

TC.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
GENEL CERRAHİ SERVİSİ

**KOLOREKTAL KARSİNOMLARDA P-53, Nm23, Bcl-2, C-erbB-2
ONKOPROTEİN EKSPRESYONLARININ
KLİNİK-HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

İLKER SÜCÜLLÜ
J.TBP.YZB.

İSTANBUL 2004

ÖNSÖZ

Bu tez konusu, GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Genel Cerrahi Servis şefliğinin 05 Ağustos 2003 gün ve 0530-113-03/717 sayılı yazıları ile verilmiş ve çalışmaya başlanmıştır.

Eğitim sürem boyunca engin bilgi ve deneyimleri ile bana önderlik ederek bilimsel ufku genişleten, yetişmemde büyük emeği olan Sayın Hocam, Prof. Dz.Tbp.Kd.Alb.Tuncay ÇELENK'e, minnet ve şükranlarımı arz ederim.

Tüm çalışmalarım ve eğitimimde büyük emekleri geçen Sayın Hocalarım Prof.Tbp.Kd.Alb.Mehmet YILDIZ'a, Doç.Tbp.Alb. M.Levhi AKIN'a, özverili yardımlarını her zaman gördüğüm Yrd.Doç.Tbp.Yb.Haldun ULUUTKU'ya, Yrd.Doç.Tbp.Bnb.Cengiz ERENOĞLU'na, Yrd.Doç.Tbp.Yzb.Yavuz Kurt'a ve tez konumla ilgili çalışmalarında büyük destek ve yardımları olan Yrd.Doç.Tbp.Yb. Sezai DEMİRBAŞ'a , tüm uzman ağabeylerime, asistan arkadaşlarıma ve klinik personeline teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarına katkılarından dolayı Doç. Tbp. Yb. Hüseyin BALOĞLU'na, Yrd. Doç. Tbp. Bnb. Şükrü YILDIRIM'a, Uzm. Tbp. Atg'm. Atilla ÖMEROĞLU ve diğer Patoloji Servisi personeline teşekkür ederim.

Meslek hayatımın başından beri olduğu gibi tezimin yazım işlemleri sırasında da her zaman destek ve yardımlarını gördüğüm; Hv.Tbp.Yzb.Üzeyir TIRMIK ve eşi Yeliz TIRMIK'a teşekkür ederim

Dr. İLKER SÜCÜLLÜ

İstanbul 2004

İÇİNDEKİLER

I.	GİRİŞ	4
II.	GENEL BİLGİLER.....	5
	1.TARİHÇE VE ANATOMİ.....	5
	2.FİZYOLOJİ VE HİSTOLOJİ.....	10
III.	KRK.LERDE EPİDEMİYOLOJİ	11
IV.	KRK.LERDE MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK.....	14
	A) MOLEKÜLER GENETİK.....	14
	1) GERMLİNE VE SOMATİK MUTASYONLAR.....	14
	2) FAMILİYAL KOLON CA.....	14
	3) KOLOREKTAL KANSERLER ÜZERİNE GENETİK VE ETKİSİ.....	17
	A)TÜMÖR SUPRESSÖR GENLER.....	17
	APC.....	17
	BETA CATHENİN.....	18
	APC İLE GSK 3 β VE AKSİN.....	19
	WNT, FRZ VE TCF4.....	20
	P53 VE APOPTOZ.....	21
	NM23.....	27
	BCL-2.....	28
	C ERB B-2.....	31
	B) RAS ONKOGENLERİ.....	32
	C) COX2 RESEPTÖRLERİ.....	33
	B) BİYOLOJİ.....	33
	1) KOLONİK KRİPTLER.....	33
	2) POLİPLER	34
	3) KARSİNOGENEZ TEORİLERİ.....	38
V.	PATOLOJİ VE EVRELENDİRME.....	44
VI.	TÜMÖRÜN YAYILMA YOLLARI.....	48
VII.	HASTALAR VE METOD.....	49
VIII.	BULGULAR.....	54
IX.	TARTIŞMA.....	58
X.	SONUÇ	68
XI.	ÖZET	69
XII.	SUMMARY.....	70
XIII.	KAYNAKLAR.....	73

GİRİŞ

Kolorektal kanser(KRK)ler gastrointestinal sistemin en sık görülen malign tümörleridir. A.B.D'de her yıl yaklaşık 135.400 yeni vaka tespit edilmektedir. 2001 yılında bunların yaklaşık 66.000'i kaybedilmiştir (50). Bu kanserler dünyada 3'üncü en sık görülen ve 2'inci en sık ölüme neden olan tümörlerdir (44, 51).

KRKlerde prognoz ve tedavinin seçimi hastalığın evresi ile çok yakından ilişkilidir. Neyazık ki; KRKlerde evreleme preoperatif dönemde tam doğru olarak yapılamamaktadır. Bu nedenle neoadjuvan ve adjuvan kemoterapinin düzenlenebilmesi için hastalık progresyonunu gösteren ilave belirteçlerin ortaya konulması daima çalışma gündeminde kalmaktadır(63).

P53 geni 17. kromozomun kısa kolu üzerinde 17p13-1 pozisyonunda bulunan bir tümör supressör genidir. 16.20 kb. uzunluğunda olan bu gen 11 eksondan oluşmaktadır(119-89). **C-erb B2** tirozin kinaz reseptör ailesinin bir alt grubudur.17.q 21. kodonda bulunur. Normalde hücre proliferasyonu sırasında işlev almaktadır(152). **Bcl-2** Apoptozisi inhibe eden bir genidir. Bcl-2 1984 yılında B-hücreli lenfoma (Bcl) ve non hodgkin folliküler lenfomalarda ilk kez saptanmış olup t(14:18)(q32-q31) translokasyonu olarak izlenir(44-77-78-137). **Nm23** H,Steeg ve ark. tarafından fare K-1735 melanoma hücrelerinde bulunan (1988) bir genidir. Kromozom 17q21.3'de lokalize bu gen, nukleozid difosfat kinaz A ve B (NDPK-A, NDPK-B) proteinlerini kodlayan Nm23-H1 ve Nm23-H2 adında iki homolog genden oluşur.

Yukarıda belirtilen protoonkogenlerin çeşitli çalışmalar sonunda meme, over, gastrik kanser gibi epitelial malign tümöral olgularda hem karsinogeneze hem de tümörün prognozu, tipi, diferansiasyonu ve yerleşim yeriyle alakalı oldukları bildirilmiştir. KRKlerde bu protoonkogenlerin rolünü ortaya koyan çalışmalar ya az sayıda vardır yada çok farklı sonuçlar vermektedirler(64).

Bu çalışmada; c-erbB2, p53, nm23, bcl-2 protoonkogenlerinin tek veya beraberce birer belirteç olarak KRKlerin doğru evrelendirilmesi ve progresyonunun gösterilmesinde kullanılıp kullanılmayacağını araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

1-TARİHÇE ve ANATOMİ:

