



## ARAŞTIRMA YAZISI

### ÜLSERATİF KOLİTLİ HASTALARIN NON-NEOPLASTİK İNFLAME KOLONİK MUKOZALARINDA MİKROSATELLİT İNSTABİLİTESİ

Özlen Atuğ<sup>1</sup>, Mustafa Akkiprik<sup>2</sup>, Fatih Eren<sup>3</sup>, Arzu Tiftikçi<sup>4</sup>, Filiz Türe Özdemir<sup>3</sup>, Faruk Aşıcıoğlu<sup>5</sup>, Hülya Över Hamzaoğlu<sup>1</sup>, Nurdan Tözün<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye <sup>2</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye <sup>3</sup>Marmara Üniversitesi Gastroenteroloji Enstitüsü, İstanbul, Türkiye <sup>4</sup>Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye <sup>5</sup>T.C. Adalet Bakanlığı, Adli Tıp Kurumu, İstanbul, Türkiye

#### ÖZET

**Giriş ve Amaç:** Ülseratif kolit (ÜK), zemininde kanser gelişme riski yüksek olan kronik inflamatuvar bir kolon hastalığıdır. ÜK ile ilişkili kanser gelişimine işaret edecek moleküler bir belirtece ihtiyaç duyulmaktadır. ÜK ile ilişkili kolorektal kanserlerde DNA tamir mekanizmasındaki yetersizliğin ve genomik mutasyonların bir belirteci olan mikrosatellit instabilitesinin (MSI) varlığı gösterilmiştir. ÜK'te neoplastik ve şiddetli inflamasyon görülen neoplastik olmayan mukozada MSI'ni gösteren bazı çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmanın amacı neoplastik olmayan hafif-orta derecede inflame ÜK mukozasında MSI'nin varlığını araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** ÜK'li 29 hastanın inflame kolonik mukosa örneklerinde multipleks PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile standart 5 adet belirteç (BAT-25, BAT-26, D2S123, D5S346, D17S250) kullanılarak MSI'nin varlığı araştırıldı.

**Bulgular:** ÜK'li hastaların neoplastik olmayan hafif-orta derecede inflame mukozalarında MSI saptanmadı.

**Sonuç:** ÜK'te MSI'ni değerlendirirken mukozadaki inflamasyonun derecesi göz önünde bulundurulmalıdır.

**Anahtar sözcükler:** Ülseratif kolit, Mikrosatellit instabilite

### MICROSATELLITE INSTABILITY IN THE INFLAMED AND NON-NEOPLASTIC COLONIC MUCOSA IN ULCERATIVE COLITIS

#### ABSTRACT

**Background and Aim:** Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory disease of the colon associated with a high risk of developing colorectal cancer. There is a need for a molecular marker that would predict the colorectal cancer associated with UC. Microsatellite instability (MSI) has been detected in colorectal cancers associated with UC. Some reports in the literature show the presence of MSI in the neoplastic and non-neoplastic severe inflammatory mucosa of UC. The aim of this study was to assess whether MSI is present in non-neoplastic mild to moderate inflamed mucosa in UC.

**Material and Method:** Colonic inflamed mucosa samples from 29 patients were analysed for MSI using the five standard markers BAT-25, BAT-26, D2S123, D5S346, and D17S250 by a multiplex polymerase chain reaction. All tissues had inactive or mild to moderate inflammatory activities as seen histopathologically.

**Results:** None of the non-neoplastic inflamed colonic mucosa samples showed MSI in the five standard markers.

**Conclusion:** This study suggests that the severity of inflammation should be taken into account when estimating MSI in UC.

