 \pm 49,3$  ng/ml,  $p=0.007$ ) were found to be increased statistically significantly in colorectal cancer patients. But no relationship could be found with regard to tumor localization, stage, tumor differentiation, lymphovascular invasion and microvasculer thrombus between values in colorectal cancer patients ( $p>0.05$ ). When the plasma levels of both proteins at the time of diagnosis were compared between non-metastasis and metastasis groups no statistically significant difference could be found ( $p>0.05$ ). During follow-up no thromboembolic event developed in any patient. The results of this study show that plasma levels of TM and EPCR increased in colorectal cancer patients supporting the results of previous studies conducted in different tumors. Moreover this study is the first study where the plasma soluble EPCR levels were investigated in colorectal cancer patients. In conclusion studies where more numbers of patients are included, where also the tissue levels of TM and EPCR are studied pre- and post- treatment are needed to shed further light on this issue.

**Keywords:** Soluble Thrombomodulin, soluble endothelial protein C receptor, colorectal cancer

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ .....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	vii
TABLO DİZİNİ.....	viii
ŞEKİL DİZİNİ.....	ix
GRAFİK DİZİNİ .....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Kolorektal Kanserler .....	3
2.1.1. Epidemiyoloji.....	3
2.1.2. Etiyoloji .....	4
2.1.3. Karsinogenez.....	5
2.1.4. Klinik Bulgular ve Tanı .....	8
2.1.5. Evreleme .....	8
2.1.6. Tedavi .....	8
2.2. Koagülasyon Kaskadı (Sekonder Hemostaz) .....	9
2.2.1. Koagülasyonun Kontrolü.....	12
2.3. Protein C Yolu .....	13
2.3.1. Trombomodulin ve Soluble Trombomodulin .....	16
2.3.2. Endotelyal Protein C Reseptörü (EPCR) ve Soluble EPCR (sEPCR) .....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	21
3.1. İstatistiksel Yöntem.....	22
4. BULGULAR .....	23
5. TARTIŞMA.....	29
KAYNAKLAR.....	35
8. EKLER .....	45
Ek 1: Etik Kurul Onayı .....	45

## SİMGELER VE KISALTMALAR

APC	: Aktive Protein C
ARDS	: Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu
CEA	: Karsinoembriyonik Antijen
DCC	: Kolon Kanseri Delesyon Geni
DIC	: Dissemine İntravasküler Koagülasyon
EPCR	: Endotelial Protein C Reseptörü
FAP	: Ailesel Adenomatöz Polipozis
FDA	: Fibrin Yıkım Ürünleri
GBM	: Glioblastoma Multiforme
HCC	: Hepatosellüler Karsinom
HNPCC	: Herediter Non Polipozis Kolon Kanseri
IL	: İnterlökin
MMR	: Mismatch Onarım Geni
NF- $\kappa\beta$	: Nükleer faktör $\kappa\beta$
PAI-1	: Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
PC	: Protein C
PS	: Protein S
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozis
sEPCR	: Soluble Endotelial Protein C Reseptörü
sTM	: Soluble Trombomodulin
T	: Trombin
TAFI	: Trombinle aktive olan fibrinoliz inhibitörü
TF	: Doku Faktörü
TFPI	: Doku Faktör Yolu İnhibitörü
TM	: Trombomodulin
TNF $\alpha$	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
t-PA	: Doku Tipi Plazminojen Aktivatörü
u-PA	: Ürokinaz Tipi Plazminojen Aktivatörü

## TABLO DİZİNİ

<b><u>Tablo</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
Tablo 1: Pıhtılaşma Faktörleri.....	9
Tablo 2: Grupların demografik verileri.....	23
Tablo 3: Kolorektal kanserli hasta ve kontrol gruplarında ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri.....	23
Tablo 4: Hasta ve kontrol grubunda cinsiyete göre ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri.....	25
Tablo 5: Hasta grubunda tümörün lokalizasyonuna göre ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri.....	26
Tablo 6: Tanı anında metastazı olan ve olmayan kolorektal kanserli grupta ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri.....	26
Tablo 7: Kolorektal kanserli hastalarda evrelere göre ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri.....	27
Tablo 8: Opere kolorektal kanserli hastalarda tümör diferansiyasyonuna göre ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri. ....	27
Tablo 9: Opere kolorektal kanserli hastalarda lenfovasküler invazyon durumuna göre ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri. ....	28
Tablo 10: Opere kolorektal kanserli hastalarda mikrovasküler trombüs varlığına göre ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri. ....	28

## ŞEKİL DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Kolorektal Kanser Yerleşim Yerleri. ....	3
Şekil 2. Adenom – Karsinom gelişim süreci.....	7
Şekil 3. Koagülasyon Kaskadı.....	11
Şekil 4. Kan koagülasyon ve protein C antikoagülan sisteminin şematik prezentasyonu. ....	14
Şekil 5. Koagülasyonu düzenlemede protein C yolağının rolü. ....	15
Şekil 6. Protein C antikoagülan yolu. ....	16

## GRAFİK DİZİNİ

<u>Grafik</u>	<u>Sayfa</u>
Grafik 1: Kolorektal kanserli hasta ve kontrol grubunda plazma sTM ortalamaları..	24
Grafik 2: Kolorektal kanserli hasta ve kontrol grubunda plazma sEPCR ortalamaları. ....	24

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal kanser, gelişmiş ülkelerde en sık rastlanan kanserlerden biri olup Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde tüm kanserler arasında her iki cinsiyette de en sık görülen ve en sık ölüme neden olan üçüncü kanser türüdür (1). T.C. Sağlık Bakanlığı'nın 2003 yılı verilerine göre kolorektal kanserler; Türkiye'de en sık görülen kanserler arasında kadınlarda ikinci, erkeklerde üçüncü sırada yer almaktadır (2).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar ile hemostatik sistem komponentlerinin kanser gelişiminde önemli rol oynadığına inanılmaktadır. Ayrıca kolorektal kanserli hastalarda tromboembolik komplikasyonların da sıklığı artmıştır (3). Kolorektal kanserli hastalarda kesin tedavi seçeneği cerrahi olup, bu tedavi şekli tromboembolinin artmış sıklığı ile ilişkilidir, çünkü postoperatif derin ven trombozu hastaların %3-30'unda görülür (4-7). Ancak, subklinik intravasküler kan koagülasyon aktivasyonunun kolorektal kanserli hastalarda daha sık olarak (%90'a varan) görüldüğü gösterilmiştir (8-10).

Tümör hücrelerinden eksprese edilen doku faktörü (tissue factor) ve kanser prokoagülanları pıhtılaşma faktörlerinden Faktör-7 ve Faktör-10'un aktivasyonuna yol açarlar. Tümör hücrelerinden salınan sitokinler (IL-1, TNF-alfa) endotel hücreleri, trombositleri ve monositleri aktive ederek, doku faktörü ve plasminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) yapımını artırır. Bunların etkisi ile trombomodulin (TM) miktarı azalır, sonuçta TM tarafından trombinin (T) inhibisyonu da azalarak tromboz oluşumu kolaylaşır (3). Bunun yanında, koagülasyon kaskadının son ürünleri olan trombin ve fibrin, kanser hücrelerinin lokal invazivitesine ve metastatik yayılımına katkıda bulunmaktadır.

Protein C antikoagülan yolu tromboza karşı doğal bir savunma mekanizması olup tromboz oluşumunda esas düzenleyici görevi üstlenir. Bu yol integral membran glikoproteini olan trombomodulinin (TM), prokoagülan yolun son ürünü olan trombine bağlanması ile başlar. Bu bağlanma damar endoteli üzerinde olur. T-TM kompleksi plazma zimojeni olan protein C'yi aktive eder. Protein C aktivasyonu endotel hücre protein C reseptörü (EPCR) aracılığı ile artar. Aktive protein C (APC)-EPCR kompleksi antikoagülan etkilerin oluşmasından sorumludur. APC, EPCR'den ayrıldıktan sonra protein S'ye bağlanır ve bu kompleks faktör Va ve VIIIa'yı

inaktive eder (11-12). Hücre yüzeyindeki EPCR molekülünün bir metalloproteinaz tarafından ekstrasellüler parçasının ayrılması ile oluşan çözünür EPCR (sEPCR)'nin hem protein C, hem de APC için yüksek afinitesi vardır (13-14). sEPCR, damar duvarındaki membrana bağlı EPCR ile yarışa girerek, protein C aktivasyonunu inhibe eder. Ayrıca, APC'nin negatif yüklü membran yüzeyleri ile ilişkisini bozarak APC'nin antikoagülan aktivitesini bloke eder.

Trombomodulin ve EPCR'nin antikoagülan özellikleri yanında inflamasyon, hücre adezyonu, tümör büyümesi ve metastazında da rol oynadıkları düşünülmektedir. Bu iki protein endotel disfonksiyonunun göstergesi olarak hücrelerden hasara cevap olarak kan dolaşımı içine salınırlar. Her iki belirtecin de soluble formları (sTM ve sEPCR) vaskülit, sistemik lupus eritematosus (SLE), sepsis, renal disfonksiyon gibi endotelyal hasarla seyreden durumlarda yükselmektedir (15-17). Aynı zamanda çeşitli kanser tiplerinde de (kolorektal, pankreas, meme, lösemi) yükselmekte ve hastalığın progresyonu ile plazma düzeyi daha da artmaktadır (18).

Çalışmamızda, kolorektal kanserli hastalarda tedavi öncesi plazma sTM ve sEPCR seviyelerinin ölçümü ve bu sonuçların hem sağlıklı kontrol grubu ile hem de hastaların tanı anındaki evresine, metastazı olup olmamasına ve tümör lokalizasyonuna göre kendi içinde karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ek olarak, sTM ve sEPCR'nin tümör diferansiyasyonu, lenfovasküler invazyon durumu ve mikrovasküler trombus varlığı ile ilişkisi de değerlendirilecektir. Ayrıca, çalışma süresince hastalar tromboembolik olay gelişimi açısından da takip edilmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

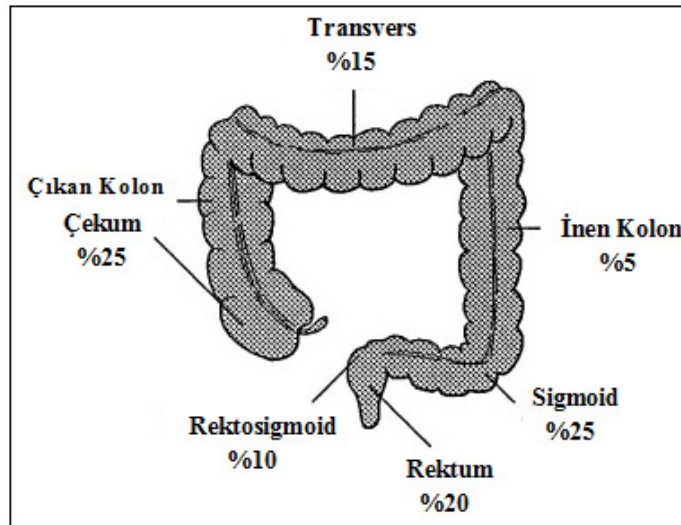
### 2.1. Kolorektal Kanserler

#### 2.1.1. Epidemiyoloji

Kolorektal kanserler dünyanın değişik toplumlarında farklı sıklıkta görülen onkolojik bir sorundur. Dünya üzerindeki bu heterojen dağılımından genetik ve çevresel faktörler sorumludur.

Kanser istatistiklerinin güvenilir olarak yapıldığı Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde kolorektal kanserler; erkeklerde prostat ve akciğer, kadınlarda meme ve akciğer kanserinden sonra en sık görülen üçüncü kanser türüdür (görülme sıklığı her iki cinste de tüm kanserlerin %10'u). Kolorektal kanserden ölüm her iki cinste de tüm kanserlerden ölümlerin %9'unu oluşturmaktadır (1).

Daha çok ileri yaş grubunu etkileyen bu kanser türünün görülme sıklığı 50 yaşından sonra artmakta ve 60-70 yaşlarında en yüksek düzeye ulaşmaktadır. Erkeklerde görülme sıklığı kadınlara göre biraz daha fazla iken kadınlarda mortalite oranı daha yüksektir. Tüm kolorektal kanserlerin %20'si rektumda, %10'u rektosigmoid bileşkede, %25'i sigmoid kolonda, %5'i inen kolonda, %15'i transvers kolonda, %25'i çıkan kolon ve çekumda yerleşim gösterir (Şekil 1) (19). Senkron kanser, birden fazla bölgede aynı anda malignite bulunması durumu olup hastaların yaklaşık %2-5'inde görülür (20).



Şekil 1. Kolorektal Kanser Yerleşim Yerleri.

## 2.1.2. Etiyoloji

Kolorektal kanser etyolojisi net olarak bilinmemekle birlikte hem çevresel hem de genetik faktörler ile ilişkilidir.

### 2.1.2.1. Adenomlar

Adenomatöz polipler kanser gelişiminde prekürsördür. Polip sayısı arttıkça kanser riski artar. Villöz adenomlarda kanser bulunma riski %40 iken; tübülovillöz adenomlarda %22, tübüler adenomlarda ise %5'dir. Adenomatöz polipin boyutu büyüdükçe kanser gelişme riski de artar. 2 cm üzerindeki villöz adenomlarda kanser gelişme riski %53, tübülovillöz adenomlarda %46, tübüler adenomlarda %35'tir (20-22). Polipektominin kanser insidansını azalttığı gösterilmiştir (21).

### 2.1.2.2. Genetik Faktörler

**a)** Herediter non-polipozis kolon kanseri (HNPCC) sendromları (Lynch sendromları) : Kolonda polipozis yoktur, ancak kolon kanseri otozomal dominant geçiş gösterir (21-22).

-Lynch Sendromu I: Genellikle proksimal kolonda karsinomlar görülür. Ekstrakolonik manifestasyonlar yoktur.

-Lynch Sendromu II: Meme, uterus, over, mide, ince barsak, renal pelvis, üreter ve pankreatikobiliyer sistem kanserleri gibi ekstrakolonik adenokanserler de görülmektedir.

**b)** Familial adenomatöz polipozis (FAP) : Kolonda 100'den fazla polip bulunur. Otozomal dominant özellik gösterir. Bu grupta bazı özel sendromlar tanımlanmıştır (23) :

- Gardner Sendromu
- Turcot Sendromu
- Oldfield Sendromu
- Peutz-Jeghers Sendromu

### 2.1.2.3. İnflamatuvar Barsak Hastalığı

- Ülseratif kolit : Prekanseröz bir lezyon olup, risk hastalık başladıktan 10 yıl sonra %20-25'e çıkar ve her sonraki yıl %2 artar (20, 21, 24).

- Crohn Hastalığı : Barsak karsinomu gelişme riski, normal popülasyondan daha yüksek (yaklaşık 3 kat) iken ülseratif kolitten daha düşüktür (20).