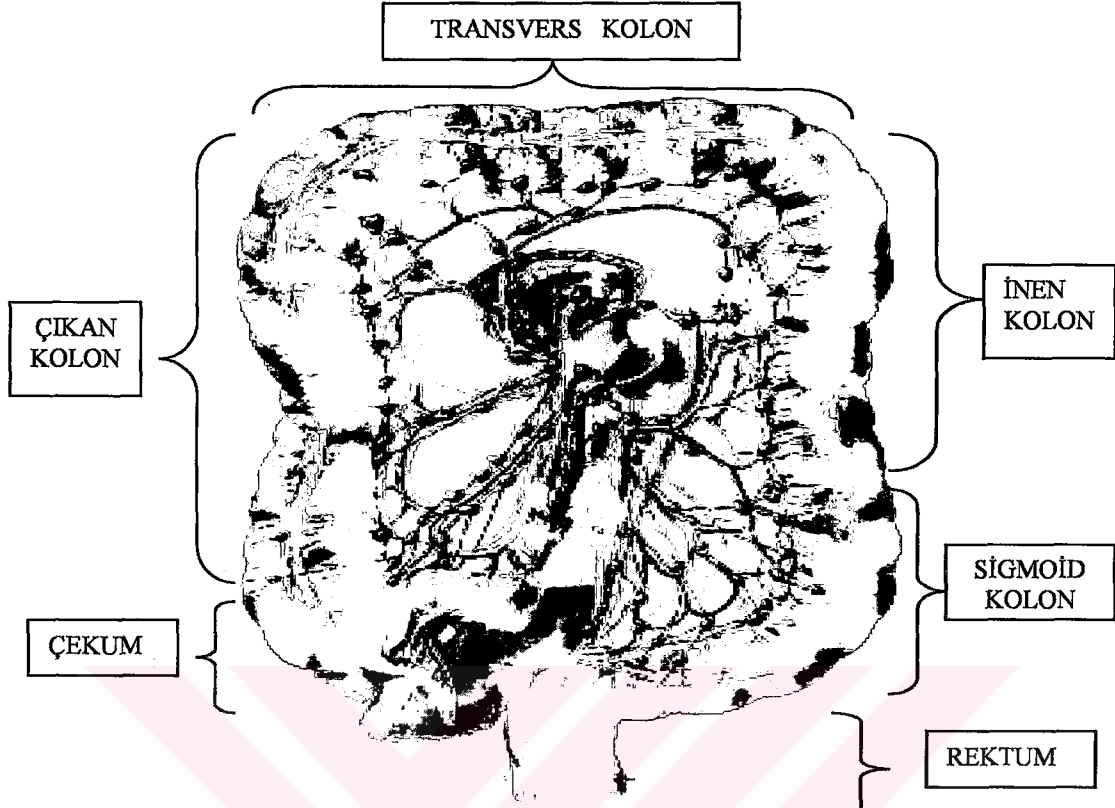
Kolorektal kanserlerin teşhis ve tedavisinde ilk gelişmeler daha çok intestinal obstrüksiyonlara yönelik olmuştur. İlk çekostomi 1776'da intestinal obstrüksiyon yapan bir kanser için yapılmıştır. Duret 1793'de ilk başarılı kolostomiye gerçekleştirmiştir. Reybart 1844'de kolon kanserinde ilk başarılı rezeksiyon ve anastomozu yayınlamıştır. Hartman 1923'de üst rektum tümörlerinde uygulanan ve kendi adıyla anılan Rezeksiyon + Uç kolostomiye tarif etmiştir. Miles 1880'de rektum kanserinde kendi adıyla anılan abdominoperineal rezeksiyonu uygulamıştır (39).

Kolorektal kanser cerrahisinde çok önemli bir yer tutan stapler tekniği ilk kez Ruslar tarafından geliştirilmiştir. Amerikalılar tarafından daha modernize edilen bu teknik günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır (39, 101).

Ayrıca modern görüntüleme yöntemleri, geniş spektrumlu antibiyotikler ve kemoterapötik ajanlar kolorektal kanser teşhis ve tedavisinde büyük gelişmeler sağlamıştır.

Kolon, ileoçekal valvden anüse kadar uzanır ve yaklaşık 1.5 m. uzunluğundadır.

Gastrointestinal sistemin yaklaşık 1/5'ini oluşturur. Anatomik olarak çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumdan oluşur (Şekil-1) (118).



Şekil-1:Kolon Anatomisi (Netter)

a)Çekum:

Sağ fossa iliakada yer alır. İnsanların yaklaşık %95'inde intraperitonealdir. Arka yüzde musculus iliakus ve musculus psoas major ile komşuluğu vardır. Ileumun çekuma açıldığı yerde ileoçekal valf (Bauchini valfi) bulunur. Bu valf ince barsağın kolon içine girmesi ile oluşur. Yarımay şeklinde iki dudaktan oluşan valv hem ileum içeriğinin kolona hızlı geçmesini sağlar hem de kolon içeriğinin ileuma geri dönmesini engeller. Çekum kolonun en geniş kısmıdır ve ortalama 8 cm. çapındadır (144).

Çekum, geniş bir lümeneye sahip olması ve duvarının ince olması nedeni ile intestinal obstrüksiyonlarda kolonun en sık perforasyon alan kısmıdır. Çünkü Laplace kanununa göre, barsak cidarında meydana gelen gerilme o bölgedeki yarıçap ve iç basınç ile doğru orantılıdır (101, 19, 141). Göbek ile spina iliaca anterior superioru birleştiren çizginin 1/3 dış kısmı (Mc Burney noktası) appendiks kökünü gösterir. Appendiks retroçekal, retrokolik ve pelvik lokalizasyonlarda olabilir (101).

b) Çıkan kolon:

Yaklaşık 15-20 cm. uzunluğundadır. Çekumdan karaciğer sağ lobunun alt kısmına kadar uzanır. Burada sola ve biraz öne doğru dönerek hepatik fleksurayı yapar. Kolonun bu kısmı duodenum ikinci kıtası ön yüzünde yer alır.

Çıkan kolon arkada musculus kuadratus lumborum ve sağ böbrek alt kısmı ile komşudur. Kolon burada karın arka duvarına Told fasiası ile tutunmuştur. Çıkan kolon retroperitoneal olup ön yüzü periton ile örtülüdür (144, 19, 141).

c) Transvers Kolon:

Kolonun en uzun kısmıdır. Hepatik fleksuradan başlayıp sola doğru ilerler ve dalak alt kısmında aşağıya dönerek splenik fleksurayı oluşturur. İntraperitoneal olan transvers kolon karın arka duvarına transvers mezokolon ile tutunur. Arkada duodenum ikinci kıtası ve pankreas, üstte ise mide büyük kruvatürü ile komşudur.

Splenik fleksura daha derinde olduğundan hepatik fleksuraya göre cerrahi olarak daha zor ulaşılır. Splenokolik ligaman dalak ile splenik fleksurayı birleştirir. Bu nedenle omentum majus, transvers kolon ve splenik fleksuranın fazla çekilmesi iatrojenik dalak rüptürü ve kanamalarına neden olabilir (101, 141).

d) İnen Kolon:

Splenik fleksuradan sol iliak fossaya kadar uzanır. Çıkan kolona göre daha derindedir. Ortalama 25 cm. uzunluğundadır. Kolonun en dar lümene ve en kalın kas tabakasına sahip olan bölümüdür. Çıkan kolon gibi retroperitoneal olup ön yüzü periton ile örtülüdür. Arkada sol böbrek alt kısmı, musculus kuadratus lumborum ve musculus psoas majör ile komşudur. Sol üreter inen kolonun medialinde seyreder. Bu nedenle kolonun bu kısmının serbestleştirilmesi ve rezeksiyonunda üreter dikkatle korunmalıdır. Ayrıca inen kolon arkada gonadal damarları çaprazlar (144, 27).

e) Sigmoid Kolon:

İnen kolonun distalinden başlayıp üçüncü sakral vertebra seviyesindeki rektosigmoid bileşkeye kadar uzanan kolon bölümüdür. Sigmoid kolon intraperitoneal olup ortalama 40 cm. uzunluğundadır. Pelvisin sol tarafına yerleşmiştir. Arkada internal iliak damarlar, üreter ve sakral pleksus ile komşudur.

Kolonun bu kısmında appendiks epiploikalar çoktur. Tenia koliler burada incelerek devam eder ve rektosigmoid bileşkede tamamen kaybolur (101-141).

f) Rektum:

Kolonun son bölümüdür. Üçüncü sakral vertebra hizasından başlayıp koksiksin alt kısmındaki anorektal ringe kadar devam eder. Rektosigmoid bileşke intraperitoneal yerteşimlidir. Kolonun diğer kısımlarında görülen tenia ve haustralar burada kaybolur. Ayrıca bu bölümde appendiks epiploika ve mezokolon da yoktur. Arkada sakrumun konkavlığına uygun bir şekilde aşağıya doğru uzanır.