**Keywords:** Ulcerative colitis, Microsatellite instability

#### İletişim Bilgileri:

Dr. Özlen Atuğ

Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

e-mail: ozlenatug@hotmail.com

Marmara Medical Journal 2009;22(1):012-018



## GİRİŞ

Ülseratif kolit (ÜK), kolonun sebebi bilinmeyen kronik inflamatuvar bir hastalıdır. Başlıca özellikleri; genetik yatkınlık, alevlenme-remisyon dönemleri, ekstraintestinal belirtiler ve uzun süreli hastalıkta görülen kanser riskidir. Uzun süreli hastalık, ekstensif tutulum, hastalık başlangıç yaşının küçük olması, ailede kolorektal kanser (KRK) öyküsü bulunması, primer sklerozan kolanjt varlığı, backwash ileitis ve kolonik inflamasyonun şiddeti ÜK'li hastalarda KRK riskini arttıran faktörlerdir. Hastalık süresi 10 yıl olanlarda KRK gelişme riski %2, 20 yıl olanlarda %8, 30 yılda ise %18-20 olarak bildirilmektedir<sup>1</sup>. Ayrıca hastalığın yaygın anatomik tutulumu da önemli diğer bir risk faktörüdür. KRK gelişme riski proktitte %1.7 iken sol taraf kolitinde %2.8 ekstensif kolitte ise %14 civarındadır<sup>2</sup>. Bu bilgiler ışığında günümüzde hastalık yaşı 8-10 yılın üzerinde olan ÜK'li hastalarda KRK gelişimi açısından izlem kolonoskopi önerilmektedir. ÜK'te KRK gelişme riskinin en önemli prediktörü kolonik biopsilerde displazi varlığıdır. Ancak KRK gelişen ÜK'li hastaların %20'sinde displazi yoktur<sup>3</sup>. Displazinin değerlendirilmesi ve derecelendirilmesindeki güçlükler ve nisbeten subjektif faktörler nedeniyle ÜK'te KRK gelişimine işaret eden, low grade displazi ( düşük dereceli displazi, LGD) ile inflame mukozadaki rejeneratif değişiklikleri ayırt edebilecek moleküler bir belirtece ihtiyaç vardır.

Mikrosatellitler insan genomu boyunca dağılmış olan basit ve kısa nükleotid tekrarlarıdır. Daha çok kodlanmayan DNA bölgelerinde bulunmaktadır. Tekrarlayan birimlerin delesyonu veya insersiyonu sonucunda segment uzunluğunun değişmesine mikrosatellit instabilite (MSİ) denilmektedir. MSİ, genom üzerindeki mutasyonların ve DNA tamir yetersizliğinin (mismatch repair) bir öncüsü olarak tanımlanır. MSİ, yüksek mutasyon hızı ile bağlantılıdır ve herediter non-poliposis kolorektal kanser sendromu (HNPCC), ÜK zemininde gelişen veya sporadik kolorektal kanser, mide kanseri, endometrioma, hepatosellüler kanser ve

küçük hücreli akciğer kanseri gibi malign hastalıklarda arttığı bildirilmiştir<sup>4-10</sup>.

Ayrıca son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda karsinom gelişimine zemin hazırladığı bilinen kronik pankreatit ve ÜK gibi kronik inflamasyonla karakterize hastalıklarda da MSİ'nin varlığı gösterilmiştir<sup>11-12</sup>

ÜK zemininde kronik inflamasyon, hızlı hücre yenilenme döngüsü ve proliferasyon sonucunda gelişen DNA tamir mekanizmalarındaki hasar MSİ de dahil olmak üzere pek çok genetik değişikliklere sebep olabilir. Bu nedenle de MSİ, ÜK'li hastalarda kolorektal kanser gelişimine işaret eden bir biyolojik gösterge olarak kullanılabilir.

Bu çalışmanın amacı Türk popülasyonunda ÜK'li hastalarda non-neoplastik kolonik epitelde MSİ'nin varlığını, hastalık yaşı ve hastalığın inflamatuvar aktivitesi ile ilişkisini araştırmaktır.

## GEREÇ-YÖNTEM

**Hasta grubu:** Çalışma protokolü Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komitesi tarafından onaylandıktan sonra, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı'na ve Marmara Üniversitesi Gastroenteroloji Enstitüsü' ne başvurarak klinik, endoskopik, histolojik ve radyolojik kriterlere göre ÜK tanısı almış 29 hasta çalışmaya alındı. Hastalarla ilgili demografik ve klinik özellikler Tablo I'de gösterilmiştir. Hastaların klinik aktiviteleri Truelove ve Witts kriterlerine göre hafif, orta ve ağır olarak değerlendirildi<sup>13</sup> (Tablo II). Kontrol grubu, yaş ve cins bakımından eşleştirilmiş irrtabl barsak sendromlu 13 kişiden oluşturuldu. Tüm katılımcılara çalışma için hazırlanmış bilgilendirilmiş onam formu okutulup imzalandıktan sonra total kolonoskopi yapılarak kolonun 6 segmentinden ( rektum, sigmoid, inen kolon, transvers kolon, çıkan kolon ve çekum) 2'şer adet biopsi alındı. Endoskopik aktivite derecesi Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksine göre aktif ve remisyonunda olarak belirtildi<sup>14</sup> (Tablo III).