### 2.1.2.4. Çevresel Faktörler

- Diyet
- Sigara ve Alkol
- Üretero-sigmoidostomi (20, 25)
- Kolesistektomi (26)
- Diabetes mellitus (27)
- Akromegali (28)
- Streptococcus Bovis Bakteriyemisi (29)
- Pelvik radyasyon (30)
- Mesleki faktörler (asbest, organik çözücüler, çimento maruziyeti)
- Vitamin eksikliği : Folat, E ve D vitamini eksikliği kanser riskini arttırabilir.
- Kalsiyum eksikliği

### 2.1.3. Karsinogenez

Kolorektal karsinomların çoğu, önceden var olan adenomlar veya displazi alanlarından gelişir. Az bir kısmı epitelden doğrudan kanser olarak başlar. Kolorektal kanserler herediter, familyal veya sporadiktir. Kolorektal kanserlerin %75'ini sporadik kanser olguları oluşturur.

Kolorektal kanser gelişimine neden olan genetik değişiklikler protoonkogenlerde değişiklikler, tümör baskılayıcı gen aktivitesinde kayıp, DNA tamir genlerinde anormalliklerdir. Kolorektal karsinogenezde genetik instabilitenin tipine bağlı olarak iki farklı moleküler gelişim modeli tanımlanmıştır (31): 1. Kromozomal instabilite arayolu 2. DNA mikrosatellit instabilite arayolu.

Bu gelişim modellerinden ilkinde adenoma-karsinoma sekansı adı verilmiş olup, ilk olarak Vogelstein ve Fearon tarafından tanımlanmıştır (32). Aynı zamanda

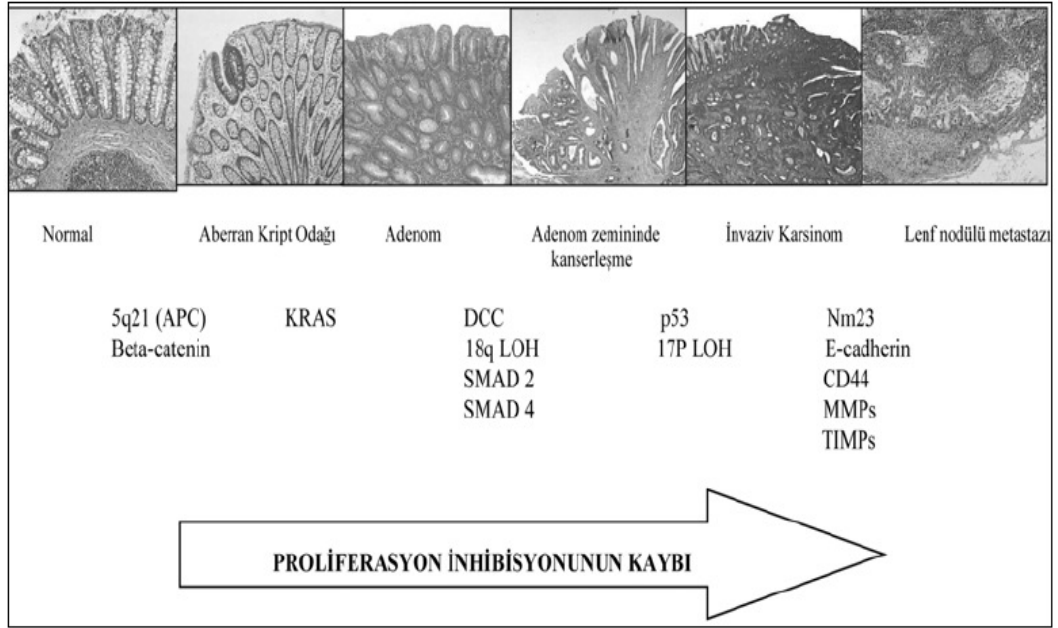
bu ilk arayola Adenomatöz polipozis koli (Adenomatous Polyposis Coli / APC) -  $\beta$  katenin yolu da denmekte olup, bir dizi onkogen ve tümör baskılayıcı gen mutasyonunun adım adım birikimiyle sonuçlanan kromozal kararsızlık ile karakterizedir.

APC geni 5q21'e lokalize bir tümör baskılayıcı gendir. Adenomların gelişimindeki ilk basamağın bu genin kaybı olduğuna inanılır. APC'nin kaybı tümörleşmenin başlangıcında, E-kadherin'in inaktivasyonu da ( $\beta$ -kateninle kompleks oluşturur) tümörün gelişiminde rol alır.

K-ras geni 12. kromozom kısa kolunda yerleşir. Adenomlarda ve kolon kanserlerinde en sık saptanan protoonkogendir. K-ras geni hücre içi sinyal transdüksiyonunda rol oynar (32, 33).

Kolon kanserinde yaygın bir allel kaybı da 18q21 bölgesindedir. Tümör baskılayıcı gen olduğuna inanılan DCC (Deleted in Colorectal Cancer) geni bu bölgede bulunur. DCC geni hücre-hücre adezyonunu ve hücre matriks ilişkisini düzenler. DCC kaybının APC ve K-ras mutasyonundan sonra oluştuğu düşünülmektedir (34, 35).

Kolon kanserlerinin %70-80'inde kromozom 17'nin kaybı vardır. Kromozom 17p bölgesinde bulunan p53 geni bir transkripsiyon aktivatörü olup tümör baskılayıcı gen olarak görev yapar. Aktive ettiği genlerin çoğu hücre büyümesini inhibe eder. P53 kaybı olan tümörler kontrolsüz çoğalırlar (35-37).



**Şekil 2.** Adenom – Karsinom gelişim süreci.

Kolorektal karsinogenezde tanımlanan ikinci arayol ise DNA “mismatch” onarım genlerindeki genetik bozukluklar nedeniyle oluşan mikrosatellit instabilitesi üzerinden gerçekleşmektedir. Bu arayol sporadik kolorektal kanserli vakaların %10-15’inde ve HNPCC sendromlu hastalarda saptanmıştır. DNA mismatch onarım genleri (MMR) replikasyon boyunca doğru DNA sentezinin sağlanmasında rol alarak genomun stabilizasyonunu sağlarlar. DNA “mismatch” onarım genleri 5 tanedir. Bu genler; hMSH2 (kromozom 2p22), hMSH6 (kromozom 2p21), hMLH1 (kromozom 3p21), hPMS1 (kromozom 2q31-33) ve hPMS2 (kromozom 7p22)’dir. Bunlardan birindeki kalıtsal mutasyonlar HNPCC ile sonuçlanır. Mutasyonların %90’ı MSH2 ve MLH1’i etkiler. Etkin MMR gen aktivitesinin yokluğunda mikrosatellit instabilite gözlenir. Mikrosatellit instabilite, hatalı DNA onarımının moleküler işaretidir. “Mismatch” onarım genlerinin kaybı, bu genlerde ve diğer büyüme düzenlenmesi yapan genlerde mutasyonların birikmesine ve kolorektal karsinomların ortaya çıkmasına neden olur (Şekil 2) (20, 32-33, 38).

#### **2.1.4. Klinik Bulgular ve Tanı**

Kolorektal kanserlerde en sık görülen semptomlar; rektal kanama, barsak alışkanlığında değişme (ishal ya da kabızlık şeklinde olabilir) ve karın ağrısıdır. Sol kolon tümörlerinde semptomlar daha sık görülür. Bu nedenle daha erken tanınırlar. Sağ kolon kanserleri ise uzun süre sessiz kalır, kitle ya da perforasyona yol açtıktan sonra tanınırlar. Bunlarda uzun süren demir eksikliği anemisine bağlı olarak halsizlik ve yorgunluk görülür. Bu vakaların 1/3'ü metastazla gelir.

Tanıda en güvenilir yöntem rektum ve kolonun endoskopik incelemeleri (rektoskopi, sigomoidoskopi ya da kolonoskopi)'dir. Kesin tanı biyopsi ile konur.

Bilgisayarlı tomografi lokal invazyon ve metastaz tayininde kullanılır.

Tümör belirteçleri içerisinde CEA ve CA-19-9 kullanılabilir; ancak bunların tanı değeri yoktur, takipte önerilmektedir (39).

#### **2.1.5. Evreleme**

Evrelemede üç farklı sistem kullanılmaktadır. Bunlar Dukes, Modifiye Astler-Coller ve Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (American Joint Committee on Cancer / AJCC)'nin TNM sınıflamasıdır.

#### **2.1.6. Tedavi**

Kolorektal kanserlerin primer tedavisi cerrahidir. Cerrahi sırasında en az 12 lenf nodu çıkarılması hedeflenmelidir. 12'den daha az lenf nodu çıkarılan vakalar yüksek riskli olarak kabul edilir (40, 41). İnoperable vakalarda palyatif kolostomi açılabilir.

Adjuvan kemoterapi kolorektal kanserin evresine göre yüksek risk taşıyan hastalara verilir. Kolon kanserinde Modifiye Astler-Coller B3 ve C3 evresindeki hastalar, acil operasyona alınan vakalar, perfore vakalar adjuvan kemoterapi almalıdır.

Kolon kanserinde radyoterapinin yeri olmamakla birlikte rektum kanserinin tedavisinde önemli yer tutmaktadır (42). Rektum kanserlerinde radyoterapi lokal-bölgesel nüksleri engellemek için postoperatif olarak, büyük tümörleri cerrahi

rezeksiyona uygun hale getirmek ve rezektabl olgularda tümör hacmini azaltarak organ koruyucu cerrahi mümkün kılmak için preoperatif (neoadjuvan), lokal ileri evre veya medikal inoperabl olgularda primer olarak, metastatik tümörlerde de lokal semptomlara yönelik olarak palyatif amaçlarla uygulanmaktadır.

## 2.2. Koagülasyon Kaskadı (Sekonder Hemostaz)

Koagülasyon faktörlerinin sırayla aktivasyonu sonucu fibrinojenin fibrine dönüşmesi ve takiben fibrinin polimerizasyonu ile bir fibrin tıkaçının oluşması sürecine koagülasyon kaskadı denilmektedir. Fibrin oluşumu, “pıhtılaşma faktörleri” adı verilen ve birbirlerinin aktivasyonunu ya da inhibisyonunu kontrol eden çok sayıda proteinin görev aldığı “pıhtılaşma süreci” sonunda gerçekleşir. Pıhtılaşma faktörleri Romen rakamları ile adlandırılmışlardır. Aktif olmayan formlar sadece rakamla gösterilirken, aktif koagülasyon faktörlerinde Romen rakamının yanına bir “a” takısı eklenir (43). Faktörlerden prekallikrein (Fletcher faktörü) ve yüksek molekül ağırlıklı kininojen (Fitzgerald faktörü) için numara verilmemiştir. Daha önce faktör VI olarak numaralandırılan faktör, faktör V’in aktif şekli olduğundan listeden çıkartılmıştır (44). Tablo 1’de pıhtılaşma faktörleri gösterilmiştir.

**Tablo 1: Pıhtılaşma Faktörleri.**

Faktör I	Fibrinojen
Faktör II	Protrombin
Faktör III	Doku faktörü, Doku tromboplastini
Faktör IV	Kalsiyum
Faktör V	Labil faktör, Proakselerin
Faktör VII	Prokonvertin
Faktör VIII	Antihemofilik globulin, Antihemofilik Faktör A
Faktör IX	Christmas Faktörü, Antihemofilik Faktör B
Faktör X	Stuart – Prower faktörü
Faktör XI	Plazma tromboplastin antesedan
Faktör XII	Hageman faktörü
Faktör XIII	Fibrini stabilize eden faktör
Prekallikrein	Fletcher faktörü
HMWK	Yüksek molekül ağırlıklı kininojen (Fitzgerald faktörü)

Klasik anlayışta, in vitro olarak, koagülasyon kaskadı birbirinden bağımsız olan intrinsik ve ekstrinsik yol olarak iki farklı şekilde tanımlanmıştır. Bu iki yol Faktör X'nun aktifleşmesi noktasında birleşir. Faktör X'dan fibrin oluşumuna dek devam eden yola da "ortak yol" adı verilir (Şekil 3) (43).

a) İntrensik Pıhtılaşma Yolu (Kontakt Aktivasyon Yolu):

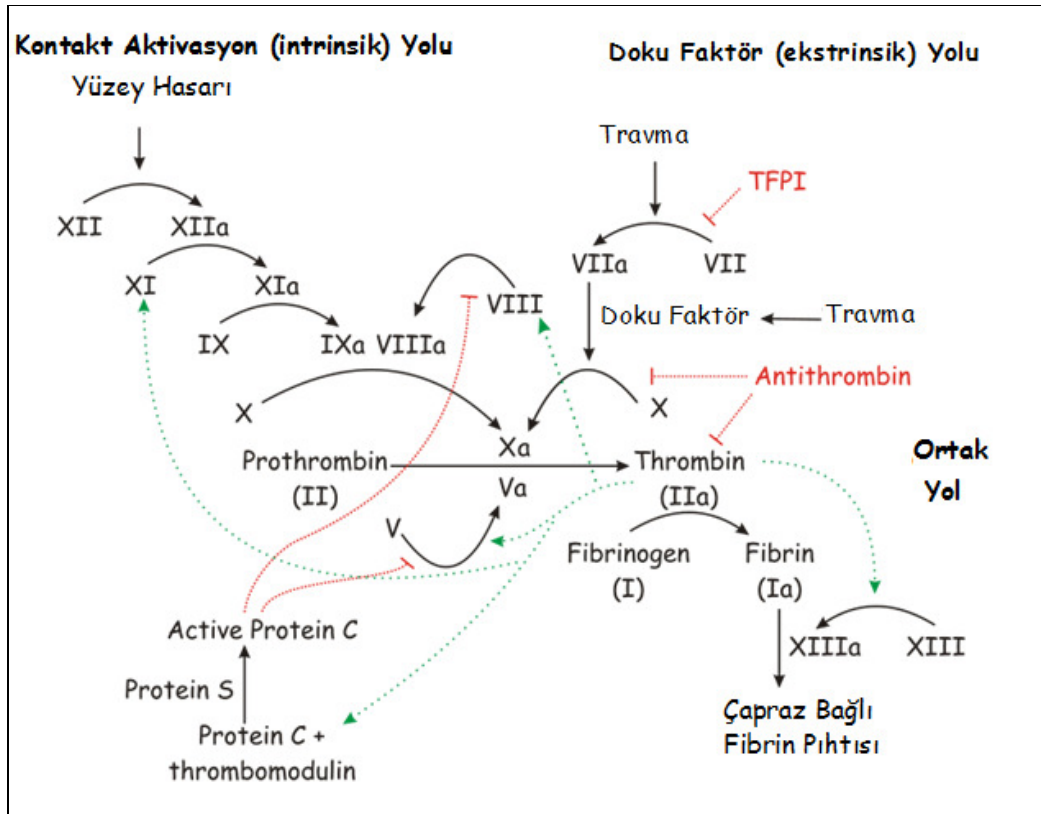
İntrensik yol, negatif yüklü bir yüzeyle temas eden faktör XII'nin faktör XIIa'ya dönüşmesi ile başlar. Bu aktivasyon için prekallikrein ve yüksek molekül ağırlıklı kininojen gereklidir. Faktör XIIa, daha sonra faktör XI'i faktör XIa'ya; faktör XIa, faktör IX'u faktör IXa'ya ; faktör IXa da son olarak faktör X'u faktör Xa'ya (Faktör VIIIa, kalsiyum, fosfolipit varlığında) aktifleştirir. Bu aşamadan sonra ortak yol başlar. Bu reaksiyon agreve olmuş trombositlerin yüzeyinde oluşur. Faktörlerin trombosit fosfolipitlerine bağlanması kalsiyum iyonu köprüleriyle sağlanır. Faktör IXa ve faktör VIIIa'dan oluşan komplekse "tenase" adı verilir. Bu kompleksin işlevi faktör X'u aktive etmektir. Faktör X aktive olduktan sonra trombositlere bağlı faktör Va ile oluşturduğu komplekse "protrombinaz" denir (44). Protrombinaz, protrombini trombin haline getirir (Şekil 4 A-B). Trombin, fibrinojeni küçük peptidlere (fibrinopeptid A ve B) ayırarak fibrin monomerlerini oluşturur. Bu monomerler birleşerek fibrin polimerlerini (fibrin pıhtısı) meydana getirirler. Trombin tarafından aktive edilen faktör XIII, kalsiyum iyonları aracılığı ile fibrin polimerlerini çapraz bağlarla stabilize eder ve sıkı fibrin tıkaçının oluşmasını sağlar. Trombin ayrıca faktör V, faktör VIII, faktör XI, plazminojen ve protein C'yi de aktive eder (43-46).