Rektum ortalama 12 cm. uzunluğundadır. Daha geniş olan alt kısmına ampulla denir. Rektumun 1/3 üst kısmı peritonla örtülüdür. Ön yüzü örten periton erkeklerde mesaneye geçerek excavatio rectovezicalis'i, kadında ise uterusu geçerek excavatio rektouterina'yı (Douglas) oluşturur. Burası batının en dip noktasıdır. Rektumun 2/3 alt kısmı ekstraperitonealdir (144).

g) Anal Kanal:

Ampullanın daraldığı yerden başlayan ve arkaya doğru seyreden yaklaşık 4 cm.lik bölümdür. Anal kanal sfinkter kasları ile sarıdır ve normalde kapalıdır. İlk 2 cm.lik bölümü silindirik epitelle döşelidir. Alt kısım çok katlı yassı epitelle örtülüdür. Bu iki bölgeyi birleştiren çizgiye linea pectinea veya dentata denir. İnternal hemoroidal pakeler bu çizgide yer alır. Anüsün çevresinde eksternal ve internal olmak üzere iki sfinkter bulunur. Eksternal sfinkterler çizgili kas liflerinden oluşur ve motor sinirlerle inerve edilir (istemli çalışır). İnternal sfinkterler ise düz kas liflerinden oluşur ve otonom sinirlerle inerve edilir (101-27)

Arterleri:

Kolonun sağ yarısı (çekum, çıkan kolon, transvers kolonun sağ kısmı) superior mezenterik arterden beslenir. Bu arterin kolonun sağ yarısını besleyen dalları ileokolik arter, sağ kolik arter ve orta kolik arterdir. Splenik fleksuradan sonraki kolon kısmını inferior mezenterik arter besler. Bu arterin dalları olan sol kolik arter splenik fleksura ve inen kolonu, sigmoid arter ise sigmoid kolonu kanlandırır (141)

Kolik arterler mezenter içinde ve kolona 2,5 cm. mesafede yan dallar verirler. Superior ve inferior mezenterik arterlerin birbiri ile anastomoz yapan bu dalları Riolan arkını oluştururlar (144) Rektumun üst kısmını inferior mezenterik arterin uç dalı olan superior rektal arter, orta ve alt kısmını ise internal iliak arterin dalları olan medial ve inferior rektal arter besler (144).

i) Venleri:

Kolorektal venler arterlerle beraber seyrederek ve aynı adı alırlar. Inferior mezenterik ven retroperitoneal alanda yukarıya doğru çıkar ve pankreasın arkasında splenik venle birleşerek portal vene dökülür. Superior mezenterik ven pankreas başının altından geçerek portal vene dökülür (145).

Superior hemoroidal ven, inferior mezenterik ven yolu ile portal sisteme, medial ve inferior hemoroidal ven ise internal iliak ven yolu ile sistemik dolaşıma drene olurlar. Böylece bu bölgede portokaval bir anastomoz oluşur (145).

j) Sinirleri:

Çekum, çıkan kolon ve transvers kolonun 2/3 sağ kısmı sempatik sinirlerini çölyak ve superior mezenterik pleksustan, parasempatiklerini nervus vagustan alırlar. Transvers kolon 1/3 sol kısmı, inen kolon, sigmoid kolon ve rektum sempatik sinirlerini superior hipogastrik ve lomber sempatik ganglionlardan, parasempatiklerini ise pelvik splanknik sinirlerden (nervus erigentes) alırlar (144).

Sempatik ve parasempatik sinir lifleri barsak duvarı içinde iki pleksus yapar. Bunlar submukozal Meissner pleksusu, myenterik Auerbach pleksusudur (144).

k) Lenfatikleri:

Kolon ve rektumun mukoza ve seroza altında olmak üzere iki lenfatik pleksusu vardır. Bu pleksuslar mezenter içinde bulunan ve kan damarlarına komşu lenf nodlarına drene olurlar. Kolonun lenfatikleri dört ana gruptan oluşur .

1-Epikolik ganglionlar: Kolon duvarının hemen yanında yer alırlar.

2-Parakolik ganglionlar: Marjinal arterler etrafındadır.

3-İntermedier ganglionlar: Mezenter içinde yer alırlar.

4-Esas ganglionlar:Mezenterik arter ve venin kökleri etrafındadır (27).

Rektum üst kısmının lenfatikleri paraaortik lenf ganglionlarına, orta kısmın lenfatikleri internal iliak ganglionlara, alt kısmının lenfatikleri ise inguinal lenf ganglionlarına drene olur (101-27).

HİSTOLOJİ:

Çekumdan rektuma kadar olan kolon kısmı aşağı yukarı aynı histolojik yapıya sahiptir. Tüm kolon tunika mukoza, submukoza, muskularis ve seroza olmak üzere başlıca dört tabakadan oluşur (141).

Mukoza epiteli tek katlı silendirik epitelden oluşmuştur. Lamina propria ise Lieberkühn bezlerinden zengindir. Bu bezlerin fonksiyonu mukus salgılamak ve barsak içeriğini absorbe ederek şekilli hale getirmektir (52). Submukoza damar ve sinir pleksuslarını içerir. Müsküler tabaka içte sirküler dışta longitudinal olmak üzere iki tabakadan oluşur. Dıştaki longitudinal kas tabakası üç yerde kalınlaşarak tenia kolileri oluşturur. Seroza viseral periton yaprağından oluşur ve rektumun 2/3 alt kısmında seroza yoktur (144).

FİZYOLOJİ:

Kolonun su-elektrolit emilimi ve sindirim artıklarının depolanması olmak üzere başlıca iki görevi vardır. İlk yarısı birinci görevi son yarısı da ikinci görevi yerine getirir. Kolona günde 500-1000 ml. kadar kimus gelir. Bunun büyük bir kısmı absorbe edilir. Yaklaşık 100-200 ml. sıvı feçesle atılır. Kolon ve rektum intestinal sistemde bakteri florasının en yoğun olduğu bölümlerdir. Kolonda bulunan bakteriler, organizma için gerekli bazı vitaminlerin (K, B12, Tiamin, Riboflavin) sentezinde rol oynarlar. Buradaki bakterilerin çoğu anaerob mikroorganizmalardır. En çok bulunan anaerob bakteri *Bakteroides Fragilis*'tir. Fekal florada en çok görülen aerob bakteri ise *Echerichia Coli*'dir (52).

Kolonda karıştırıcı ve ilerletici olmak üzere iki çeşit hareket görülür. Karıştırıcı hareketler kolon içeriğinin mukoza ile temasını sağlarken ilerletici hareketler feçesin distale doğru itilmesine neden olur (52). Kolon mukozasında bulunan Lieberkühn bezleri alkali vasıfta bir mukus salgılar. Bu salgı enzim içermez ve kolon mukozasını koruyucu bir bariyer oluşturur.

KOLOREKTAL KANSERLERDE EPİDEMİYOLOJİ

Kolorektal kanserler gastrointestinal sistemin en sık görülen tümörleridir. A.B.D'de kanserden ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer alırlar. Her yıl yaklaşık 135.400 yeni vaka tespit edilmekte ve yaklaşık 66.000 kişi bu kanser nedeni ile ölmektedir (50).

Ülkemizde kesin veriler olmamakla birlikte Bilir'in çalışmalarında kolorektal kanserler malign tümörler arasında kadınlarda 3, erkeklerde ise 2'inci sırayı almaktadır (15). Batı ülkelerinde kolorektal kanser insidensi 100.000 kişide 10-30 arasında değişmektedir (50).