**Tablo I:** Çalışma gruplarının demografik ve klinik özellikleri

	ÜLSERATİF KOLİT (ÜK) (N=29)	KONTROL (N=13)
<b>Yaş (ortalama ±SD) yıl</b>	36.5 ±8,9	35 ±9,2
<b>Cins (E/K)</b>	12/17	5/8
<b>Hastalık süresi (ortalama ±SD) yıl</b>	8±5	
≤ 7 yıl (n)	14	
≥ 8 yıl (n)	15	
<b>Hastalık tutulum yeri</b>		
Proktit n, (%)	0	
Sol taraf koliti n,(%)	8 (27,5)	
Pankolit n, (%)	21 (72,5)	
<b>Klinik aktivite</b>		
Hafif n, (%)	18 (62)	
Orta n, (%)	11 (38)	
Ağır n, (%)	0	
<b>Endoskopik aktivite</b>		
Remisyonunda n, (%)	13 (44,8)	
Aktif n, (%)	16 (55,2)	
<b>Histolojik aktivite</b>		
İnaktif n, (%)	13 (44,8)	
Hafif inflamasyon n, (%)	2 (6,8)	
Orta inflamasyon n, (%)	14 (48,2)	
Şiddetli inflamasyon n, (%)	0	
Displazi n, (%)	1 (3,4)	

**Tablo II:** Ülseratif kolitte Truelove ve Witts kriterleri

<b><u>Ağır:</u></b>	Dışkılama ; ishal günde altı defa ya da daha fazla ve kanlı Ateş ; ortalama akşam ısısı > 37.5 C ya da gün içinde en az iki gün herhangi bir zamanda > 37.7 C Taşikardi ; dakikada 90 vurudan yüksek nabız sayısı Anemi ; Hb < 7.5 gr / dl, ya da son zamanlarda transfüzyon gerektirecek ağırlıkta anemi Sedimentasyon hızı > 30 mm / saat
<b><u>Hafif:</u></b>	Hafif ishal, günde 4 kez veya daha az , çok az miktarda kanlı Ateş yok Taşikardi yok Anemi hafif derecede Sedimentasyon hızı < 30 mm / saat
<b><u>Orta:</u></b>	Ağır ve hafif hastalık kriterleri arasındaki bulgular içeren hastalar

**Tablo III:** Ülseratif kolitte Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksi

		<u>Skor</u>
1. Granülasyon	: yok :	0
	: var :	2
2. Vasküler görünüm	: normal :	0
	: azalmış :	1
	: kaybolmuş :	2
3. Frajilite	: yok :	0
	: dokunma ile kanama :	2
	: spontan kanama :	4
4. Mukozal hasar	: ( mukus, fibrin, eksüda, erozyon, ülser )	
	: yok :	0
	: hafif :	2
	: belirgin :	4

\* Toplam skor  $\geq 4$  : aktif,  $< 4$  : remisyon

ÜK grubunda, hasta görünen mukozal alanlardan biopsiler alındı. Kolonik biopsiler inflamasyonun derecesi ve displazi varlığı açısından iki ayrı patolog tarafından histopatolojik olarak incelendi. Histopatolojik aktivite Mats's sınıflamasına göre inaktif, hafif derecede inflamasyon, orta derecede inflamasyon ve şiddetli inflamasyon olarak 4 ayrı kategoriye ayrılarak rapor edildi<sup>15</sup>. Ayrıca Hemotoksilen&Eozin ile boyanmış kolonik biopsi örnekleri displazi açısından Riddell ve arkadaşlarının tarifine uygun olarak değerlendirildi<sup>16</sup>.

MSİ açısından kontrol olarak hastaların periferik kan lökositleri kullanıldı. Lökositlerden genomik DNA elde etmek için EDTA'lı 3 tüpe 2'şer ml tam kan örneği alındı. Kan örnekleri DNA ekstraksiyonu yapıncaya kadar +4 °C' de saklandı, kan alınması ile DNA ekstraksiyonu yapılması arasında +4 °C' de geçen süre 1-6 gündür.

### DNA izolasyonu

DNA izolasyonu, ÜK'li hastaların kolon mukozasından ve periferik kanlarından, iritabl barsak sendromlu hastaların ise periferik kanlarından gerçekleştirildi. DNA izolasyonu için "High Pure PCR Template Preparation Kit" (Roche) kiti kullanılmış olup uygulama kit protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. İzolasyon sonrası DNA miktar tayini 260 nm spektrofotometrik ölçümlerdeki absorbans oranlarına göre belirlenmiştir.