b) Ekstrinsik Pıhtılaşma Yolu (Doku Faktörü Yolu) :

Ekstrinsik yol, doku faktörünün (TF) kan ile teması sonrasında başlar. Doku faktörü kan damarlarının adventisya tabakasında, beyinde, glomerüllerde ve diğer dokularda yüksek miktarda ekspresye olan bir transmembran proteindir. Normalde endotel yüzeyinde veya kan hücrelerinin üzerinde bulunmaz. Açığa çıkan doku faktörü önce dolaşımda bulunan az miktarda faktör VIIa ile reaksiyona girerek TF-FVIIa kompleksini oluşturur. Bu kompleks faktör X'u faktör Xa' ya çevirerek ortak yolu başlatır (43). Faktör X'un aktivasyonundan sonraki trombin ve fibrin oluşum evreleri intrensek sistemdeki ile aynıdır.

c) İnvivo Koagülasyon (Yeni Anlayış):

Günümüzde yukarıda bahsedilmiş olan intrinsik ve ekstrinsik yollardan farklı olarak (klasik kaskad hipotezinden farklı olarak) pıhtılaşmada, farklı yolların söz konusu olmadığı, pıhtılaşmanın tek yoldan (doku faktörü yolu) başladığı kabul edilir. Vasküler hasar sonucu açığa çıkan doku faktörü (TF), faktör VIIa ile bağlanarak bir kompleks oluşturur. TF-FVIIa kompleksi, faktör IX ve faktör X'u aktive eder. Faktör X'un faktör Xa'ya dönüşmesi koagülasyon kaskadının başlamasında önemli bir adımdır. Endotelden salınan spesifik bir inhibitör, doku faktörü yolu inhibitörü (tissue factor pathway inhibitor-TFPI) hızla doku faktörü-faktör VIIa-faktör Xa kompleksini inaktive eder. Böylece TF-FVIIa kompleksinin daha fazla faktör X'u aktive etmesini önler. TF-FVIIa kompleksinin in vivo olarak başlıca görevi faktör IX'u, faktör IXa'ya aktive etmektir. Faktör IXa daha sonra faktör X'u faktör Xa'ya çevirir (43-46).



Şekil 3. Koagülasyon Kaskadı.

### 2.2.1. Koagülasyonun Kontrolü

Son derece hızlı olabilen koagülasyon kaskadının sadece gereken yerle sınırlı kalması için kontrol altında tutulması ve sıkı denetlenmesi gerekir. Pıhtılaşmanın başlaması ile birlikte doğal antikoagülanlar adı verilen çeşitli inhibitör moleküller aktive edilir ve pıhtılaşmanın kontrolsüz bir şekilde devam etmesi önlenir. Bu inhibitörler Protein C, Protein S, Antithrombin III ve Doku Faktörü Yolu İnhibitörü (TFPI)'dür. Ayrıca fibrinolitik sistemde bu kontrolde önemlidir. Plazmin, fibrinojen ve fibrin pıhtısını etkileyerek pıhtının sınırlanmasını sağlar (43-46).

Antithrombin (Antithrombin III eski adıdır): Trombini nötralize eden en önemli inhibitördür. Ayrıca faktör IX, faktör X, faktör XI ve faktör XII'nin aktive şekillerini de inhibe ederek pıhtılaşmayı önleyici etki gösterir. Heparin (veya endotel hücreleri üzerinde bulunan heparan sülfat) antithrombine bağlanır ve onu aktive eder. Bu bağlanma ile trombine olan affinitesi yaklaşık 1000 kat artar.

Protein C ve Protein S: Koagülasyonu faktör Va ve faktör VIIIa'yı inaktive ederek kontrol altında tutarlar. Protein C, karaciğer tarafından sentez edilen ve dolaşımında inaktif halde bulunan vitamin K bağımlı bir glikoproteindir. Trombin, damar intima yüzeyinde bulunan trombomodulin ile bağlandıktan sonra meydana gelen trombin-trombomodulin kompleksi, protein C'yi aktive eder. Aktive protein C, kofaktör protein S ile birlikte faktör VIIIa ve faktör Va'nın nötralizasyonunu sağlar.

Doku faktör yolu inhibitörü (TFPI): Trombositlerde ve endotel yüzeyine bağlı olarak bulunur. Endotele bağlı TFPI heparin infüzyonu ile plazmaya salınır. TFPI, faktör Xa'yı ve faktör Xa varlığında doku faktörü-faktör VIIa kompleksini inhibe eder.

Fibrinolitik sistem: Fibrinin eritilmesi (fibrinoliz, pıhtının eritilmesi) fibrinolitik sistem tarafından sağlanır. Plazmada bulunan plazminojen inaktif haldedir. Plazminojen primer olarak endotel hücrelerinden salınan doku tipi plazminojen aktivatörü (t-PA) ile aktive edilir. Plazminojen aynı zamanda ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü (u-PA) ve streptokinaz ile de aktive olabilir. Plazminojen, aktif enzimi olan plazmine çevrildikten sonra fibrini parçalar ve fibrin yıkım ürünleri (fibrin degradation products- FDA) ortaya çıkar. Fibrinolizin sınırlı kalmasını sağlayan kontrol mekanizmalarından biri, plazmin aktivitesinin sadece fibrin pıhtısının yüzeyinde lokalize kalmasıdır. Bir diğer kontrol mekanizması da, serbest dolaşan plazmini parçalayan alfa-2 antiplazmindir. Alfa-2 antiplazmin, plazmini

hızla bağlar ve inaktive eder. t-PA'nın primer inhibitörü plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1) dir. İkinci bir t-PA inhibitörü de plazminojen aktivatör inhibitörü-2 (PAI-2) dir.

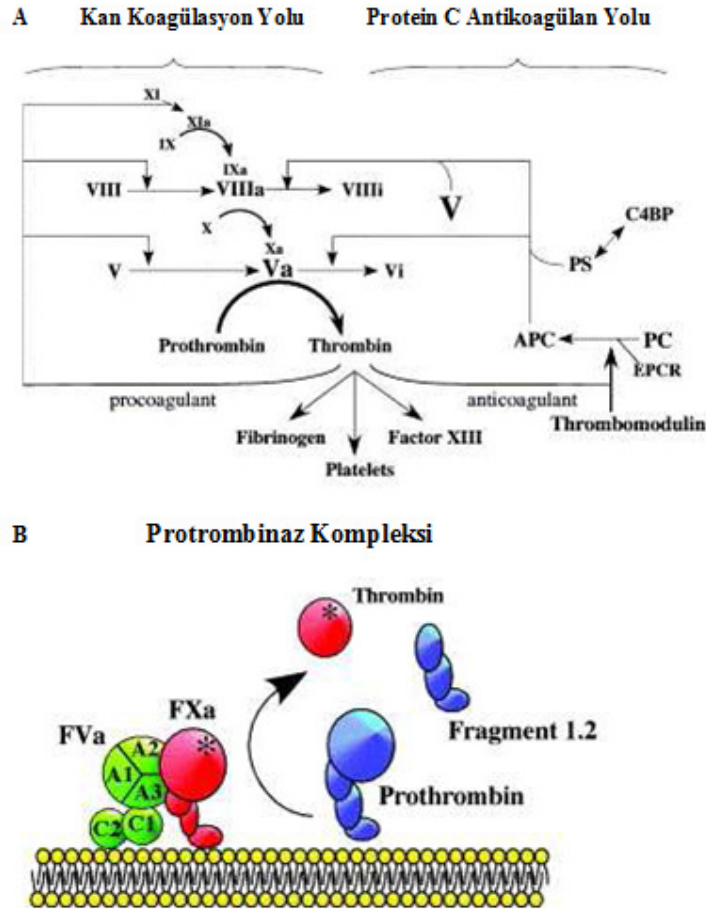
### 2.3. Protein C Yolu

Protein C antikoagülan yolu, tromboz kontrolünün en önemli sistemi olarak iş görür. Bu yolun esansiyel komponentleri; trombin, trombomodulin (TM), endotelial protein C reseptörü (EPCR), protein C ve protein S'dir.

Protein C, karaciğer tarafından sentezlenen, 2 zincirden oluşan ve dolaşımında inaktif halde bulunan K vitamini bağımlı bir glikoproteindir (47). N-terminalde protein C'nin trombin ilişkili yarığı ile aktif formuna yani aktive protein C (APC)'ye dönüşür. Protein C'nin efektif aktivasyonu için trombin molekülü kofaktör olarak, bir transmembran glikoproteini olan trombomoduline ihtiyaç duyar ve TM ile bağlanma protein C aktivasyonunu 1000 kat artırır (48). TM ile bağlandığı zaman trombin molekülünün fibrinojeni fibrine çevirme, faktör V'i aktifleştirme ve trombosit aktivasyonunu artırma gücü azalır. Böylece prokoagülan aktivitesi azalmış olur (49). Trombin, hem koagülan sistemin hemde antikoagülan sistemin faaliyete geçmesinde kilit role sahiptir. Protein C'nin trombin-TM kompleksi tarafından aktivasyonu, Protein C'nin in vivo EPCR'üne bağlanması ile yaklaşık 20 kat daha da artar (50, 51, 52). APC, EPCR'den bir kere ayrıldığında protein S üzerinde uygun yüzeye bağlanır. Protein S, K vitaminine bağımlı bir protein olup, karaciğerde ve endotelde yapılır. Endotel yüzeyinde ve trombositlerin fosfolipid yüzeyinde bulunur. APC, kofaktörü protein S ile birlikte FVa ve FVIIIa'yı inaktive ederek, kontrolsüz tromboz oluşumunu azaltır (Şekil 5, Şekil 6) (53). APC aynı zamanda, plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1)'i nötralize ederek fibrinolitik aktiviteyi artırabilir (43).

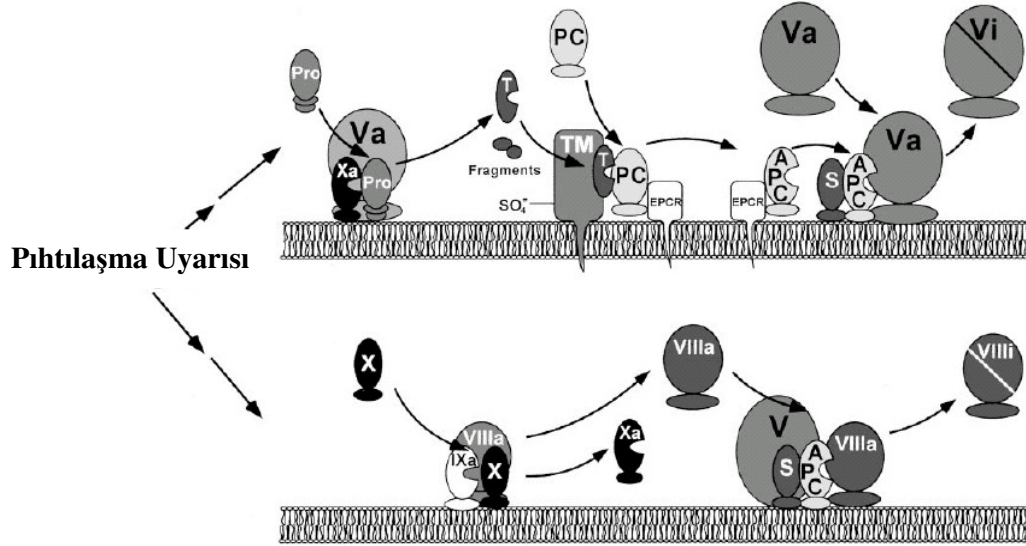
Son zamanlarda Protein C'nin sadece hemostaz üzerine etkilerinin olmadığı, aynı zamanda anti-inflamatuar ve anti-apoptotik etkilerinin de olduğu gösterilmiştir (54, 55). Aktive protein C (APC), EPCR'ünden ayrıldığı zaman antikoagülan özelliklerini gösterirken, APC'nin geçici olarak EPCR'ü ile birleşmesi, APC'nin anti-apoptotik etkilerini sağlayan intrasellüler sinyal yolağını başlatır (56, 57). APC sitokin üretimini, nötrofil kaynaklı hasarı ve nötrofil aktivasyonunu azaltır. Nükleer

faktör  $\kappa\beta$  yolunu, proinflamatuvar gen oluşumu ve hücre yaşamını etkiler. NF- $\kappa\beta$  oksidatif stres hücre adezyonu, apoptozise aracılık eder, trombin tarafından indüklenen inflamatuvar yolağa katılır. Endotelial hücrelerde APC, NF- $\kappa\beta$  uyarımı ve apoptozisi azaltır (58). Şiddetli sepsis boyunca protein C tüketimi, protein S inaktivasyonu, oksidasyon, sitokin ilişkili down-regülasyon, aktivasyon komponentlerinde proteolitiklerin salınımı, mikrovasküler tromboza dönüşebilen edinsel protein C yolu eksiklikleri, lökosit adezyonunda ve sitokin oluşumunda artışa neden olabilir (50).