Kolorektal kanserler sıklıkla gelişmiş ülke veya ülke içerisinde daha gelişmiş endüstriyel bölgelerde sık olarak görülmektedir. Ayrıca etkilenen bazı ırk ve bunların yaşadıkları coğrafi bölgelere göre de insidens farklılık göstermektedir. Örneğin göçmenlerin doğdukları değil de yaşadıkları bölgeye ait risk faktörlerinden etkilendikleri bilinmektedir. Bunlardan bazıları da diyet, coğrafi bölge, kalsiyum, vitamim D, güneş ışığına, ultraviyoleye ve asit yağmurlarına maruz kalma olarak çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (108).

Daha çok ileri yaş grubunda görülen bu kanser türü 40-50 yaşından sonra artmakta ve her dekatta sıklığında iki kat bir artış görülmektedir. 80 yaş civarında en yüksek düzeye ulaşmaktadır. Ortalama yaş erkeklerde 63, kadınlarda 62'dir. Kadın ve erkeklerde görülme sıklığı hemen hemen aynı iken rektal kanser erkeklerde biraz daha fazla görülmektedir. Kolon kanserinde ise erkeklerde görülme sıklığı 55 yaşından sonra daha sık bulunmuştur (108). Erkeklerde kadınlara göre biraz daha fazla iken kadınlarda mortalite oranı daha yüksektir (50).

Kolon ve rektumda kanserin yerleşim yeri değişik kaynaklara göre farklılıklar göstermektedir. Genellikle tüm kolorektal kanserlerin %55-60'ı rektum ve sigmoid kolonda, %10'u inen kolonda, %10'u transvers kolonda, %8' i çıkan kolonda, %12' si çekumda yerleşim gösterir (50).

Senkron kanser birden fazla bölgede aynı anda malignite bulunması durumu olup hastaların yaklaşık %2-5'inde görülür (101-145).

Diyet:

Beslenme alışkanlıklarının kolorektal kanser insidensinde önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir. Kanserojen maddelerin alımı, diyetteki lifden zengin gıdaların miktarı, beslenmedeki protein ve yağın tipi ile miktarı, barsak florasında beslenmeye bağlı olarak oluşan değişiklikler insidensi etkileyen önemli unsurlardır. (145).

Deney hayvanlarına oral verilen cyasin ile kolorektal adenom ve karsinom oluşturulabilmektedir. Ayrıca 1-2 dimetilhidrazin ve nitrozamidlerin de kanser gelişiminde etkili olduğu ileri sürülmektedir (145). Fazla posa bırakan diyetle beslenen kimselerde kolorektal kanser gelişme insidensi daha düşük bulunmuştur. Bunun nedeni posalı diyetin barsak pasaj zamanını kısaltarak, mukozanın karsinojenik maddelerle temas süresini azaltmasıdır (101). Diyet ile ilgili faktörlerin kolorektal kanser gelişiminde önemli bir rolü olduğu paradigması, yeni gelişen genetik faktörlerin kolorektal kanserlerde etkin rol almaktadır öngörüsü ile çatışmakta gibi görünse de bu durum iki nedenle yanlıştır:

1-Kolorektal kanser heterojen hastalıklar grubundandır ve bir hasta için çevresel faktörler belirleyici iken diğeri için genetik predispozisyon önemli rol oynamaktadır.

2-Genetik ve diyetle ilgili faktörler etkileşebilmektedirler. Böylece karsinojenle karşılaşan ve yatkınlığı artmış kolon mukozasında genetik predispozisyon kolayca kanser gelişimini indüklemektedir. Schatzkin ve arkadaşları 1990 yılında yağ tüketimi ile kolorektal karsinogenezin artışı arasında bir ilgi tespit ettiler. Çeşitli işleyiş mekanizmaları arasında barsak lümeninde artmış safra asitlerinin ve artmış serbet yağ asitleri ve barsak mikroflorası üzerine yağ emiliminin etkisinin de kanser gelişimine katkısı bildirilmiştir (108).

Kırmızı et tüketiminin kolorektal kanser üzerine etkisi 88.751 kadın üzerinde Willet ve arkadaşları tarafından 1990'da araştırılmış ve kolon kanseri gelişiminde rektal kanser gelişimine göre anlamlı olmayan bir artış olsa da bu kadınlarda risk balık ve tavuk ile beslenenlere göre 2.49 kat yüksek bulunmuştur. Yağ neden oluşturan bir faktör olarak bu araştırmada gösterilebilir. Gionvannuchi fiberi barsak lümeninde dilüe edici ve pasajı hızlandırarak kanserojen maddelerle barsak mukoza ilişkisini azaltıcı bir görev alan faktör olarak değerlendirmiştir. Sağlık sektörü çalışanlarında yaptığı çalışmada adenoma riskinin yağdan zengin fakat fiberden eksik yiyeceklerle

beslenenlerde daha fazla olduğunu ortaya koymuştu. Sorenson (1988) ve Garland (1991) çalışmalarında kalsiyumun kanser oluşumunda önleyici bir rol oynadığına dair sonuçlar çıkardılar. Bu çalışmada kalsiyumun yağ asitlerinin ve safra asitlerinin kötü etkilerini önleyici etkisinin olduğu ve yine kalsiyumun bunlar ile suda çözünmeyen miçeller yaparak hem etkisini azalttığı hem de barsak lümeninden kısa sürede atılarak kontakt etkilerinin azaldığını göstermişlerdir(108).

Kısaca özetlersek yüksek kalorili yiyecekler, hayvansal yağlar, safra asitleri, kolestrol ve muhtemelen alkol kolorektal kanser oluşumu üzerine kötü yönde etki ederken, sebze ve meyvelerin, fibrilli yiyeceklerin, kalsiyumun, vitamin A'nın önleyici etkisi bildirilmektedir.

Çevresel faktörlere örnek olarak A.B.D'ye göç eden Japonlarda kolorektal kanser insidensinin artması gösterilmektedir (39). Çevresel faktörler ve genetik predispozisyon birbirleriyle etkileşmektedir. Genetik olarak yatkınlığı olan hastanın da çevresel kanserojen etkilerden etkilenecek kanser gelişme riskinin artmaya eğilim gösterdiği çalışmalarla ortaya konmuştur (108).

Diğer Faktörler:

Bazı flora bakterilerinin gıdaların kimyasal yapılarını değiştirerek kanserojen madde üretebilecekleri ileri sürülmektedir. Bunların başında klostridialar gelmektedir. Normal popülasyonun %40'nın barsak florasında klostridia bulunurken bu oran kolon kanserli hastalarda %80'e çıkmaktadır (101).

Kolesistektominin barsakta safra asitlerinin artmasını sağlayarak kanser oluşumunu arttırdığı ileri sürülmüştür. Ayrıca üretero-sigmoidostominin kolorektal kanser insidensinde artışa neden olduğu savunulmaktadır (145).

KOLOREKTAL KANSERLERDE MOLEKÜLER GENETİK VE BİYOLOJİ

A) MOLEKÜLER GENETİK

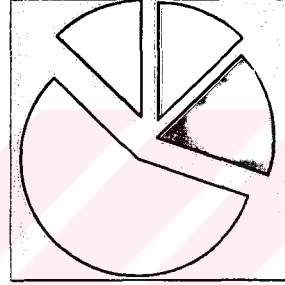
1- GERMLİNE VE SOMATİK MUTASYONLAR

Germ hücrelerinde görülen mutasyonlar tüm kalıtımı etkilemektedir. Kolon kanser genetiği bir çok mutasyonun gözleendiği bir çok genin aktivitesiyle olmaktadır. (Şekil 2)

FAP/HNPCC %5

Yüksek risk-Familyal %23

Sporadik %50



Düşük risk-Familyal %22

Şekil 2: KRK'in bölündüğünü katagoriler

2.FAMİLYAL KOLON CA

Kolon kanserlerinin %5-10'u ailesel eğilimi olan kimselerde görülür. Kolorektal kanserli hastaların yaklaşık 1/3'nün 1.derece akrabalarında da kanser olduğu saptanmıştır. Familial polipozis ve adenomu olan kimselerde kolon kanseri daha sık görülmektedir. Polipozis olmadan da herediter kolorektal kanser gelişebilmektedir (Lynch sendromu) (46-50).