### Mikrosatellit İnstabilitesinin tayini

**Multipleks PCR:** Mikrosatellit instabilitesi "HNPC microsatellite test kit (Roche) kullanılarak tayin edildi. Kit protokolü esas alınarak yapılan çalışmada uluslararası referans panel olarak kabul edilen 5 adet mikrosatellit marker (BAT25, BAT26, D2S123, D5S346, D17S250) bölgesini içeren



genom dizileri multipleks PCR ile çoğaltıldı (Tablo IV). Reaksiyonda kullanılan spesifik primer çiftleri kit tarafından temin edilmektedir. Son konsantrasyonları 1M olacak şekilde multi primer miks ve enzim master miks içerisine 200 ng kalıp DNA eklenerek final hacim distile su ile 25 µl'ye tamamlandı. İki dakika 94°C'de ön denatürasyonun ardından 10 sn 94°C, 30 sn 55°C ve 30 sn 72° C olmak üzere toplam 35 döngü sonrasında 7 dakika 72°C'de final uzaması ile reaksiyon tamamlandı. PCR ürünlerinin analizinde ABI PRISM 310 Genetik Analizör kullanıldı. Bir mikrolitre PCR ürünü incelenmek üzere cihaza yüklenmeden önce 12 µl deiyonize formamid, floresans işaretleyici olarak 0,5 µl "GeneScan-350 [TAMRA] size standard" ile karıştırıldı ve vorteks edildikten hemen sonra

2 dakika 90°C'de denatüre edilip cihaza yüklendi.

### Mikrosatellit İnstabilitesinin

#### Yorumlanması

**Mikrosatellit stabil:** Bir stabil lokusun fragman paterni ana pikin ve tüm ilave piklerin göreceli intensitesi ile aynıdır. Bu çalışmada aynı lokus için piklerin karşılaştırılmasında hasta grubu olarak ÜK ve kontrol grubu olarak irritabl barsak sendromu kullanılmıştır.

**Mikrosatellit İnstabil:** Stabil olmayan bir lokusun fragman paterni ya ilave pikler veya tamamen ayrı yeni fragmanların görünümü ile ayırt edilir. İncelenen 5 mikrosatellit lokusundan en az ikisinde instabilite tespit edilirse mikrosatellitlerin instabil olduğu kabul edilir.

**Tablo IV:** Mikrosatellit belirteçlerin özellikleri

Kromozom lokalizasyonu			
Mikrosatellit belirteç	(Belirtece yakın Gen)	Amplifiye edilen ürün (bp)	PCR ürününün floresan işareti
BAT25	4q12 (c-kit)	110-130	6-FAM
BAT26	2p16.3-p21 (hMSH2)	100-120	TET
D5S346	5q21/22 (APC)	100-130	HEX
D17S250	17q11.2-q12 (BRCA1)	140-170	TET
D2S123	2p16 (hMSH2)	200-230	6-FAM

## BULGULAR

### Klinik özellikler

Kolonoskopik incelemede 29 ÜK'li hastanın 21'inde pankolit, 8'inde sol taraf koliti saptandı. Klinik aktivite 18 hastada hafif, 11 hastada orta şiddette idi. Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksine göre 13 hasta endoskopik olarak remisyonda, 16 hasta ise aktifti. Kolonik mukozal biopsilerin histopatolojik değerlendirmesinde bir hastada düşük dereceli displazi olduğu saptandı (Tablo I). Displazili hastada hastalık endoskopik olarak aktif, klinik aktivite orta şiddette idi.

### Mikrosatellit instabilitesi

ÜK ve kontrol grubunda uluslararası referans panel olarak kabul edilen standart 5 mikrosatellite (BAT25, BAT26, D2S123, D5S346, D17S250) kontrollerden farklı bir alel diğer bir deyişle mikrosatellit instabilitesi tesbit edilmedi.

### TARTIŞMA

Mikrosatellit instabilitesi pek çok kanser tipinde yüksek oranda tesbit edilir. Az sayıda çalışma kronik pankreatit, kronik ülseratif kolit gibi kronik inflamasyonla seyreden hastalıklarda, intestinal



metaplazi ve Barrett's özofagusu gibi prekanseröz durumlarda da MSİ'nin varlığına dikkat çekmektedir<sup>11,17-19</sup>. ÜK'li hastaların non-neoplastik inflame mukozalarında MSİ'nin varlığı ile ilgili çalışmaların sonuçları farklılıklar göstermektedir.