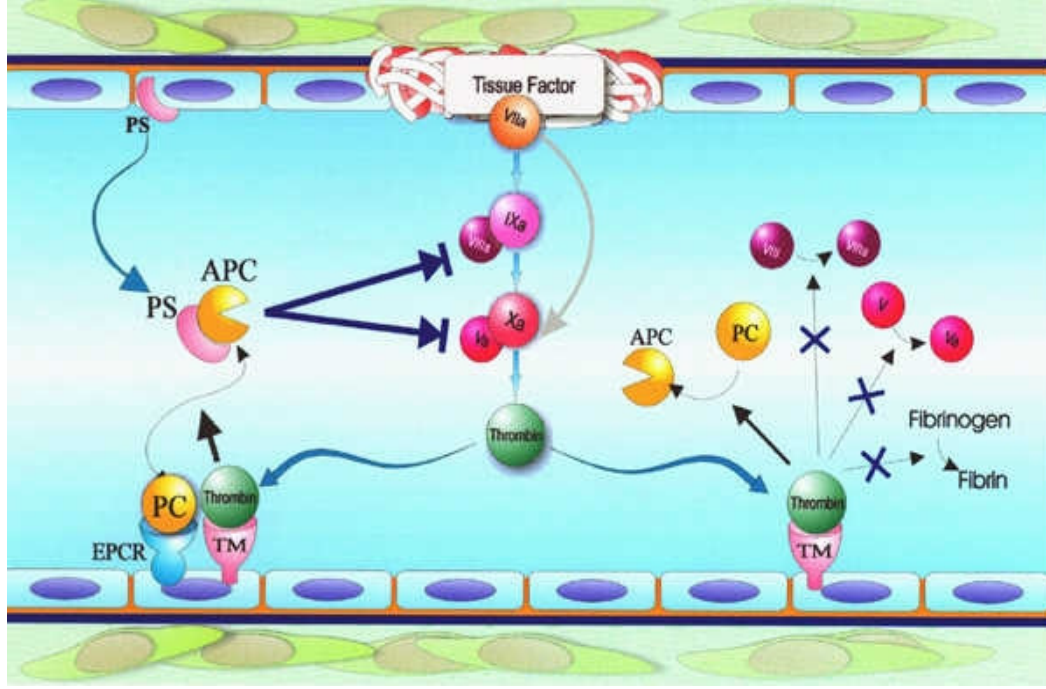


**Şekil 4.** Kan koagülasyon ve protein C antikoagülan sisteminin şematik prezentasyonu. A Bölümünde koagülasyon reaksiyonları ve Protein C yolağının antikoagülan etkileri gösterilmektedir. FVIIa-TF arasındaki ilişki ve FIX ve FX'un, FVIIa-TF aracılıklı aktivasyonları şemada gösterilmemiştir. B Bölümünde protrombinaz kompleksinin şematik gösterimi ve negatif yüklü fosfolipid membran

yüzeylerinde multimoleküler enzim komplekslerinin oluşum prensipleri gösterilmektedir. Enzim FXa ve kofaktör FVa negatif yüklü fosfolipid membran yüzeylerinde protrombinaz kompleksini oluşturmak için birleşirler, oluşan kompleks protrombini trombine dönüştürür (Dahlbäck B, Villoutreix BO. The anticoagulant protein C pathway. FEBS Lett 579(15): 3310-6, 2005).



**Şekil 5.** Koagülasyonu düzenlemede protein C yolağının rolü. Pıhtılaşma uyarısı sonrası faktör VIIIa-IXa ve faktör Va-Xa kompleksi ve takiben trombin oluşur. Trombin oluşumu, fibrin oluşumunu sağlayabilir, trombosit ve endotel hücre aktivasyonu yapabilir veya trombomoduline bağlanarak protein C'yi aktive eder. Protein C aktivasyonu EPCR tarafından aktive edilir. APC, EPCR'den ayrıldıktan sonra protein S'ye bağlanır ve bu kompleks faktör Va ve VIIIa'yı inaktive eder (Esmon CT. The protein C pathway. Chest 124: pp. 26S–32S, 2003).



**Şekil 6.** Protein C antikoagulan yolu.

### 2.3.1. Trombomodulin ve Soluble Trombomodulin

Trombomodulin (TM), vasküler ve lenfatik epitelde eksprese edilen glikoprotein yapıda bir molekül olup, en önemli fonksiyonu trombin ile kompleks oluşturarak protein C'yi aktive etmesi ve antikoagulan özellik göstermesidir. Bunun yanında thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) aktive ederek fibrinolizisi azaltır (59, 60). TM, aynı zamanda endotelde sitokin oluşumunu en aza indirerek ve lökosit-endotelial hücre adezyonunu azaltarak direkt olarak anti-inflamatuvar etki gösterir (50). Böylece endotelial hücreler üzerinde koruyucu fonksiyon gösterir.

İnsan trombomodulini 20. kromozom üzerinde ve tek kopya olarak yer alır. 557 amino asitten oluşur. TM, vücutta iki formda bulunur. Birincisi, daha yüksek molekül ağırlıklı ve endotelial hücrelerin sitoplazmik membranına bağlı, ikinci form ise daha düşük molekül ağırlıklı plazmik formu veya çözülebilir formu oluşturmaktadır. Hücre yüzeyine bağlı TM konsantrasyonu, genetik faktörler tarafından düzenlenir. Genlerin dizin mutasyonlarının varlığında veya TM transkripsiyonunu düzenleyen dizinlerin mutasyonlarında molekülün ya fonksiyonu bozulur ya da daha az eksprese edilir. Bundan dolayı serum TM seviyeleri

değişkenlik gösterir (61). Endotel yüzeyinde bulunan TM, özellikle endotel hasarı veya endotel turnoverının arttırdığı durumlarda salınarak plazma ve idrarda tespit edilebilir (62, 63). Böylece soluble TM (sTM) endotel hücrelerinin hasar göstergesi olarak kullanılabilir (64, 65).

TM, soluble forma nötrofil elastaz ve akut-kronik inflamatuvar cevaplar, immünolojik reaksiyonlar ve kompleman aktivasyonu süresince üretilen diğer maddeler tarafından ayrıştırılır (61). Yapılan çalışmalarda plazmada tespit edilen sTM fragmanlarının da, TM gibi trombine bağlanarak antikoagülan etkisi olduğu ve bu etkinin intakt TM molekülünün yaklaşık %30-50'si kadar olduğu bulunmuştur (63).

Endotelial bir reseptör olan TM'nin klasik olarak antikoagülan, antifibrinolitik ve anti-inflamatuvar rolünün yanında son zamanlarda karsinogenezde de fonksiyonları olduğu bilinmektedir. İlk kez 1987'de vasküler tümörlerde invaziv bir marker olarak TM belirlenmiştir. Daha sonraki araştırmalarda TM'nin embriyonal,epitelyal ve lenfatik orjinli birçok tümör dokusunda da eksprese edildiği ve hastalığın prognozu ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (62). Yapılan birçok çalışmada pek çok kanser tipinde sitoprotektif rolü olduğu gösterilmekle birlikte tam olarak mekanizması açıklanamamıştır. TM endotel üzerine etki göstererek kanser hücrelerinin metastatik kapasitelerini etkilemektedir. Bu nedenle pozitif prediktif ve prognostik faktör olduğu düşünülmektedir (66).

Tümör hücreleri uzak bölgelere dolaşım yolu ile taşınır. Dolaşımdaki kanser hücreleri fibrin köprüleri ile endotelial hücrelere yapışır. TM, antikoagülan aktivitesi yardımı ile fibrin formasyonunu inhibe eder ve kanser hücrelerinin endotelial hücrelere yapışmasını önleyerek metastatik bölgelere invazyonu kısıtlar (67). TM fetomodulin adı verilen yüzey proteinine benzer, bu protein embriyonik gelişim süresince eksprese edilir ve hücre diferansiyasyonu ile ilişkilidir (68). TM hücre diferansiyasyonunda rol oynayan onkofetal antijen olabilir. Çeşitli tümörler tarafından azalmış TM ekspresyonu diferansiyasyon kaybına ve tümörün agresif davranışına neden olabilir. Trombin farelerde tümör metastazını arttırmıştır; TM trombini inhibe ederek tümör metastazını önleyebilir (69). TM'in insan umbilikal ven endotelial hücrelerinde trombinin mitojenik cevabını önlediği bilinmektedir (70). Ayrıca TM'in malign melanom hücre dizilerinde hücrelerin proliferasyonunu direkt olarak inhibe edici özelliği gösterilmiştir. Bu etki, hem antikoagülan

aktivitesinden hem de trombin-TM kompleksinden bağımsız bir etkidir (71). Ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü (u-PA), kanser invazyonunda ve metastazında, kanser hücrelerinin çevresinde fibrinolizise neden olarak önemli rol oynar. Trombin-TM kompleksi, reseptör bağı pro-uPA'yı inaktive ederek metastaz potansiyelini düşürür (72, 73). Dolayısıyla, yüksek TM ekspresyonu değişik mekanizmalarla metastaz ihtimalini düşürür (74).

Beyin tümörleri, skuamoz hücreli karsinomları içeren epitelyal orjinli tümörler (oral, özefajial ve pulmoner) ve adenokarsinomlarda (meme ve kolorektal) TM ekspresyonu gösterilmiş ve dokuda azalmış TM ekspresyonunun ileri evre ve kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir (62). Düşük TM ekspresyonu olan hepatosellüler karsinomalar daha yüksek intrahepatik metastaz ve kapsüler infiltrasyon insidansına sahiptir (67). Primer meme kanseri lezyonlarındaki düşük TM ekspresyonu yüksek relaps oranı ile koreledir (75). Deneysel çalışmalar tümör hücrelerindeki TM ekspresyon seviyesinin in vitro olarak tümör hücresi proliferasyonu veya invazyonu ile ters olarak korele olduğunu göstermektedir (71, 76, 77). Kolorektal ve pankreatik malignansileri içeren çeşitli tümör tiplerinde özellikle tümör progresyonu ile birlikte plazma soluble TM düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. Farklı kanser tiplerinde tümör vaskülarizasyonu, endotelial turnover, hipoksi ve anjiyogenez özelliklerinin farklı olmasına bağlı plazma sTM seviyeleride heterojenite göstermektedir (62).

ELISA tekniği ile ölçülen normal plazma sTM seviyeleri 3-50 ng/ml arasında değişir (78). Bu seviyeler erkeklerde daha yüksektir, kadınlarda da menopoza süresince yükselir. sTM seviyesini yükselten diğer olaylar ise sigara, yaygın intravasküler koagülasyon (DIC), kalp cerrahisi, ateroskleroz, erişkin zorlu solunum sendromu (ARDS), siroz, diyabetes mellitus, serebral enfarkt, miyokard enfarktüsü ve multiple sklerozisdir. Plazma TM seviyeleri faydalı bir prognostik indekstir, çünkü mortalite hızında artma veya altta yatan patolojik durumun progresyonu ile korelasyon gösterir (61).

### 2.3.2. Endotelial Protein C Reseptörü (EPCR) ve Soluble EPCR (sEPCR)

EPCR, 46 kilodaltonluk (kDA) tip 1 transmembran proteini olup, major doku uyuşum kompleksi olan class 1/CD1 familyasının homologudur. Geni 20q11.2'de lokalizedir. Protein C antikoagülan yolunda önemli rol oynar (79-81). EPCR, endotel hücrelerine özgün ekspresyon özelliği gösterir; büyük damarların endotelinde yüksek seviyede eksprese edilirken, özellikle kapiller sistemde ya azdır ya da hiç yoktur.

EPCR, protein C'yi bağlayarak ve trombin-TM kompleksine sunarak protein C aktivasyonunu in vivo olarak yaklaşık 20 kat artırır. APC, EPCR'yi bağlama kabiliyetine sahiptir ve inflamatuvar sitokin oluşumunu (TNF, IL-6) düzenleyen hücrel sinyal mekanizmalarından bazılarının ortaya çıkmasını sağlar. APC, bir kere EPCR'den ayrıldığında protein S üzerinde uygun yüzeye bağlanır. Burası aynı zamanda Faktör Va ve Faktör VIIIa'yı inhibe eden yerdir (50) (Şekil 6). Protein C ve APC, EPCR'ye eşit affinite ile bağlanır. EPCR'ye bağlanan APC, serbest APC ile aynı hızda plazma proteaz inhibitörleri tarafından inhibe edilir.

Bazı çalışmalarda plazmada EPCR'ünün olasılıkla transmembran domaini ve sitoplazmik kuyruğunun ayrışması ile oluşan soluble formu (sEPCR) tespit edilmiştir (16). Bu formun, metalloproteinaz aktivitesiyle membrana bağlı EPCR'nin parçalanması sonrası oluştuğu ve bunu trombin ile bazı inflamatuvar mediatörlerin uyardığı düşünülmektedir (14). Bazı genetik mutasyonlarda da membrana bağlı formun ayrışarak, sEPCR oluşumunun arttığı tespit edilmiştir. İnsanlarda en azından 3 farklı haplotipi tanımlanmış EPCR geni polimorfizmleri vardır. Bunlardan biri (haplotip A3), sEPCR'nin yüksek plazma seviyeleri ile ilgilidir (82). sEPCR'ü; protein C ve APC'ye benzer afinite ile bağlanmaktadır. Ancak bu bağlanma sonucu, APC'nin antikoagülan aktivitesi inhibe olmaktadır. Bu inhibisyon, APC'nin fosfolipid membranlara bağlanmasının blokajı ve Faktör Va'yı inaktive etme yeteneğinin kaybolması sonucudur (83). Membrana bağlı EPCR'ünün tersine, soluble EPCR'ü, Protein C'nin trombin-TM kompleksi tarafından aktivasyonunu arttırmaz. Artmış sEPCR düzeyleri APC'nin antiinflamatuvar, profibrinolitik ve antikoagülan etkilerini inhibe eder. sEPCR'nin yüksek seviyeleri tromboz için bir risk faktörüdür.

Çalışmalarda sEPCR düzeylerinin sağlıklı kişilerde bimodal dağılım gösterdiği saptanmıştır. Sağlıklı kişilerin %80'inde sEPCR düzeylerinin 75-178 ng/ml arasında iken %20'sinde 200 ile 700 ng/ml arasında olduğu tespit edilmiştir (84). Türkiye'den Ulu ve arkadaşları ise 59 sağlıklı kişide sEPCR düzeylerini ortalama  $82.39 \pm 47.3$  ng/ml olarak tespit etmişlerdir (85). Ülkemizde son zamanlarda yapılan ve daha geniş bir populasyonu kapsayan bir çalışmada ise; sEPCR düzeyleri sağlıklı çocuklarda  $138.8 \pm 96.3$  ng/ml, sağlıklı yetişkinlerde  $84.3 \pm 51.9$  ng/ml olarak saptanmıştır (86).