Bazı kanser tiplerinin yakın akrabalarda aynı şekilde görülmesi konusunda Müler (1985) çalışmıştır. Birinci derece akrabaların yaklaşık %29 oranında etkilendiğini ve akrabalık derecesi azaldıkça oranın %6 ya kadar düştüğünü bildirmiştir. (108). 1985 ten 1998 e kadar ; Lovett, Weber, Rozen, Bonelli, Kune vb. araştırmacılar tarafından yapılan ve yayınlanan çalışmalarda ise KRK' li hastaların birinci derece akrabalarında rölatif riskin normalden 2-4 kat fazla olarak bulunduğu bildirildi. Sondergard ise Danimarkadan yaptığı çalışmada (1991) KRK olanların anne ve babalarında bu oranı 1.6-1.8 oranında

daha düşük buldu. Weber –Stadelmann (1990) çalışmasında bu oranı 1.8 olarak bildirdi. Ayrıca çalışmasında 7 adet hastalıklı aile bildirdi ve bunların 4 tanesinde otozomal dominant olarak geçiş gösteren herediter nonpolipozis koli sendromu vardı. Bu ailelerin bireylerinin yaklaşık %50 si etkilenmiş veya etkilenmek üzere bulunmaktaydı. Bu çalışmaların sonunda iki ana sonuç ile karşılaşıldı. Bunlar.

1. KRK li aile bireylerinde kanser oluşumu şans olarak nitelenebilinenden daha sık olarak görülmektedir.
2. KRK heterogen bir hastalıktır ve aile bireylerinden bazıları da diğerlerinden daha fazla risk altındadır.

Pozitif aile hikayesinin sonuçları:

Çözümlemesi gereken iki ana soru mevcuttur. Bunlar aile hikayesinin güvenilirliği ve klinik uygulamada pozitif aile hikayesinin sonucunun değerlendirilmesidir.

Love (1985) tarafından yapılan çalışmada 216 vakalık kanser hastalarında 180 tanesi birinci derece yakınlıkla bulunmuş iken primer kanser bölgesi de %83 vakada açık olarak evaluate edilmişti.

Herediter KRK, KRK in herhangi bir tipi olarak tanımlanabilir ve bu lezyonda da tek genin defektif hali sözkonusudur. Bu durum sıklıkla otozomal dominant kalıtım göstermektedir. Otozomal dominant olması hastaların çocuklarının yaklaşık %50 sinde görülme riskinin varlığı ile anlatılabilmektedir. Bu hastalarda bu tür genetik defektler aynı zamanda ileri derecede penetrans da göstermektedir. Bunun anlamı ise hastalığın sıklıkla tüm genetik bozukluğu taşıyanlarda ortaya çıkması demektir. (101)

Bu genetik bozukluk nasıl olmaktadır:

Bir DNA 22 çift kromozomdan ibarettir. Ayrıca 1 çift de sex kromozomunu taşımaktadır. Aynı zamanda 100.000 ve daha fazla sayıda gen genomu oluşturmaktadır. Her otozomal gen iki kopyadır ve bunlar allel olarak bilinir. Allelerin biri anneden diğeri de babadan gelmektedir. Genin her bir alleli aynı bölgede (lokus) bulunsa bile identikal değildirler . Polimorfizm olarak adlandırılan değişiklikler gen üzerinde güç fark edilen ve etkisi de tam olarak hissedilmeyen defektlerdir. Ama mutasyon denilen terim hastalığa neden olabilen radikal genetik değişikliklerdir. (101)

Famlyal KRK li hastalarda lezyonlar sıklıkla iki ana grup olarak sınıflandırılabilir. Birincisi polipozis sendromları diğeri ise nonpolipozis sendromlarıdır. Nonpolipozis

karsinomlar sporadik tümörler gibi tek bir premalign adenomdan gelişebilirler. Polipozis grubunda ise lezyonların adenoma mı yoksa hamartomamı oldukları ayırt edilmelidir. Bilindiği gibi adenomlar içinde tübüler ve veya villöz yapılar bulunduran benign neoplazilerdir. Buna karşın hamartomlar ise tümör benzeri lezyonlardır ve doku yapısı anormaldir. Bazı herediter kolorektal kanser grupları bulunmaktadır. Bunlar sırasıyla;

- A.** Polipozisle birlikte olmayan herediter kolorektal polip sendromları,
 - I. Herediter kolorektal polip kanser sendromu
 - II. Herediter nonpolipozis kolorektal kanser (kansere aile sendromu)
 - III. Muir-Torre sendromu
- B.** Polipozisle birlikte olan herediter kolorektal polip sendromları
 - a. Polipozisle beraber olan KRK sendromları
 - i. FAP: familial adenomatöz polipozis / Gardner sendromu
 - ii. Turcot sendromu
 - b. Multipl hamartomatöz poliplerle beraber olan sendromlar
 - i. Peutz-jegher sendromu
 - ii. Juvenil polipozis
 - iii. Cowden hastalığı
 - iv. Cronkhite-canada sendromu

C. Aratip ve değişik formlar

1989 Jass ve Sobin sınıflamasına göre (Intestinal tümörlerin WHO sınıflaması) peutz-jegher sendromu ve juvenil polipozis hamartomatöz tümörler içinde sınıflanırken cowden hastalığı juvenil polipozisin bir tipi ve cronkhite-canada sendromu da ayrı bir histolojik tip olarak değerlendirilmektedir.

Kolorektal kanser riski yüksek olan kimseler belirtildiği gibi; kolorektal adenomu olanlar, familial polipozisi olanlar, ailede kanser hikayesi olanlar ve ülseratif koliti olanlardır (101).

Kolondaki tüm adenomların malign potansiyelleri vardır. Bir adenomun malign potansiyeli büyüklüğü ile doğru orantılıdır. Çapları 2 cm. den büyük olanlarda kanser riski %40'a kadar çıkmaktadır. Malignite insidensi tübüler adenomlarda %5, villöz adenomlarda %20 civarındadır (Tablo-I) (100).