İlk olarak 1996'da Brentnall ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ÜK'li hastaların neoplastik değişiklikler göstermeyen kolonik mukozalarında MSİ'nin anlamlı derecede varlığı gösterilmiş ve bunun kolorektal kanser gelişiminde predispozan bir faktör olabileceği belirtilmiştir<sup>12</sup>. Ancak bu çalışmada hastalık yaşı 8 yıldan az olanlarla fazla olanlar arasında MSİ açısından bir fark saptanmamış ayrıca inflamasyonun derecesi hakkında herhangi bir yorum yapılmamıştır. Ishitsuka ve arkadaşları benzer şekilde uzun süreli hastalığı olan (bu çalışmada 5 yıldan fazla) ve neoplastik değişiklikleri olmayan ÜK'li hastaların mukozalarında yüksek oranda MSİ varlığını tesbit etmişlerdir<sup>20</sup>. MSİ varlığı ile hastalık yaşı (10 yıldan az veya çok) ve tutulum yeri (proktit, sol kolon, pankolt) arasında bir ilişki saptamamışlar ancak şiddetli inflamasyon gösteren lezyonlarda MSİ'nin anlamlı derecede daha fazla olduğuna dikkat çekmişlerdir. Her iki yazarın da ortak görüşü kronik inflamasyon durumunda artan hızlı hücre yıkımı ve proliferasyonu sonucunda DNA tamir mekanizmalarında bir yetersizlik olduğu, bu yetersizliğin bir göstergesi olarak da MSİ'nin ortaya çıktığıdır. Ishitsuka ve arkadaşlarının bulguları bu görüşü somut olarak desteklemektedir. Son yıllarda Tahara ve arkadaşları ÜK'li hastaların neoplastik ve non-neoplastik kolonik mukozalarında görülen MSİ'ni ve malignite gelişme riskini kronik, devamlı ve şiddetli inflamasyonla ilişki bulmuşlardır<sup>21</sup>.

Bizim çalışmamızda histolojik olarak hafif ve orta derecede inflamasyonu olan ÜK hastalarında MSİ'ne rastlanmadı. Bu sonuç literatürdeki bazı çalışmalarla uyumlu bulundu<sup>22-25</sup>. Lovig ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada uzun süreli (10-30 yıl) ÜK'i olup proktokolektomi yapılmış hastaların çeşitli epitelyal değişiklikler gösteren (inflamasyon, düşük veya yüksek dereceli displazi, DALM, kanser) kolon örneklerinde sadece yüksek dereceli displazi gösteren bir tubulovillöz adenomda MSİ bulunmuş, kalan dokuların hiç birinde MSİ saptanmamıştır<sup>22</sup>. Bu çalışmanın en dikkat çeken ve literatürden farklılık gösteren yanı ise neoplastik değişiklikler gösteren lezyonlarda da MSİ'nin tesbit edilmemiş olmasıdır. Bu çalışmada tüm hastalarda proktokolektomi esnasında kolonik inflamasyon

yoktu ya da çok hafifti. Yazarlar literatürden farklı olarak elde ettikleri bu negatif sonucun kolonik inflamasyonun histolojik olarak hafif derecede olması ile ilgili olabileceğini ileri sürmektedir. Bu veriler ışığında bizim çalışmamızda da ÜK'li hastaların non-neoplastik inflame mukozalarında MSİ'nin saptanmamasının sebebi düşük derecedeki inflamatuvar aktivite olabilir.