EPCR'nin değişik tümör hücre serilerinde ekspresyonu gösterilmiştir. İnvaziv duktal meme kanseri ve bazı lösemi tiplerinde EPCR ekspresyonu rapor edilmiştir (87). Yüksek sEPCR düzeyleri hepatosellüler kanserde kötü prognozun bir belirteci olabilir (88).

Sonuçta; EPCR ve sEPCR'nin fonksiyonları, TM ve APC gibi, daha tam olarak açıklanmamasına rağmen, kompleks düzenleyici yollar vasıtasıyla inflamasyonu kontrol ederler. EPCR, nötrofil adezyon ve ekstrasvazasyonuna engel olurken, sEPCR'nin yükselmiş seviyelerinin artmış tromboz riski ile ilgili olabileceği kabul görmektedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma öncesi Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu'ndan (26.02.2009 tarih ve 2009/03 nolu toplantının 15 nolu kararı) onay alındı. Çalışma öncesi tüm hasta ve gönüllülere çalışma hakkında bilgi verilerek onayları alındı. Çalışmaya Ocak-Aralık 2009 tarihleri arasında Karaelmas Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Onkoloji Polikliniğine başvuran yeni kolorektal kanser tanısı almış, kemoterapi ve radyoterapi almamış, yaşları 25-75 arası değişen toplam 50 hasta alındı. Kontrol grubu olarak ise Genel Dahiliye Polikliniğine rutin kontrol amacıyla başvuran, bilinen sistemik hastalığı olmayan ve yapılan tetkikler sonucunda herhangi bir hastalık saptanmayan 50 sağlıklı birey çalışmaya alındı.

Preoperatif kemo/radyoterapi almış olan hastalar, böbrek yetmezliği, kronik karaciğer hastalığı, diyabetes mellitus gibi sistemik hastalığı olanlar, serebral enfarkt ve multiple skleroz öyküsü olanlar, sepsis ve dissemine intravasküler koagülasyon bulguları olanlar, aktif sigara içicisi olan hastalar çalışmaya alınmadı.

Tüm hastalardan ve sağlıklı kontrol gruplarından plazma sEPCR ve sTM düzeylerinin çalışılabilmesi için 5'er ml kan alınarak, santrifüj sonrası elde olunan plazmalar -80 santigrad derecede inceleme yapılacağı zamana kadar saklandı.

Plazma sEPCR ve sTM seviyeleri Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İmmunoloji Laboratuvarında çalışıldı. Plazma örneklerinden sEPCR ve sTM konsantrasyonları ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi ile asserachrom EPCR (Diagnostica Stago, Fransa) ve asserachrom TM kitleri (Diagnostica Stago, Fransa) ile mikropate awl ve SIRIOS cihazlarında çalışıldı.

Çalışmaya alınan 50 hastanın, 5 tanesi ileri evre (inoperable) olması nedeniyle opere değildi. Geriye kalan 45 hastanın operasyon sonrası patoloji kayıtları incelenerek tümör diferansiyasyonu (grade), lenfovasküler invazyon durumu ve mikrovasküler trombüs varlığı kaydedildi.

Hastalar çalışmaya alındıkları günden, çalışmanın sonlandırıldığı 1 Haziran 2010 tarihine kadar tromboembolik olay ve genel sağkalım süresi açısından takip edildi. Genel sağkalım süresi tanı tarihinden eksitus zamanına kadar geçen süre veya

halen yaşamakta olan hastalarımız için verilerin güncelleştirildiği 1 Haziran 2010 tarihine kadar geçen süre olarak hesaplandı.

### **3.1. İstatistiksel Yöntem**

İstatistiksel değerlendirme SPSS (versiyon 13.0) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Sayısal veriler için tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma, kategorik yapıdaki veriler için sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Kategorik yapıdaki değişkenler için gruplar arası farklılıklar ve değişkenler arasındaki ilişkiler Ki-kare testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren sayısal değişkenler bakımından iki grup karşılaştırılmasında iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi, normal dağılım göstermeyen sayısal değişkenler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Evrelere göre trombomodulin ve EPCR seviyeleri arasındaki fark ise Kruskal-Wallis varyans analizi ile incelendi. Sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirildi ve  $p<0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Yeni tanı almış kolorektal kanser grubunda 50 hasta ve kontrol grubunda toplam 50 sağlıklı olgu çalışmaya alındı. Medyan izlem süresi 11,5 (2-17) aydı. Her iki grupta da 25 kadın (%50) ve 25 erkek (%50) olgu mevcuttu. Hastaların ortalama yaşı  $60,8 \pm 11,7$  idi. Kontrol grubunun ortalama yaşı  $57,6 \pm 6,4$  idi. Tüm grupların demografik verileri Tablo 2’de verilmiştir. Kontrol ve hasta grubu arasında, yaş ve cinsiyet açısından anlamlı farklılık görülmemiştir.

**Tablo 2:** Grupların demografik verileri.

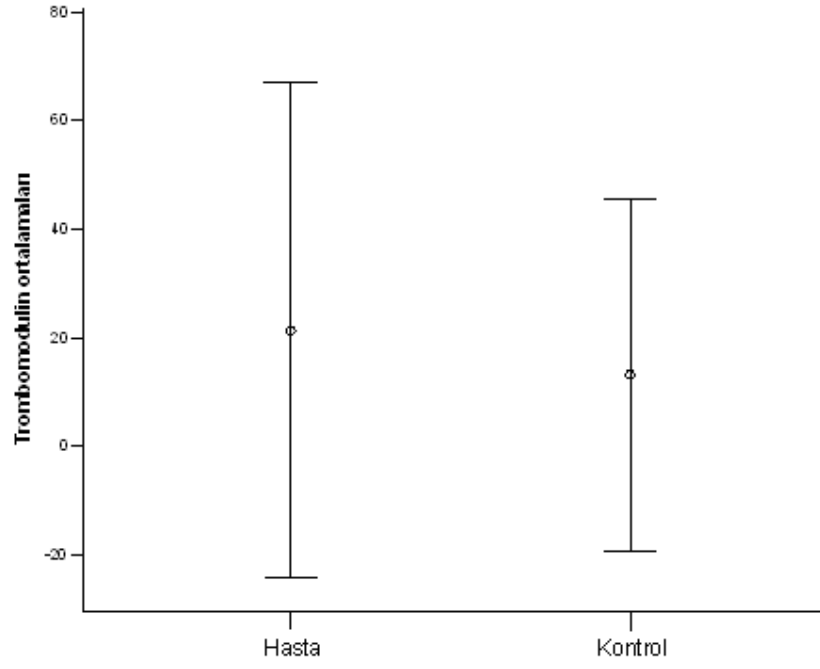
		<b>Hasta n=50</b>		<b>Kontrol n=50</b>		<b>p</b>
<b>Yaş</b>		$60,8 \pm 11,7$		$57,6 \pm 6,4$		0,088
		<b>Sayı</b>	<b>%</b>	<b>Sayı</b>	<b>%</b>	
<b>Cinsiyet</b>	Erkek	25	50	25	50	1,000
	Kadın	25	50	25	50	

Hasta grubunda medyan genel sağkalım 11,5 (2-17) ay ve takip süresince genel sağkalım oranı %78, ölüm oranı ise %22 olarak bulundu.

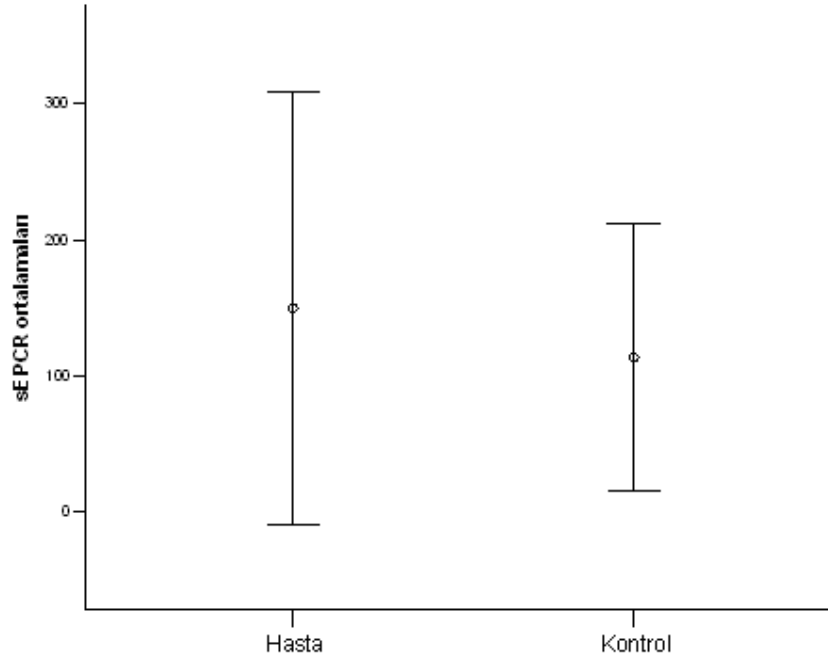
Kontrol grubu ve kolorektal kanserli grupta ölçülen plazma sTM ve sEPCR seviyeleri Tablo 3 ile Grafik 1 ve 2’de gösterilmiştir.

**Tablo 3:** Kolorektal kanserli hasta ve kontrol gruplarında ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri.

	<b>Hasta n=50</b>	<b>Kontrol n=50</b>	<b>p</b>
<b>sTM (ng/ml)</b>	$21,3 \pm 22,8$	$13,2 \pm 16,2$	0,010
<b>sEPCR (ng/ml)</b>	$149,9 \pm 79,6$	$113,3 \pm 49,3$	0,007



**Grafik 1:** Kolorektal kanserli hasta ve kontrol grubunda plazma sTM ortalamaları.



**Grafik 2:** Kolorektal kanserli hasta ve kontrol grubunda plazma sEPCR ortalamaları.

Kolorektal kanserli hastalar ile kontrol grubu arasında plazma sTM seviyeleri karşılaştırılmış ve ortalama plazma sTM seviyeleri kolorektal kanserli hasta grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (21,3±22,8 ng/ml, 13,2±16,2 ng/ml, p=0,010). Aynı şekilde her iki grup arasında plazma sEPCR seviyeleri karşılaştırılmış ve ortalama plazma sEPCR seviyeleri kolorektal kanserli hasta grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (149,9±79,6, 113,3±49,3, p=0,007).

Hasta ve kontrol grubu, kendi içinde kadın ve erkek olarak ayrılarak cinsiyete göre plazma sTM ve sEPCR seviyeleri karşılaştırılmıştır. Hasta grubundaki kadın ve erkekler arasında hem plazma sTM seviyeleri hem de plazma sEPCR seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla p=0,477; p=0,239). Aynı şekilde kontrol grubundaki kadın ve erkekler arasında da, hem plazma sTM seviyeleri hem de plazma sEPCR seviyeleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla p=0,398; p=0,190) (Tablo 4).

**Tablo 4:** Hasta ve kontrol grubunda cinsiyete göre ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri.

	Hasta			Kontrol		
	Kadın n=25	Erkek n=25	p	Kadın n=25	Erkek n=25	p
sTM (ng/ml)	19,0±18,8	23,6±26,4	0,477	12,7±15,5	13,7±17,1	0,398
sEPCR (ng/ml)	136,5±75,7	163,3±82,7	0,239	104,1±39,9	122,5±56,5	0,190

Hasta grubu, tümörün yerleşim yerine göre kolon (sağ kolon,sol kolon ve rektosigmoid yerleşimli tüm tümörler) ve rektum olarak ikiye ayrılarak, plazma sTM ve sEPCR seviyeleri lokalizasyona göre de karşılaştırılmıştır (Tablo 5). Lokalizasyona göre plazma sTM ve plazma sEPCR seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,296; p=0,391).

**Tablo 5:** Hasta grubunda tümörün lokalizasyonuna göre ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri.

	<b>Kolon n=35</b>	<b>Rektum n=15</b>	<b>p</b>
<b>sTM (ng/ml)</b>	23,6±25,6	16,1±13,8	0,296
<b>sEPCR (ng/ml)</b>	156,3±76,0	135,0±88,3	0,391

Kolorektal kanserli grup kendi içinde, tanı anında metastazı olan ve olmayan olarak ikiye ayrılmış ve bu iki grup arasındaki sTM ve sEPCR seviyeleri karşılaştırılmıştır (Tablo 6). Tabloda da görüldüğü gibi; tanı anında metastazı olan ve olmayan gruplar arasındaki sTM ve sEPCR seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,496).

**Tablo 6:** Tanı anında metastazı olan ve olmayan kolorektal kanserli grupta ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri.

	<b>Metastazı olan n=12</b>	<b>Metastazı olmayan n=38</b>	<b>p</b>
<b>sTM (ng/ml)</b>	20,0±15,0	21,7±24,9	0,496
<b>sEPCR (ng/ml)</b>	131,5±63,8	155,7±83,9	0,496

Ayrıca kolorektal kanserli hastalar tanı anındaki TNM sınıflamasına göre evrelere ayrılarak, plazma sTM ve sEPCR seviyelerinin evrelere göre karşılaştırılması yapılmıştır (Tablo 7). Buna göre; dört evre arasında plazma sTM ve plazma sEPCR seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,514; p=0,364).

**Tablo 7:** Kolorektal kanserli hastalarda evrelere göre ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri.

	<b>Evre 1</b> <b>n = 4</b>	<b>Evre 2</b> <b>n = 20</b>	<b>Evre 3</b> <b>n = 14</b>	<b>Evre 4</b> <b>n = 12</b>	<b>P</b>
<b>sTM (ng/ml)</b>	17,0±16,6	28,7±31,2	13,1±10,8	20,0±15,0	0,514
<b>sEPCR(ng/ml)</b>	108,7±32,1	168,2±81,8	151,3±95,2	131,5±63,8	0,364

Kolorektal hasta grubunda opere olan 45 hastanın patoloji kayıtları incelenerek, tümör diferansiyasyonu (grade 1: iyi, grade 2: orta, grade 3: kötü diferansiye), lenfovasküler invazyon durumu, mikrovasküler trombus varlığı kaydedilerek ortalama plazma sTM ve sEPCR düzeyleri ile karşılaştırıldı.

Tümör diferansiyasyonuna göre üç gruba ayrılan 45 hastanın, sadece 2'si grade 3 olması nedeniyle istatistiksel analiz yapılırken grade 2 ve 3 hastalar birleştirilerek tek bir grup olarak kabul edildi. Grade 1 ve grade 2-3 hastaların ortalama plazma sTM ve plazma sEPCR seviyeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,304; p=0,584) (Tablo 8).

**Tablo 8:** Opere kolorektal kanserli hastalarda tümör diferansiyasyonuna göre ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri.