Tablo-I: Kolon Polipleri ve Malignite Görülme Olasılığı

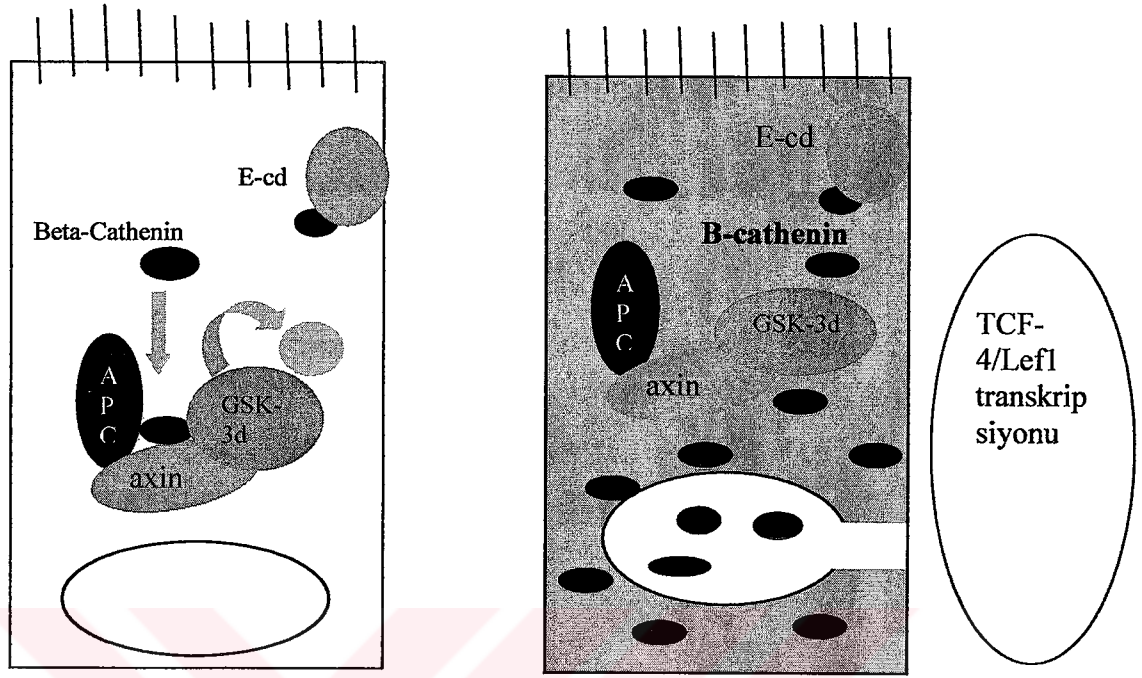
<u>RİSKİ</u>	<u>POLİP</u>	<u>GÖRÜLME ORANI</u>	<u>MALİGNİTE</u>
TIP	TÜBÜLER	%60-75	%1-5
	TÜBÜLOVİLLÖZ	%15-20	%5-20
	VİLLÖZ	%10-15	%30-70
BOYUT	<1cm.	%85	%1
	1-2cm.	%11	%10
	>2 cm	% 4	%35-50

3)KOLOREKTAL KANSERLER ÜZERİNE GENETİK VE ETKİSİ

A) TÜMÖR SUPRESSOR GENLER

Knudson famiyal kanser için tümör süpressör genin her iki allelinde birer mutasyon olması gerekliliğini savunmuştur (two-hit hypothesis). KRK karsinogenezinde bir çok gen işe karışsa da bunlardan en çok karşılaşılanı APC (Adenomatöz polipozis coli) genidir. Adenomatöz poliplerin ve adenokarsinomların %80 inden fazlasında mutantdır (114).

APC GENİ: 5. kromozomun uzun kolundadır. Ana fonksiyonu sitoplazmada beta-cathenin denilen proteinin degradasyonunu yapmaktır. Beta-cathenin GIS hücrelerinin interselüler bileşkesinde bol olarak bulunan bir proteindir. Sitoplazmada çok kısa bir süre kalmaktadır çünkü proteozomal degradasyonu çok kısa sürede olmaktadır. Normal şartlar altında beta-cathenin APC proteinine , GSK-3beta ve axin e bağlanır. Bu kompleks beta-cathenin GSK-3beta tarafından fosforilasyonunu sağlar. Bu fosforilasyonun sonrasında onu Ubiquitine bağlayacak proteinlerle işlem görmesine neden olur. Bu durum beta-cathenin proteozom tarafından eliminasyonuna neden olur. (Şekil -3)



Şekil3: Solda görülen normal epitel, sağda ki şekilde β -cathenin'in GSK-3 beta tarafından fosforilasyonu proteazom ile degradasyonu ile meydana getirilir. Sağdaki intestinal hücre mutant APC göstermektedir. Mutant APC, APC/axin/GSK-3alfa kompleksinin bağlanmasının başarısız olmasına neden olur. Bu durumda β -cathenin'in degradasyonu başlar. Bu durum β -cathenin'in sitoplazmik konsantrasyonunu artıracaktır. Konsantrasyonu artan β -cathenin de nükleusa geçer ve özel genleri aktive ederek TCF-4/Lef 1 proteinini çok sıkı olarak bağlar.

Beta-cathenin: Beta-cathenin insanlarda ilk olarak hücre membranında bağlı olan adezyon molekül kompleksi içerisinde tespit edilmiştir. Beta-cathenin'in bir diğer fonksiyonu da hücre uyarılmasındaki (signaling) rolüdür. Protein moleküllerini sitoplazmadan nükleusa taşımaktadır. Son zamanlarda yayınlanan yazılarda da bu yolun daha çok araştırılmasıyla kolorektal karsinogenezisinde önemli fonksiyonları olduğunu ortaya çıkarmıştır(55-138-148-171).

Beta-cathenin'in içinde olduğu sinyal aktivitesi epitel hücreleri için oldukça önemlidir. Nt ve Wingless homolog büyüme faktörleridir. Ve Frizzled denilen hücre membran reseptörlerine bağlanır ve onu uyarırlar. Bu aktivasyon GSK-3beta'nın inhibisyonuna neden olur ve GSK-3beta'nın beta-cathenini fosforillemesini önler. Bu

durum beta-cathenin'in sitoplazmada degradasyonunu inhibe eder . Sitoplazmada degradasyonu inhibe olan beta-cathenin nükleusa transloke olur ve burada TCF (T cell factor) transkripsiyon faktörüne veya Lef (lenfoid artırıcı faktör)2 e bağlanır. Beta-cathenin-TCF kompleksinin bazı genlerin transkripsiyonunu aktive ettiği gösterilmiştir. Bu genlerden c-myc, cyclin D1, PPAR delta, Fra-1, uPAR (ürokinaz tipi plazminojen aktivatör reseptör), c-jun ve gastrindir. Hemen hepsi kanser gelişiminde rol almaktadırlar (58-102). Bütün bunlara ek olarak APC proteini beta-cathenin'in nükleustan da dışarı atabilir. Fakat beta-cathenin'in hücre kontrolü yalnız APC nin etkisinde değildir. APC nin asept ve guanin nükleotid değiştirici faktör ile interaksiyon içinde olduğu ve aseptinde hücre morfolojisi ve migrasyonu için önemli olduğu bildirilmiştir (72).

Bu protein 3 farklı subselüler formda bulunabilir. Adherens proteinleri kompleksi içinde membrana bağlı olarak, sitozolik ve nükleus içerisinde bulunmakta olup, E-cadherin/beta-cathenin kompleksi tirozin fosforilasyonu ile regüle edilmektedir. Kompleksin tirozin kinazlar ve fosfatazlara yakın komşulukta olması ve tirozin kinazın fosforilasyonunun beta-catheni kompleksten koparması ve sitozole göndermesi ile sonuçlanır. Sitozolik beta-cathenin nükleus içerisine degrade olur veya transloküle olur. Beta-cathenin'in degradasyonu APC proteini ve iki proteinin daha (Axin ve glukojen sentaz kinaz (GSK-3 beta)) oluşturduğu kompleks içine girmesi ile sonuçlanır. APC proteini ise sonuçta başka proteinlerin de olaya karışması ile beta-cathenin'in fosforilasyonu için 2 reseptör noktasından ona bağlanacaktır. APC mutasyonu beta-cathenin degradasyonunu süprese ederek kolorektal karsinogenezi başlatacaktır. Aynı zamanda beta-cathenin CTNNB₁ geni tarafından kodlanmaktadır. APC mutasyonu ile oluşmayan KRK'lerde CTNNB₁ gen mutasyonunun özel bir önemi olduğu ve bu mutasyonun %50 KRK'lerde görüldüğü bildirilmiştir.