Sonuç olarak çalışmamızın sonuçlarına göre inflamasyon derecesi düşük olan ÜK'li hastaların kolonik mukozalarında MSİ'ne rastlanmamaktadır. MSİ şiddetli inflamatuvar değişikliklere bağlı DNA tamir bozukluğunun, kronik ve şiddetli inflamasyon zemininde gelişen neoplastik değişikliklerinin bir belirteci olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Lynch DAF, Lobo AJ, Sobala GM, Dixon MF, Axon ATR. Failure of colonoscopic surveillance in ulcerative colitis. Gut 1993; 34: 1075-1080.
2. Lakatos L, Mester G, Erdelyi Z, et al. Risk factors for ulcerative colitis-associated colorectal cancer in a Hungarian cohort of patients with ulcerative colitis: Results of a population-based study. Inflamm Bowel Dis 2006; 12: 3: 205-211.
3. Taylor BA, Pemberton JH, Carpenter HA, et al. Dysplasia in chronic ulcerative colitis: implications for colonoscopic surveillance. Dis Colon Rectum 1992;35: 950-956.
4. Aaltonen LA, Peltomaki P, Leach FS, et al. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. Science 1993;260:812-816.
5. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. Science 1993;260:816-819.
6. Søreide K, Slewa A, Stokkeland PJ, et al. Microsatellite instability and DNA ploidy in colorectal cancer: potential implications for patients undergoing systematic surveillance after resection. Cancer 2009;115: 271-782
7. D'Errico M, Rinaldis ED, Blasi MF, et al. Genome-wide expression profile of sporadic gastric cancers with microsatellite instability. Eur J Cancer 2008; Dec 8. [Epub ahead of print]
8. Choi YD, Choi J, Kim JH, et al. Microsatellite instability at a tetranucleotide repeat in type I endometrial carcinoma. J Exp Clin Cancer Res 2008; 31;27(1):88.
9. Togni R, Bagla N, Muiasan P, et al. Microsatellite instability in hepatocellular carcinoma in non-cirrhotic liver in patients older than 60 years. Hepatol Res 2008; Nov 5. [Epub ahead of print]
10. Carpagnano GE, Spanevello A, Carpagnano F, et al. Prognostic value of Exhaled Microsatellite alterations at 3p in NSCLC patients. Lung Cancer 2008; Nov 6. [Epub ahead of print]
11. Brentnall TA, Chen R, Lee JG, et al. Microsatellite instability and K-ras mutations associated with pancreatic adenocarcinoma and pancreatitis. Cancer Res 1995;55:4264-4267.



12. Brentnall TA, Crispin DA, Bronner M, et al. Microsatellite instability in nonneoplastic mucosa from patients with chronic ulcerative colitis. *Cancer Res* 1996;56:1237-1240.
13. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis. Final report on therapeutic trial. *Br Med J* 1995; 2: 1041-1048.
14. Rachmilewitz D Coated mesalazine ( 5-ASA ) versus sulphasalazine in the treatment of active ulcerative colitis: A randomized trial. *BMJ* 1989; 298: 82-86.
15. Matts SGF. The value of rectal biopsy in the diagnosis of ulcerative colitis. *Q J Med* 1961;120:393-407.
16. Riddell RH, Goldman H, Ransohoff DF, et al. Dysplasia in inflammatory bowel disease: standardized classification with provisional clinical application. *Hum Pathol* 1983;14: 931-968.
17. Semba S, Yokozaki H, Yamamoto S, et al. Microsatellite instability in precancerous lesions and adenocarcinomas of stomach. *Cancer* 1996;77: 1620-1627.
18. Hamamoto T, Yokozaki H, Semba S, et al. Altered microsatellites in incomplete-type intestinal metaplasia adjacent to primary gastric cancers. *J Clin Pathol* 1997;50: 841-846.
19. Meltzer SJ, Yin J, Manin B, et al. Microsatellite instability occurs frequently and in both diploid and aneuploid cell populations of Barrett's-associated esophageal adenocarcinoma. *Cancer Res* 1994; 54: 3379-3382.
20. Ishitsuka T, Kashiwagi H, Konishi F. Microsatellite instability in inflamed and neoplastic epithelium in ulcerative colitis. *J Clin Pathol* 2001; 54:526-532.
21. Tahara T, Inoue N, Hisamatsu T, et al. Clinical significance of microsatellite instability in the inflamed mucosa for the prediction of colonic neoplasms in patients with ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20:710-715.
22. Løvig T, Andersen SN, Clausen OP, Rognum TO. Microsatellite instability in long-standing ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42:586-591.
23. Suzuki H, Harpaz N, Tarmin L, et al. Microsatellite instability in ulcerative colitis associated colorectal dysplasias and cancers. *Cancer Res* 1994;54: 4841-4844.
24. Willenbacher RF, Aust DE, Chang CG, et al. Genomic instability is an early event during the progression pathway of ulcerative colitis related neoplasia. *Am J Pathol* 1999;154:1825-1830
25. Takahashi S, Kojima Y, Kinouchi Y, et al. Microsatellite instability and loss of heterozygosity in the nondysplastic colonic epithelium of ulcerative colitis. *J Gastroenterol* 2003;38: 734-739.