	<b>Grade 1</b> <b>n=14</b>	<b>Grade 2-3</b> <b>n=31</b>	<b>P</b>
<b>sTM (ng/ml)</b>	27,1±31,5	19,2±19,2	0,304
<b>sEPCR (ng/ml)</b>	165,0±86,2	150,7±78,4	0,584

Lenfovasküler invazyon durumuna göre ortalama plazma sTM ve plazma sEPCR seviyeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,961; p=0,951) (Tablo 9).

**Tablo 9:** Opere kolorektal kanserli hastalarda lenfovasküler invazyon durumuna göre ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri.

	<b>Lenfovasküler invazyon (+) n=19</b>	<b>Lenfovasküler invazyon (-) n=26</b>	<b>p</b>
<b>sTM (ng/ml)</b>	21,4±18,6	21,8±27,0	0,961
<b>sEPCR (ng/ml)</b>	154,3±93,5	155,8±70,9	0,951

Mikrovasküler trombüs, patolojik olarak değerlendirilen operasyon materyallerinden sadece 6 tanesinde pozitif olarak bulundu. Mikrovasküler trombüs pozitif ve negatif olanların plazma sTM ve plazma sEPCR seviyeleri karşılaştırıldı. Mikrovasküler trombüs pozitif saptananlarda ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri negatif saptananlardan yüksekti. Fakat iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla p=0,676; p=0,144) (Tablo 10).

**Tablo 10:** Opere kolorektal kanserli hastalarda mikrovasküler trombüs varlığına göre ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri.

	<b>Mikrovasküler Trombüs (+) n=6</b>	<b>Mikrovasküler Trombüs (-) n=39</b>	<b>p</b>
<b>sTM (ng/ml)</b>	27,9±25,0	20,7±23,6	0,676
<b>sEPCR (ng/ml)</b>	199,9±94,6	148,3±76,8	0,144

Hastalar çalışmaya alındıkları günden, çalışmanın sonlandırıldığı 1 Haziran 2010 tarihine kadar hem poliklinik kontrollerinde hem de telefonla evlerinden aranarak tromboembolik olay açısından takip edildi. Fakat takip süresi içinde hiçbir hastada tromboembolik olay gelişmedi (derin ven trombozu, pulmoner emboli, serebral emboli v.b).

## 5. TARTIŞMA

Kolorektal kanserler dünyada en sık görülen kanserler arasında yer almakta olup, yapılan çalışmalarla kolorektal kanserin biyolojisi günümüzde daha iyi bilinmektedir. Bu bilgi hem hedefe yönelik tedavilerin araştırılması hem de yeni prognostik faktörlerin tanımlanmasında fayda sağlamaktadır.

Son zamanlarda yapılan çalışmalar ile hemostatik sistem komponentlerinin kanser gelişiminde önemli rol oynadığına inanılmaktadır. Koagülasyon kaskadının son ürünleri olan trombin ve fibrin, kanser hücrelerinin proliferasyonuna, migrasyonuna, lokal invazivitesine, anjiogenezisine ve metastatik yayılımına katkıda bulunmaktadır (89, 90). Protein C yolu, klasik olarak antikoagülan sistem olarak bilinmektedir. Bu yolun en önemli komponentleri TM ve EPCR'dir.

TM, başlıca mikrovasküler endoteliumda eksprese edilen bir transmembran glikoproteinidir. TM'nin üç önemli fonksiyonu vardır; koagülasyon, inflamasyon ve hücre adezyonudur. TM, trombinle yüksek afiniteli bir kompleks oluşturarak trombin aktivasyonunu, fibrin formasyonunu inhibe eder ve protein C aktivasyonunu sağlar. Bu antikoagülan fonksiyonunun yanı sıra plazmadaki thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) aktive ederek fibrinolizisi azaltır (13, 59, 60). Endotel yüzeyinde bulunan TM'nin salınımı ile oluşan soluble TM molekülleri özellikle endotelin artmış turnoverı ve zedelenmesi durumunda plazma ve idrarda tespit edilebilir (63, 91). TM'nin malignitedeki rolü hala tam olarak bilinmemektedir. Antikoagülasyon özelliğinin yanında TM, meme kanseri, özefageal skuamöz kanser, akciğer kanseri, melanoma ve over kanserini içeren pek çok farklı tümörde eksprese edilmesi bu proteinin tümör gelişiminin düzenlenmesinde ve metastazda rolü olabileceğini akla getirmektedir (67, 75, 92-95). TM ekspresyonu primer örneklerle göre metastatik lezyonlarda daha düşük olma eğilimindedir. Tümörlerde azalmış TM, diferansiyasyon kaybını indükleyebilir ve metastatik karakteri geliştirebilir. Bu da azalmış TM ekspresyonu ile kısa yaşam süresi veya artmış metastaz arasında korelasyon olduğunu gösterir (75, 94-96). İn vitro çalışmalar TM'nin tümör hücre proliferasyonunu ve invazyonunu azalttığını ve TM eksprese eden hücrelerin in vivo daha küçük tümör geliştirdiğini göstermiştir (71, 77, 94-99). TM'nin tümörde oynadığı rolün kesin mekanizmaları açık değildir. Antikoagülasyon, adezyon,

diferansiyasyon ve proliferasyon öne sürülen mekanizmalardır. Bilinen şu ki, malignite hemostatik sistem üzerinde derin bir etkiye sahiptir. Bu etki, koagülasyon faktörlerinin, antikoagülanların, fibrinolizis aktivatör ve inhibitörlerinin tümör biyolojisindeki yerinin belirlenmesindeki artış ile olur (74). TM belki de doğal antikoagülan göreviyle tümör büyümesi ve metastazını etkiler (100). EPCR'de TM gibi doku farklılaşması, tümör gelişimi ve inflamasyonun eşlik ettiği bir çok hastalıkta rol almaktadırlar (50). EPCR, özellikle arterler olmak üzere geniş kan damarlarındaki endotelial hücrelerden eksprese edilmektedir. EPCR protein C'ye bağlanarak protein C'nin trombin-TM kompleksi tarafından aktivasyonunu arttırmaktadır (79). Normal şartlarda plazmada ölçülebilir miktarda soluble EPCR bulunmaktadır. Soluble EPCR, APC'nin fosfolipidlerle etkileşimi bloke ederek APC'nin aktif kısmını değiştirmektedir. Soluble EPCR'nin plazmada artması EPCR ilişkili koagülasyona neden olmaktadır (16). Soluble EPCR'nin fizyolojik önemi bilinmemesine rağmen sepsis ve lupus gibi sistemik inflamatuvar durumlarda arttığı bilinmektedir. (15, 86). EPCR'nin çeşitli tümörlerde birkaç hücre serilerinden eksprese edildiği bilinmektedir (87) fakat kolorektal kanserde EPCR'nin plazma seviyesi ile ilgili herhangi bir bilgi bulunmamaktadır.

Kolon kanserinde, koagülasyon aktivasyonunun sadece vasküler yatakta değil ayrıca gelişmekte olan tümörün ekstravasküler boşluğunda da devam ettiği gösterilmiştir (101, 102). Bugüne kadar kolorektal kanserli hastalarda koagülasyon inhibisyon sisteminin fonksiyonları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır ve protein C sistemi durumu da belirsizliğini korumaktadır. Çalışmamızın amacı kolorektal kanserli hastalarda plazma çözünür TM ve EPCR seviyelerini ölçerek, bu sonuçları hem sağlıklı kontrol grubuyla hem de hastaların tanı anındaki evre ve metastatik durumuna göre kendi içinde karşılaştırılmasıdır. Ayrıca, sTM ve sEPCR'nin tümör diferansiyasyonu, lenfovasküler invazyon durumu ve mikrovasküler trombus varlığı ile ilişkisi de değerlendirilmiştir. Gelecekte, belki bu iki protein kolorektal kanser için serolojik bir marker olarak kullanılabilir.

Şimdiye kadar yapılan araştırmalarda, kolorektal kanserde TM ve EPCR'nin dokudaki ekspresyonuna bakılmış olup, bu iki proteinin plazmadaki çözünür seviyelerine bakılmamıştır. Ancak Lindahl AK ve arkadaşları 1993'de 35 kolorektal kanserli hastayı da içeren değişik kanser çeşidine sahip toplam 97 hastada ELISA ile

plazma TM seviyelerini ölçmüşlerdir. Bu çalışma sonucunda sağlıklı kontrol grubuna göre, kanserli hastalarda plazma TM seviyesinin arttığı, fakat bu artışın her kanser türüne göre farklı oranda olduğu belirtilmiştir (18). Bizim çalışmamızda da, kolorektal kanserli hastalarda, sağlıklı kontrol grubuna göre hem plazma TM hem de plazma EPCR seviyeleri artmıştır.

Plazma TM seviyesi, endotel bütünlüğüne ve molekülün temizlenmesine bağlı olarak değişir. TM'nin plazma seviyesi farklı patolojik durumlarda görülen endotel hasarına bağlı olarak artar. Böylece endotel hücre hasarının bir göstergesi olarak kabul edilir (103, 104). Zhou ve ark. radyoterapi alan kanser hastalarında plazma TM seviyesini ölçmüşler, radyasyon dozu ile plazma TM seviyesi arasında pozitif bir korelasyon olduğunu, böylece radyoterapiye maruz kalan hastalarda endotel hücrelere radyasyon hasarının erken saptanması için plazma TM seviyesinin kullanışlı bir marker olduğunu belirtmişlerdir (105). Suehiro ve ark. hepatosellüler karsinomlu (HCC) hastalarda TM ekspresyonunu değerlendirmişler, TM üreten HCC'nin yavaş intrahepatik yayılım gösterdiğini belirtmişlerdir. TM'nin antikoagülan aktivitesi nedeniyle portal vene tümör hücrelerinin adezyonunu inhibe edebileceğini ve böylece intrahepatik metastazı önleyebileceğini önermişlerdir (67). Yılmaz ve ark. ile Zekanowska ve ark. akciğer kanserli hastalarda plazma TM seviyelerini ölçerek, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırmışlar fakat anlamlı bir fark bulamamışlardır. Bu nedenle plazma TM seviyesinin akciğer kanserli hastalarda bir tümör belirteci olarak kabul edilemeyeceğini belirtmişlerdir (106, 107). Salmaggi ve ark. glioblastoma multiforme (GBM) hastalardaki plazma TM seviyesini sağlıklı kontrollerle karşılaştırdıklarında anlamlı olarak arttığını gördüler. Belki de TM, GBM'li hastalarda bir tümör marker olarak kullanılabilir (108). Tezuka ve ark. yaptığı bir çalışmada, özefajial skuamöz hücreli karsinomda lenf nodu metastazı olanlarda, primer ve metastatik lezyonlar arasındaki TM ekspresyonu karşılaştırılmış ve metastatik lezyonlarda TM ekspresyonunun anlamlı bir şekilde az olduğu görülmüştür. Bunun nedeni TM ekspresyonu negatif olan skuamöz hücreli karsinom hücreleri düşük antikoagülan aktiviteye sahip oldukları için, kanser hücrelerinin endotelyuma yapışmasını sağlayıp metastazı başlatabilir (98). Görüldüğü gibi yukarıda yapılan çalışmaların neredeyse hepsinde, plazma sTM seviyesi kanserli hastalarda sağlıklı kontrollere göre yüksek saptanmıştır.

TM, adenokarsinomlarda skuamöz hücreli karsinomlarda olduğu gibi yaygın değildir. Daha önce yapılan birkaç çalışmada kolon adenokarsinomundaki ekspresyonu küçük birkaç çalışmada incelenmiştir (109, 110). Son dönemde TM ekspresyonu temel olarak bazı epitelyal karsinomlar tarafından gösterilmiştir. Azalmış ekspresyon, metastaz ve yüksek tekrarlama oranlarıyla ilişkilidir (111). 2006 yılında Hanly ve ark. primer kolorektal adenokarsinomlu hastaları içeren geniş bir kohort çalışma yapmışlar ve tümör örneklerini TM boyanması açısından incelemişler, iyi farklılaşmış tümör örneklerinde TM ekspresyonunun orta ve zayıf farklılaşmış olanlara göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Böylece, TM'nin kolorektal tümör hücreleri üzerindeki varlığının farklılaşmayı inhibe ettiğini, tümör gelişimi ve metastazı düzenleyebileceğini göstermişlerdir. Azalmış TM ekspresyonunun, ileri evre ve artmış tümör grade ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca kolorektal tümör hücreleri üzerindeki TM ekspresyonu çalışmada artmış sağkalım ile ilişkiliydi (100). Böylece skuamöz ve diğer epitelyal karsinoma benzer şekilde, primer kolorektal adenokarsinomda neoplastik TM ekspresyonunun koruyucu olduğu görünmektedir. Fakat TM, normal kolonik epitelyal hücrelerde, skuamöz hücrelere göre daha az eksprese edilmiştir (112-113). Bugüne kadar yapılan çalışmaları taradığımızda; kolorektal kanserde tümör diferansiyasyonu, lenfovasküler invazyon durumu, mikrovasküler trombus varlığı ile plazma sTM ve sEPCR seviyeleri arasındaki ilişkinin araştırılmadığını gördük. Çalışmamızda bu değişkenler ile plazma sTM ve sEPCR seviyelerini karşılaştırdık. Tümör diferansiyasyonu ve lenfovasküler invazyon ile plazma sTM ve sEPCR seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamadık. Mikrovasküler trombus pozitif saptananlarda ise ortalama plazma sTM ve sEPCR seviyeleri negatif saptananlardan yüksekti. Fakat iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi.

Xu GB ve arkadaşları 188 kanser hastasında (akciğer, pankreas, mide, kolon, nazofaringeal ve laringeal kanserli hastaları içeren) yaptıkları çalışmada plazma TM seviyesi ve doku TM ekspresyonuna bakmışlar, metastatik olanlarda TM ekspresyonunun düşük ve plazma TM seviyelerinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bu da bize kanserli hastalarda plazma TM seviyelerinin yükselmesinin, metastaz ve kanserlerin difüzyonu ile ilişkili olduğunu gösterir (114). Ayrıca akciğer, oral ve meme kanserlerinde tümör dokusunda az veya hiç TM ekspresyonu oluşu kötü

prognoz ile ilişkilidir (75, 93, 95, 98, 100). Görüldüğü gibi TM seviyeleri kanserlerin metastazını ve progresyonunu değerlendirmek için hassas bir gösterge olarak kullanılabilir. Bizim çalışmamızda ise; tanı anında metastazı olan ve ileri evredeki hastaların plazma sTM ve sEPCR düzeylerini, düşük evredeki ve metastazı olmayan hastalar ile karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık. Bunun evrelere göre hasta sayısının az olmasından kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz. Ancak dokulardaki ekspresyonunu saptamak için immünohistokimyasal çalışma yapılması ek faydalar sağlayabilir.