APC İLE GLUKOJEN SENTEZ KİNAZ -3 BETA(GSK-3BETA) VE AXİN: Kısaca APC mutasyonu sıklıkla beta-cathenin bağlı olan bölgede yerleşmiş 2 aminoasitlik bir proteini etkilemektedir. Beta-cathenin'e bağlı APC geni kayıp olduğunda beta-cathenin'in GSK-3 beta ile fosforilasyonu olmayacak ve beta-cathenin'in sitozolde toplanmasıyla olay sonuçlanacaktır. Beta-cathenin'in fosforilasyonunun bozulmasında GSK-3 beta'nın ana rolü de kinazı kodlayan genin mutasyonuna neden olması olarak

ileri sürülmektedir ki bu olay KRK karsinogenezde belirgin bir rol olarak değerlendirilebilir. Fakat yapılan çalışmalarda yalnızca 3 KRK hücre serisinde GSK-3 beta'da hiç mutasyon olmadığı ortaya konulmuşsa da daha ileri testlerin yapılması gerekmektedir (108). Axin proteininin beta-cathenin degradasyonunu arttırdığı bilinmektedir. Hepatosellüler Ca'da mutasyonları pek önemli olarak değerlendirilmese de KRK hücre dizinlerinde Axin "truncated (küçük parça mutasyonları) mutation"ların olması beta-cathenin bağlanmasını azaltacak (membrana) ve çekirdekte beta-cathenin birikimine ve beta-cathenin/TCF kompleksinin transkripsiyonel aktivitesinde artışına neden olacaktır. Bazı axin gen varyantları yapılan bir çalışmada 34 KRK'liden 4'ünde gösterilmiştir (170). Liu ve arkadaşlarının çalışmalarında mikrosatellit instabilite pozitif olan 45 KRK olgusunun 11'inde axin-2 nin mutasyonunu gösterdiler (93). Buna karşılık 60 tane mikrosatellit stabil KRK'lide bu tür mutasyon tespit edilmedi. Axin-2 mutasyonlu bu 11 KRK olgusunun hiç biri APC ve CTNNB₁ mutasyonu göstermedi. Buna karşın TCF'e bağlı transkripsiyonda aktivasyon tespit edilmişti. Bu durumda 11 vakadan 10'unda nükleer beta-cathenin akümüülasyonunu açıklamaktadır. (108).

WNT, FRZ, VE TCF-4:Bu 3 protein hücre membran uyarımında rol alan bir yolağı oluşturmaktadırlar. Bunun aberran aktivasyonu sitozolik beta-cathenin degradasyonunu azaltarak ve nükleer translokasyonunu arttırarak onkogenik bir etki yapabilir. Wnt-2 mRNA normal kolon mukozal hücreleri ile karşılaştırıldığında kolon kanserli dokuda bulunmuştur (154-165). Ama Wnt-2 ekspresyonu ise KRK hücre serilerinde görülememiştir. Smith ve arkadaşları stromal makrofajların bu yüksek bulunan Wnt-2 proteinin kaynağı olduğunu bildirmişti (154). Tanaka ve arkadaşları Frz genini (FzE3) özefagus ca.lılarda %60 ve KRK'lilerde de %21 oranında tespit etti. FzE3 geni ile transfekte edilen hücreler beta-cathenin'in nükleer akümüülasyonunu arttırmaktadır. Ama yine de FzE3 geninin KRK'deki yerinin tam anlaşılması için ileri çalışmalara gerek vardır. TCF-4 mutasyonu 24 KRK'li seride ortaya konuldu (35). Bu olgular sıklıkla mikrosatellit instabilitesi olanlardı.

DİĞER PROTEİNLER VE ETKİLERİ C-myc; Beta-cathenin uyarı yolağı genlerinin ilk gösterilenidir. APC genini taşıyan 5.kromozomdaki lokusun ekstra kopyalanması ile baskılanır. C-myc mRNA ve protein KRK' lerde iyi tanımlanmıştır

Cyclin D1; Bu gen KRK'lerde nadir olarak bulunur. Beta-cathenin'in cyclin D1 ekspresyonunu regüle ettiği bildirilmiştir.

Gastrin; KRK hücre proliferasyonunda etkili olduğu düşünülmektedir. Büyük olasılıkla bu regülasyon beta-cathenin tarafından yapılmaktadır (76).

P53 – APOPTOZ: P53 geni ilk defa 1979 yılında Lane ve Crawford, bunların hemen arkasındanda Linzer ve Levin tarafından nükleer fosfoprotein olarak tanımlanmıştır. David Lane ise immünohistokimyasal yöntemlerle insan tümörlerinde p53 genini göstermiştir(119-89-1-2-89-30-49-175). P53 geni 17. kromozomun kısa kolu üzerinde 17p13-1 pozisyonunda bulunan bir tümör supressör genidir. 16.20 kb. Uzunluğunda olan bu gen 11 eksondan oluşmaktadır. 2 ve 11 eksonda bulunan DNA kısmı 8-10kd uzunluğunda olup kodlama yapamaz(119-89).

P53 geninin 2 tipi vardır. Wild tip p53 normal fonksiyonel tiptir. Kısa ömürlü olup, ömrü 6-20 dakika kadardır(89-56-136). Dokularda saptanması zordur(89-30-176-81). Diğer tip ise mutant tip olup ömrü 3-6 saat kadardır. İmmünohistokimyasal olarak dokularda kolayca saptanır.

P53 genindeki değişiklikler insan tümörlerinde ensık rastlanılan genetik değişiklikler olma özelliğini taşır(89-49-56-42). İlk tanımlandığı yıllarda sadece bir onkogen olarak görev yaptığı düşünülen p53 geninin daha sonraları sadece mutant formunun anormal hücre büyümesinde rol oynadığı, normal p53 geninin ise tümör oluşumunu baskıladığı anlaşılmıştır. Kolon, meme, akciğer, mesane, endometrium gibi birçok organın epitelyal tümörleri yanısıra mezenkimal, nöronal ve lenfoid kökenli çeşitli tümörlerde p53 geninin homozigot kaybı saptanmıştır(89-30-59-175-56-136-81).

İlk olarak Vogelstein, kolorektal kanserlerde 17. kromozomda p53 geninin mutasyona uğradığını göstermiştir(10-163). Çeşitli mutasyonlar sonucu normal hücrelerde eksprese edilen p53 geninin iki allelden biri kaybolmaktadır. P53 gen kaybı nokta mutasyon, delesyon, rearrajman(yeniden düzenleme), insersio(ekleme) ile olmaktadır. P53 geninde görülen en önemli mutasyon şekli nokta mutasyondur. Gen mutasyonları özellikle DNAYA spesifik bağlanma bölgeleri olan 100-300 aminoasit bölgeleri arasında gelişir(10).

P53 genini diğer tümör baskılayıcı genlerden ayıran en önemli özellik, tümör baskılayıcı fonksiyonunun kaybı için hücrede tek bir allelin inaktivasyonunun yeterli olmasıdır. Bunun nedeni bazı mutant p53 proteinlerinin hücresel heat shock protein 'hsc70' ile bağlanması, bunlara normal p53 proteininin de bağlanıp uzun yarı ömürlü fonksiyon görmeyen kompleksler oluşturmasıdır. Bunun sonucunda mutant p53 proteini normal p53 proteinini inaktive etmiş olur. Bir mutant ve bir normal allel taşıyan hücre hiç fonksiyonel p53 proteini yokmuş gibi davranır ve normal allelin fonksiyonunu engeller(89-88119-10). Nokta mutasyon sonucu konformasyon değişikliği olan p53 proteininin yarı ömrü 3-6 saate kadar uzar ve bu nedenle normal p53den farklı olarak immünohistokimyasal olarak saptanır(1-89-163-54).

P53 hücrede normal koşullarda bazal seviyede ve inaktif halde bulunur. Fizyolojik şartlar altında yaşam süresi 20 dakika gibi oldukça kısadır ve yubikutin aracılığıyla proteolize uğrar. Hücre bölünmesine yada hücrenin hayatı sürdürmesine müdahale etmez. Normal bölünen hücrede p53ün seviyesinin bu şekilde düşük fakat sabit bir seviyede tutulması p53ün MDM2 adlı proteinle olan döngü halindeki ilişkisi sayesinde sağlanır. Yani p53ü bazal seviyede tutan MDM2 proteindir(123-1-89-136-57-110).