Ayrıca kolorektal kanserli hastalarda tromboza eğilim artmıştır. Bunun nedeni genellikle APC yolağındaki kazanılmış defekt ile ilgili olup, bu da trombotik eğilimi arttırmaya katkıda bulunur. Ewa Sierko ve ark. kolorektal kanserli hastalarda TM, PC ve PS ekspresyonunu araştırmışlar ve bu mediatörlerin bu hastalarda az eksprese edildiğini veya hiç eksprese edilmediğini tespit etmişlerdir ki, bu da koagülasyon inhibitör sistemin yetersiz olduğunu göstermektedir (115). Ek olarak artmış sEPCR seviyelerinin artmış tromboz riski ile ilgili olabileceği belirtilmektedir (82). Fakat bizim çalışmamızda takip süresi boyunca hiçbir hastada tromboembolik olay gelişmedi.

TM'nin daha önce kolorektal kanserde koruyucu faktör olarak görev yaptığı ve daha uzun sağkalım ile korelasyon gösterdiği belirtilmiştir. (100). TM gen düzenleyicisinin susturulması TM sentezinin downregülasyon göstermesine neden olmaktadır (71). TM'nin antikoagülan aktivitesinden bağımsız olarak kanser büyümesi ile ilişkisi gösterilmiştir. Tümör hücreindeki fazla ekspresyonu in vitro proliferasyonu ve in vivo tümör büyümesinin azalması ile ilişkilidir (94).

Kanser dokularındaki EPCR ekspresyonu ile ilgili literatürde çok fazla veri bulunmamaktadır. Ayrıca soluble EPCR'nin in vivo olarak fizyolojik önemi kesin olarak bilinmemektedir (16). Tsuneyoshi ve ark. tarafından invaziv duktal meme karsinomlu doku örneklerinde EPCR ekspresyonu incelenmiş ve kuvvetli EPCR ekspresyonu saptanmıştır. Benzer şekilde iki glioblastoma hücre serisinde ve farklı lösemi hücre dizilerinde de EPCR ekspresyonu saptanmıştır (87). Böylece EPCR'nin bazı kanser tiplerinin patogenezinde ve progresyonunda rol oynayabileceği öne sürülmüştür (87). Yapılan bir çalışmada HCC'li kronik karaciğer hastalarında, HCC olmayan kronik karaciğer hastalarına göre soluble TM seviyesi daha yüksekken, iki

grup arasında soluble EPCR düzeyleri arasında bir fark saptanmamıştır. Ancak yüksek EPCR seviyesinin HCC’de kötü prognozla ve ölümlle ilişkili olduğu gösterilmiştir (88). Bir başka çalışmada da melanoma hücre dizilerinde APC/EPCR yolunun tümör migrasyonu ve metastazı üzerine etkisi incelenmiş. EPCR over ekspresyonu gösteren farelerde karaciğer metastazının %50, akciğer metastazının %92 oranında azaldığı gösterilmiştir. Bu bulgularla APC/EPCR yolunun tümör adezyon ve migrasyonunu inhibe ederek tümör metastazlarını azalttığı öne sürülmüştür (116). Bizim çalışmamızda da kolorektal kanserli hastalarda EPCR seviyesi sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır. Ancak plazma sEPCR düzeyi ile hastalık evresi, metastatik durum, tümör diferansiyasyonu, lenfovasküler invazyon durumu ve mikrovasküler trombus varlığı arasında ilişki saptanmamıştır. Bu çalışma kolorektal kanserli hastalarda plazma sEPCR seviyesinin arttığını gösteren ilk çalışmadır.

Sonuç olarak çalışmamızda, kolorektal kanserli hastalarda plazma sTM ve sEPCR seviyeleri sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, TM ve EPCR’yi içeren protein C yolunun kolorektal kanserli hastaların patogenezinde ve biyolojisinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Fakat çalışmamızda, bu iki belirtecin plazma çözünür düzeyleri ile hastalık evresi, tümör lokalizasyonu, tümör diferansiyasyonu, lenfovasküler invazyon durumu, mikrovasküler trombus varlığı ve tromboz gelişimi açısından anlamlı bir ilişki bulunmadı. Ancak daha fazla sayıda hasta içeren, dokuda da TM ve EPCR ekspresyonuna bakıldığı, tedavi öncesi ve sonrası da plazma ile doku düzeylerinin araştırıldığı daha büyük çapta çalışmalar yapılması gelecekte bu konuda ek katkılar sağlayabilir.

## KAYNAKLAR

- 1- Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics 2009 . CA Cancer J Clin 59(4):225-49, 2009.
- 2- Sağlık Bakanlığı Kanserele Savaş Dairesi Başkanlığı: Kansere İstatistikleri; <http://sbu.saglik.gov.tr>
- 3- Hilen HF. Thrombosis in cancer patients . Ann Oncol 11 Suppl 3:273-6, 2000.
- 4- Casillas S, Nicholson JD. Aortic thrombosis after low anterior resection for rectal cancer: report of a case. Dis Colon Rectum 45(6):829-32, 2002.
- 5- Bergqvist D, Lindblad B. Thromboembolic problems in colorectal cancer surgery. Scand J Gastroenterol Suppl 149:74-81, 1988.
- 6- Iversen LH, Thorlacius-Ussing O. Relationship of coagulation test abnormalities to tumour burden and postoperative DVT in resected colorectal cancer. Thromb Haemost 87(3):402-8, 2002.
- 7- Lee FY, Chu W, Chan R, Leung YF, Liu KH, Ng SM, Lai PB, Metreweli C, Lau WY. Incidence of deep vein thrombosis after colorectal surgery in a Chinese population. ANZ J Surg 71(11):637-40, 2001.
- 8- Iversen LH, Okholm M, Thorlacius-Ussing O. Pre- and postoperative state of coagulation and fibrinolysis in plasma of patients with benign and malignant colorectal disease-a preliminary study. Thromb Haemost 76(4):523-8, 1996.
- 9- Abbasciano V, Guerra S, Reali MG, Guglielmini C. Pre- and postsurgery activation of blood coagulation in gastric and large bowel cancers: diagnostic, therapeutic and prognostic hints. Oncology 47(3):261-6, 1990.
- 10- Wojtukiewicz MZ, Zacharski LR, Moritz TE, Hur K, Edwards RL, Rickles FR. Prognostic significance of blood coagulation tests in carcinoma of the lung and colon. Blood Coagul Fibrinolysis 3(4):429-37, 1992.
- 11- Dahlback B. The protein C anticoagulant system: inherited defects as basis for venous thrombosis. Thromb Res 77:1-43, 1995.
- 12- Laszik Z, Mitro A, Taylor FB Jr, Ferrell G, Esmon CT. Human protein C receptor is present primarily on endothelium of large blood vessels: implications for the control of the protein C pathway. Circulation 96(10):3633-40, 1997.
- 13- Esmon CT, Owen WG. Identification of an endothelial cell cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. Proc Natl Acad Sci USA 78(4):2249-52, 1981.

- 14- Xu J, Qu D, Esmon NL, Esmon CT. Metalloproteolytic release of endothelial cell protein C receptor. *J Biol Chem* 275(8):6038-44, 2000.
- 15- Kurosawa S, Stearns-Kurosawa DJ, Carson CW, et al. Plasma levels of endothelial cell protein C receptor are elevated in patients with sepsis and systemic lupus erythematosus: lack of correlation with thrombomodulin suggests involvement of different pathological processes. *Blood* 91(2):725-7, 1998.
- 16- Kurosawa S, Stearns-Kurosawa DJ, Hidari N, Esmon CT. Identification of functional endothelial protein C receptor in human plasma. *J Clin Invest* 2:411-18, 1997.
- 17- Boomsma MM, Stearns-Kurosawa DJ, Stegeman CA, Raschi E, Meroni PL, Kurosawa S, Cohen Tervaert JW. Plasma levels of soluble endothelial cell protein C receptor in patients with Wegener's granulomatosis. *Clin Exp Immunol* 128: 187-94, 2002.
- 18- Lindahl AK, Boffa MC, Abildgaard U. Increased plasma thrombomodulin in cancer patients. *Thromb Haemost* 69(2):112-4, 1993.
- 19- Feldman M, Friedman L, Brandt L. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management, 2-Volume Set. 8th edition, pp. 2760-806, Saunders Elsevier, Philadelphia, 2006.
- 20- Rosai J. Ackerman's Surgical Pathology. In Rosai J. Gastrointestinal Tract, Large Bowel. 9th ed, pp. 776-823, Mosby Company; China, 2004.
- 21- Kodner IJ, Fry RD, Fleshman JW, Birnbaum EH, Read TE. Principles of Surgery (Cerrahinin İlkeleri). Türkçe çeviri editörü: Geçim İ.Ethem. 7th ed. s. 1283-1394, Antip, Ankara, 2004.
- 22- Dizdaroğlu F. Sindirim sistemi tümörleri. Edit. Topuz E, Aykan NF, Demir C. Patoloji.1.baskı, İstanbul: İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları, s. 373-458, 1998.
- 23- Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 87(2):159-70, 1996.
- 24- Ekobom A, Helmick C, Tach M, et al. Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population- based study. *N Engl J Med* 323:1228, 1990.
- 25- Stewart M, Macrae FA, Williams CB. Neoplasia and Ureterosigmoidostomy: A colonoscopy survey. *Br J Surg* 69:414, 1982.

- 26- Mercer PM, Reid FD, Harrison M, Bates T. The relationship between cholecystectomy, unoperated gallstone disease, and colorectal cancer. A necropsy study. *Scand J Gastroenterol* 30:1017, 1995.
- 27- Hu FB, Manson JE, Liu S, et al. Prospective study of adult onset diabetes mellitus (type 2) and risk of colorectal cancer in women. *J Natl Cancer Inst* 91: 542, 1999.
- 28- Fukuda I, Hizuka N, Murakami Y, Itoh E. Clinical features and therapeutic outcomes of 65 patients with acromegaly at Tokyo Women's Medical University. *Intern Med* 40: 987, 2001.
- 29- Mayer RJ. Gastrointestinal tract cancer. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th ed. p. 523-33, New York: McGraw-Hill, 2005.
- 30- Dahl J, Greenson JK. Histology for Pathologist. In: Mills S.E. *Colon*. 3th ed. pp. 627-43, Lippincott Williams & Wilkins; Philadelphia, 2001.
- 31- Daniel C. Chung. The genetic basis of colorectal cancer: insights into critical pathways of tumorigenesis. *Gastroenterology* 119: 854-65, 2000.
- 32- Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 319(9):525-32, 1988.
- 33- Luebeck EG, Moolgavkar SH. Multistage carcinogenesis and the incidence of colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 99(23):15095-100, 2002.
- 34- Hedrick L, Cho KR, Boyd J, Risinger J, Vogelstein B. DCC: a tumor suppressor gene expressed on the cell surface. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 57:345-51, 1992.
- 35- Cho KR, Vogelstein B. Suppressor gene alterations in the colorectal adenoma-carcinoma sequence. *J Cell Biochem Suppl* 16G:137-41, 1992.
- 36- Campo E, de la Calle-Martin O, Miquel R, Palacin A, Romero M, Fabregat V, Vives J, Cardesa A, Yague J. Loss of heterozygosity of p53 gene and p53 protein expression in human colorectal carcinomas. *Cancer Res* 51(16):4436-42, 1991.
- 37- Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM, Hamilton SR, Preisinger AC, Jessup JM, vanTuinen P, Ledbetter DH, Barker DF, Nakamura Y, White R, Vogelstein B. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science* 244(4901):217-21, 1989.
- 38- Peltomäki P. DNA mismatch repair and cancer. *Mutat Res* 488(1):77-85, 2001.

- 39- Türkiye Klinikleri J Med Oncol-Special Topics 1(3):1-9, 2008.
- 40- Nelson H, Petrelli N, Carlin A, Couture J, Fleshman J, Guillem J, et al. Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. J Natl Cancer Inst 93(8):583-96, 2001.
- 41- Sarli L, Bader G, Iusco D, Salvemini C, Mauro DD, Mazzeo A, et al. Number of lymph nodes examined and prognosis of TNM stage II colorectal cancer. Eur J Cancer 41(2):272-9, 2005.
- 42- Libutti SK, Saltz LB, Rustgi AK, Tepper JE. Cancer of the Colon. In: DeVita VT Jr., Hellman S, Rosenberg SA, ed. Cancer: Principles & Practice of Oncology. pp. 1061-1125, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia , 2005.
- 43- Kern W.F. PDQ Hematoloji. Çeviri:Ferhanoglu B. İstanbul Medikal Yayıncılık, 1.baskı, s:381- 420, 2005.
- 44- Dinçol G, Pekçelen Y, Atamer T, Sargın D, Nalçacı M, Aktan M, Besisık S. Klinik Hematoloji. Nobel Tıp Kitapevi, 1.baskı, s:347-398, 2003.
- 45- Greenberg CS, Orthner CL. Blood coagulation and fibrinolysis. Ed: G.Richard Lee, John Foerster, John Lukens, Frixos Paraskevas, John P Greer, George M Rodgers, Wintrobe's Clinical Hematology, 10th edition, pp. 684-764, Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, 1999.
- 46- Dahlbäck B. Blood coagulation. Lancet 355:1627-32, 2000.
- 47- Stenflo J, Fernlund P. Amino acid sequence of the heavy chain of bovine protein C. J Biol Chem 257:12180-90, 1982.
- 48- Esmon CT, Esmon NL, Harris KW. Isolation of a membrane-bound cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. J Biol Chem 257:7944-47, 1982.
- 49- Wouwer M, Collen D, Conway E. Thrombomodulin-Protein C-EPCR System. Arterioscler Thromb Vasc Biol 24:1374-83, 2004.
- 50- Esmon CT. The protein C pathway. Chest 124:26S-32S, 2003.
- 51- Dahlback B. Progress in the understanding of the protein C anticoagulant pathway. Int. J. Hematol 79:109-16, 2004.
- 52- Esmon CT. The endothelial cell protein C receptor. Thromb. Haemost 83(5):639-43, 2000.
- 53- Chrobak L, Dulicek P. Resistance to activated protein C as pathogenic factor of venous thromboembolism. Acta Medica 39:55-62, 1996.

- 54- Esmon CT. Interactions between the innate immune and blood coagulation systems. *Trends Immunol* 25:536-42, 2004.
- 55- Riewald M, Petrovan RJ, Donner A, Mueller BM, Ruf W. Activation of endothelial cell protease activated receptor 1 by the protein C pathway. *Science* 296:1880-2, 2002.
- 56- Cheng T, Liu D, Griffin JH, Fernandez JA, Castellino F, Rosen ED, Fukudome K, Zlokovic BV. Activated protein C blocks p53-mediated apoptosis in ischemic human brain endothelium and is neuroprotective. *Nat Med* 9:338-42, 2003.
- 57- Riewald M, Petrovan RJ, Donner A, Ruf W. Activated protein C signals through the thrombin receptor PAR1 in endothelial cells. *J Endotoxin Res* 9:317-21, 2003.
- 58- Laterre PF, Heiselman D. Management of patients with severe sepsis, treated by drotrecogin alfa (activated). *Am J Surg* 184(6A Suppl):S39-46, 2002.
- 59- Esmon CT. The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem* 264(9):4743-6, 1989.
- 60- De Munk GA, Groeneveld E, Rijken DC. Acceleration of the thrombin inactivation of single chain urokinase-type plasminogen activator (pro-urokinase) by thrombomodulin. *J Clin Invest* 88(5):1680-4, 1991.
- 61- Califano F, Giovannello T, Pantone P, Campana E, Parlapiano C, Alegiani F, Vincentelli GM, Turchetti P. Clinical importance of thrombomodulin serum levels. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 4(3):59-66, 2000.
- 62- Hanly AM, Hayanga A, Winter DC, Bouchier-Hayes DJ. Thrombomodulin: tumour biology and prognostic implications. *Eur J Surg Oncol* 31(3):217-20, 2005.
- 63- Ishii H, Majerus PW. Thrombomodulin is present in human plasma and urine. *J Clin Invest* 76(6):2178-81, 1985.
- 64- Asakura H, Jokaji H, Saito M et al. Plasma levels of soluble thrombomodulin increase in cases of disseminated intravascular coagulation with organ failure. *Am J Hematol* 38:281-87, 1991.
- 65- Iba T, Yagi Y, Kidokoro A, Fukunaga M, Fukunaga T. Increased plasma levels of soluble thrombomodulin in patients with sepsis and organ failure. *Surg Today* 25:585-90, 1995.
- 66- Hanly AM, Winter DC. The role of thrombomodulin in malignancy. *Semin Thromb Hemost* 33(7):673-9, 2007.

- 67- Suehiro T, Shimada M, Matsumata T, Taketomi A, Yamamoto K, Sugimachi K. Thrombomodulin inhibits intrahepatic spread in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 21(5):1285-90, 1995.
- 68- Imada M, Imada S, Iwasaki H, Kume A, Yamaguchi H, Moore EE. Fetomodulin: marker surface protein of fetal development which is modulatable by cyclic AMP. *Dev Biol* 122(2):483-91, 1987.
- 69- Nierodzik ML, Plotkin A, Kajumo F, Karpatkin S. Thrombin stimulates tumor-platelet adhesion in vitro and metastasis in vivo. *J Clin Invest* 87(1):229-36, 1991.
- 70- Lafay M, Laguna R, Le Bonniec BF, Lasne D, Aiach M, Rendu F. Thrombomodulin modulates the mitogenic response to thrombin of human umbilical vein endothelial cells. *Thromb Haemost* 79(4):848-52, 1998.
- 71- Zhang Y, Weiler-Guettler H, Chen J, et al. Thrombomodulin modulates growth of tumor cells independent of its anticoagulant activity. *J Clin Invest* 101(7):1301-9, 1998.
- 72- Albo D, Berger DH, Rothman VL, Tuszynski GP. Role of urokinase plasminogen activator receptor in thrombospondin 1-mediated tumor cell invasion. *J Surg Res* 82(2):331-8, 1999.
- 73- Wilhelm S, Wilhelm O, Schmitt M, Graeff H. Inactivation of receptor-bound pro-urokinase-type plasminogen activator (pro-uPA) by thrombin and thrombin/thrombomodulin complex. *Biol Chem Hoppe Seyler* 375(9):603-8, 1994.
- 74- Iqbal S. Role of thrombomodulin in cancer biology. *Breast* 9(5):264-6, 2000.
- 75- Kim SJ, Shiba E, Ishii H, Inoue T, Taguchi T, Tanji Y, Kimoto Y, Izukura M, Takai S. Thrombomodulin is a new biological and prognostic marker for breast cancer: an immunohistochemical study. *Anticancer Res* 17(3C):2319-23, 1997.
- 76- Weiler H, Isermann BH. Thrombomodulin. *J Thromb Haemost* 1(7):1515-24, 2003.
- 77- Hosaka Y, Higuchi T, Tsumagari M, Ishii H. Inhibition of invasion and experimental metastasis of murine melanoma cells by human soluble thrombomodulin. *Cancer Lett* 161(2):231-40, 2000.
- 78- Boffa MC, Karmochkine M. Thrombomodulin: an overview and potential implications in vascular disorders. *Lupus* 7: S120-S125, 1998.

- 79- Regan LM, Stearns-Kurosawa DJ, Kurosawa S, Mollica J, Fukudome K, Esmon CT. The endothelial cell protein C receptor. Inhibition of activated protein C anticoagulant function without modulation of reaction with proteinase inhibitors. *J Biol Chem* 271(29):17499-503, 1996.
- 80- Villoutreix BO, Blom AM, Dahlbäck B. Structural prediction and analysis of endothelial cell protein C/activated protein C receptor. *Protein Eng* 12(10):833-40, 1999.
- 81- Fukudome K, Esmon CT. Identification, cloning, and regulation of a novel endothelial cell protein C/activated protein C receptor. *J Biol Chem* 269(42):26486-91, 1994.
- 82- Saposnik B, Reny JL, Gaussem P, Emmerich J, Aiach M, Gandrille S. A haplotype of the EPCR gene is associated with increased plasma levels of sEPCR and is a candidate risk factor for thrombosis. *Blood* 103(4):1311-18, 2004.
- 83- Liaw PC, Neuenschwander PF, Smimov MD, Esmon CT. Mechanisms by which soluble endothelial cell protein C receptor modulates protein C and activated protein C function. *J Biol Chem* 275:5447-52, 2000.
- 84- Stearns-Kurosawa DJ, Burgin C, Parker D, Comp P, Kurosawa S. Bimodal distribution of soluble endothelial protein C receptor levels in healthy populations. *Blood* 4:855-6, 2003.
- 85- Ulu A, Gunal D, Tiras S, Eğin Y, Deda G, Akar N. EPCR gene A3 haplotype and elevated soluble endothelial protein C receptor (s EPCR) levels in Turkish pediatric stroke patients. *Thromb Res* 120(1):47-52, 2007.
- 86- Orhon FS, Ergun H, Egin Y, Ulukol B, Baskan S, Akar N. Soluble endothelial protein C receptor levels in healthy population. *J Thromb Thrombolysis* 29(1):46-51, 2010.
- 87- Tsuneyoshi N, Fukudome K, Horiguchi S, Ye X, Matsuzaki M, Toi M, Suzuki K, Kimoto M. Expression and anticoagulant function of the endothelial cell protein C receptor (EPCR) in cancer cell lines. *Thromb Haemost* 85(2):356-61, 2001.
- 88- Biguzzi E, Franchi F, Bucciarelli P, Colombo M, Romeo R. Endothelial protein C receptor plasma levels increase in chronic liver disease, while thrombomodulin plasma levels increase only in hepatocellular carcinoma. *Thromb Res* 120(2):289-93, 2007.
- 89- Wojtukiewicz MZ, Sierko E, Kisiel W. The role of hemostatic system inhibitors in malignancy. *Semin Thromb Hemost* 33(7):621-42, 2007.

- 90- Zacharski LR, Wojtukiewicz MZ, Costantini V, Ornstein DL, Memoli VA. Pathways of coagulation/fibrinolysis activation in malignancy. *Semin Thromb Hemost* 18(1):104-16, 1992.
- 91- Ishii H, Uchiyama H, Kazama M. Soluble thrombomodulin antigen in conditioned medium is increased by damage of endothelial cells. *Thromb Haemost* 65(5):618-23, 1991.
- 92- Wilhelm S, Schmitt M, Parkinson J, Kuhn W, Graeff H, Wilhelm OG. Thrombomodulin, a receptor for the serine protease thrombin, is decreased in primary tumors and metastases but increased in ascitic fluids of patients with advanced ovarian cancer FIGO IIIc. *Int J Oncol* 13(4):645-51, 1998.
- 93- Tamura A, Hebisawa A, Hayashi K, Sagara Y, Fukushima K, Kurashima A, Yotsumoto H, Mori M, Komatsu H. Prognostic significance of thrombomodulin expression and vascular invasion in stage I squamous cell carcinoma of the lung. *Lung Cancer* 34(3):375-82, 2001.
- 94- Ogawa H, Yonezawa S, Maruyama I, Matsushita Y, Tezuka Y, Toyoyama H, et al. Expression of thrombomodulin in squamous cell carcinoma of the lung: its relationship to lymph node metastasis and prognosis of the patients. *Cancer Lett* 149(1-2):95-103, 2000.
- 95- Hamatake M, Ishida T, Mitsudomi T, Akazawa K, Sugimachi K. Prognostic value and clinicopathological correlation of thrombomodulin in squamous cell carcinoma of the human lung. *Clin Cancer Res* 2(4):763-6, 1996.
- 96- Tabata M, Sugihara K, Yonezawa S, Yamashita S, Maruyama I. An immunohistochemical study of thrombomodulin in oral squamous cell carcinoma and its association with invasive and metastatic potential. *J Oral Pathol Med* 26(6):258-64, 1997.
- 97- Matsushita Y, Yoshiie K, Imamura Y, Ogawa H, Imamura H, Takao S, Yonezawa S, et al. A subcloned human esophageal squamous cell carcinoma cell line with low thrombomodulin expression showed increased invasiveness compared with a high thrombomodulin-expressing clone--thrombomodulin as a possible candidate for an adhesion molecule of squamous cell carcinoma. *Cancer Lett* 127(1-2):195-201, 1998.

- 98- Tezuka Y, Yonezawa S, Maruyama I, Matsushita Y, Shimizu T, Obama H, Sagara M, Shirao K, Kusano C, Natsugoe S, et al. Expression of thrombomodulin in esophageal squamous cell carcinoma and its relationship to lymph node metastasis. *Cancer Res* 55(18):4196-200, 1995.
- 99- Huang HC, Shi GY, Jiang SJ, Shi CS, Wu CM, Yang HY, Wu HL. Thrombomodulin-mediated cell adhesion: involvement of its lectin-like domain. *J Biol Chem* 278(47):46750-9, 2003.
- 100- Hanly AM, Redmond M, Winter DC, Brophy S, et al. Thrombomodulin expression in colorectal carcinoma is protective and correlates with survival. *Br J Cancer* 94(9):1320-5, 2006.
- 101- Sierko E, Tokajuk P, Butkiewicz A, Sulkowski S, Zimnoch L, Wojtukiewicz MZ. Expression evaluation of in loco coagulation system in colorectal cancer. *Pol Merkur Lekarski* 18(104):176-9, 2005.
- 102- Wojtukiewicz MZ, Zacharski LR, Memoli VA, Kisiel W, Kudryk BJ, Rousseau SM, Stump DC. Indirect activation of blood coagulation in colon cancer. *Thromb Haemost* 62(4):1062-6, 1989.
- 103- Takano S, Kimura S, Ohdama S, Aoki N. Plasma thrombomodulin in health and diseases. *Blood* 76(10):2024-9, 1990.
- 104- Boffa MC, Karochkine M, Bérard M. Plasma thrombomodulin as a marker of endothelium damage. *Nouv Rev Fr Hematol* 33(6):529-30, 1991.
- 105- Zhou QS, Zhao YM, Xu CS, Yu ZY, Yao DY, Gao YM, Ruan CG. Increase in plasma thrombomodulin and decrease in plasma von Willebrand factor after regular radiotherapy of patients with cancer. *Thromb Res* 68(2):109-18, 1992.
- 106- Yilmaz T, Akman M, Tutluoğlu B, Afrasyap L, Göylüsün V, Celik N. Plasma thrombomodulin levels in lung cancer patients. *Panminerva Med* 41(2):125-8, 1999.
- 107- Zekanowska E, Cieśliński K, Kotschy M, Lambrecht W. Levels of soluble thrombomodulin in blood of patients with lung cancer. *Pneumonol Alergol Pol* 69(3-4):174-8, 2001.
- 108- Salmaggi A, Eoli M, Frigerio S, Ciusani E, Silvani A, Boiardi A. Circulating intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and plasma thrombomodulin levels in glioblastoma patients. *Cancer Lett* 146(2):169-72, 1999.

- 109- Ordóñez NG. Value of thrombomodulin immunostaining in the diagnosis of transitional cell carcinoma: a comparative study with carcinoembryonic antigen. *Histopathology* 31(6):517-24, 1997.
- 110- Takebayashi Y, Yamada K, Maruyama I, Fujii R, Akiyama S, Aikou T. The expression of thymidine phosphorylase and thrombomodulin in human colorectal carcinomas. *Cancer Lett* 92(1):1-7, 1995.
- 111- Iino S, Abeyama K, Kawahara K, Yamakuchi M, Hashiguchi T, Matsukita S, Yonezawa S, et al. The antimetastatic role of thrombomodulin expression in islet cell-derived tumors and its diagnostic value. *Clin Cancer Res* 10(18 Pt 1):6179-88, 2004.
- 112- Yonezawa S, Maruyama I, Sakae K, Igata A, Majerus PW, Sato E. Thrombomodulin as a marker for vascular tumors. Comparative study with factor VIII and *Ulex europaeus* I lectin. *Am J Clin Pathol* 88(4):405-11, 1987.
- 113- Mizutani H, Ohyanagi S, Hayashi T, Groves RW, Suzuki K, Shimizu M. Functional thrombomodulin expression on epithelial skin tumours as a differentiation marker for suprabasal keratinocytes. *Br J Dermatol* 135(2):187-93, 1996.
- 114- Xu GB, Luo LH, Lu XG. Detection of thrombomodulin in both plasma and tissue extracts of cancer patients and its clinical significance. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 32(2):141-4, 2003.
- 115- Sierko E, Wojtukiewicz MZ, Zawadzki R, Zimnoch L, Kisiel W. Expression of protein C (PC), protein S (PS) and thrombomodulin (TM) in human colorectal cancer. *Thromb Res* 125(3):71-5, 2010.
- 116- Bezuhly M, Cullen R, Esmon CT, Morris SF, West KA, Johnston B, Liwski RS. Role of activated protein C and its receptor in inhibition of tumor metastasis. *Blood* 113(14):3371-4, 2009.

## 8. EKLER

### Ek 1:Etik Kurul Onayı



T.C.  
**ZONGULDAK KARAELMAS ÜNİVERSİTESİ**  
Uygulama ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu

TOPLANTI TARİHİ : 26.02.2009  
TOPLANTI NO : 2009/03

#### KARARLAR :

15- İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığının “Kolorektal Kanselerde Plazma Trombomodulin ve Soluble Endotelial Protein C Reseptör (sEPCR) Düzeyleri” konulu başvurusunun Etik kurallara uygun olduğuna,

Oy Birliği ile karar verilmiştir.

A S L I G İ B İ D İ R

  
Doç.Dr. Banu D. GÜN  
Hastane Etik Kurulu Başkanı