Çeşitli stres koşulları p53'ü hızla aktive eder. P53ü aktive edecek sinyallere örnek olarak hipoksi, DNA hasarı, düzensiz büyüme sinyalleri, onkogenler, ısışoku, nitrik okside maruz kalma gibi örnekler verilebilir. P53 özellikle DNA hasarına hızla tepki verip DNA'nın tamirini sağlayacak mekanizmaları aktive edebilir. P53, DNA'nın ve genel anlamda genomun içerdiği bilginin olduğu gibi korunmasını sağlaması nedeniyle 'genomun gardiyanı' adını almıştır.

Stres koşullarında p53 miktarı hızla artar ve p53 aktif hale gelir. P53'ün miktarının artması hem yarı ömrünün arttırılmasıyla hemde yüksek oranda p53 mRNA sından protein translyasyonu yapılması sayesinde sağlanır.

P53 aktivitesinin iki temel etkisi:

- 1.Hücre siklusunun bloke edilerek büyümenin durdurulması
- 2.Apopitozis (123-89-30-136)

p53'ün üzerine etki ettiği ana mekanizma p16, cyclinD, cdk4, Rb'den oluşan ve hücre bölünmesi sırasında G1'den S fazına geçişi kontrol eden mekanizmadır. Kanserlerin %25'inde bu dört proteinden birinde mutasyon görülmektedir. Rb proteini E2F proteinine bağlanarak E2F nin asıl görevi olan DNA'ya bağlanmasını engeller. E2F DNA'ya bağlanarak, hücre siklusunu devam ettirmek için gerekli olan cyclin ve cdk'lerin mRNA'larının üretimini sağlar. Dolayısıyla Rb hücre bölünmesini engelleyici bir proteindir. Cdk4'ün görevi ise Rb'yi inhibe etmektir. Cdk4 Rb'ye bağlanarak Rb'nin E2F'ye bağlanmasını engeller böylece hücre bölünmesi için gerekli cyclin ve cdk'ler E2F'nin DNA'ya bağlanıp bu genlerden mRNA üretilmesini sağlaması sayesinde gerçekleşir. Cdk4'e etki eden 3 değişik protein vardır. Bunlar: cyclinD, p16, p21

p21, p53 tarafından aktive edilmiş olup cdk4'ü inhibe eden bir proteindir. P53 stres anında p21'in üretimini artırır ve bu şekilde hücre siklusunun durdurur. Buna hücrenin G1 fazında tutuklanması denir.

P21 yüksek oranda üretildiğinde PCNA adlı proteine de bağlanmak suretiyle, PCNA'nın DNA'nın polimerizasyonundaki görevini inhibe eder. PCNA'nın başka bir görevi ise DNA'nın tamirinde aldığı roldür. Fakat p21 tarafından inhibe edilmez.

P53'ün G2 fazında hücrenin tutuklanmasında da rol oynayabileceğine dair bir takım bilgiler mevcuttur. Hücredeki kromozomların yavru hücrelere eşit bir şekilde dağıtılmasından sorumlu mekanizmada aksaklık olması durumunda p53 aktive edilir ve hücre bölünmesi bu aşamada durdurulur. Bu da p53'e genomun gardiyanı denilmesini destekleyen başka bir korunma mekanizmasıdır; eksik yada ekstra kromozumlu hücrelerin üretilmesi bu şekilde önlenmiş olur(123-24-89-136-).

Sonuçta p53 DNA'daki hasarı bilinmeyen mekanizmalarla hisseder ve DNA'nın tamirinin hücre siklusunun G1 aşamasında bloke edilmesi ve DNA tamir genlerini aktive ederek gerçekleştirir. Yani hücre siklusunu G1 aşamasında durdurur. DNA tamir genlerini aktive eder, böylece yaratılan zamanda meydana gelen hasarın tamirini sağlar ve siklusu kaldığı aşamadan devam ettirir. Zarar görmüş DNA'sı olan ve bunu tamir edememiş hücre apoptoza gönderilir. Bu aktivitesinden dolayı p53'e 'genom gardiyanı' denir(24-89-88-30-136).

P53'ün homozigotik kaybı durumunda hasar görmüş DNA tamir edilemez ve hücre içindeki mutasyonlar sabitlenir. Sonuçta hücre malign transformasyona doğru giden tek yönlü bir yola girmiş olur.

P53'ün tümör oluşumunu engelleyici bir görevi daha yakın zamanda bulunmuştur. DNA hasarının yanı sıra hipoksi de p53'ü aktive edebilir. Tümör anjiogenezisi tümör hücrelerinin büyümesi için kritik önem taşır. Hipoksiye giren tümör hücrelerinin eğer normal p53 genleri varsa apoptoza giderler. Fakat p53 genleri mutasyona uğramışsa o zaman hipoksik tümör hücreleri apoptoza dirençli hale gelir.

Somatik ve kalıtsal mutasyonların yanı sıra p53 geninin fonksiyonu başka mekanizmalarla da inaktif hale gelebilir. Rb proteininde olduğu gibi, bazı DNA virüslerinin transforme eden proteinleri, p53'e bağlanıp p53'ün parçalanmasına sebep olabilirler. Normalde p53'ün aktivitesini azaltan, p53'e bağlanan MDM2 proteini bir takım yumuşak doku sarkomlarında gen amplifikasyonu sonucu çok miktarda üretilir. MDM2 , p53'ün hızla parçalanmasını sağlayarak bir onkogen olarak davranır (24-123-1-2-89-30-49-175).

P53'ün DNA hasarına cevap olarak apoptozisi kontrol etmesinin bir takım teorik ve pratik uygulamaları vardır. Kanser tedavisinde kullanılan radyasyon ve kemoterapi etkilerini tümör hücrelerinin DNA'sında hasar yaparak apoptozise neden olmak suretiyle gerçekleştirirler. Ancak bunun gerçekleşmesi için o hücrelerde normal p53 geninin bulunması lazımdır. Buradan da anlaşıldığı gibi, normal p53 geni taşıyan tümörler radyoterapiye mutant p53 geni taşıyan tümörlerden daha hassastır. Örneğin testis teratokarsinomu ve çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemisi normal p53 geni taşır. Oysa akciğer ve kolon kansinimleri sıklıkla p53 mutasyonu taşır, bu nedenle kemoterapi ve radyoterapiye dirençlidir(89-143-159-104).

Bulunışundan buyana 20 yıl geçmesine rağmen p53 yakın zamana kadar hem yapısal hem fonksiyonel olarak türünün tek çeşidi olarak biliniyordu. 1997'nin sonlarına doğru p53'ün kardeşi sanılan p73 geninin bulunuşuyla bu durum değişti. P73 kromozomunun 1p36'da lokalizedir ve p53'e birçok yönden benzeyen bir DNA

bağlanma bölgesi vardır. P53'e benzer şekilde uygun koşullar altında hücre siklusunun durdurulması ve apoptozise neden olabilir. 1p36 lokasyonunun delesyonu; nöroblastoma, hepatosellüler, kolon, meme, renal, pelvis ve üreter over tümörlerinde bulunmuştur(24-68-90-105-124-143-89).

Apoptozis ve P53 Gen Aile Üyelerinin Apoptozisdeki Rolü:Apoptozis hücrenin programlı ölümü, genetik bir programın hücreyi ölüme götürmesidir. Apoptozis, hücrelerin kendi kendilerini yok ettikleri programlı aktif RNA/Protein sentezine ve enerjiye gereksinim gösteren fizyolojik bir mekanizma olarak kabul edilir(143-159-126-7).

Apoptozis, normal gelişimi için esas olup bu işlemdeki bir bozukluk embriyonik ölümden, kanser gelişim riskine kadar değişen bir spektrumda sorunlara neden olur (126).

Cohen ve Duke 1984'de protein ve RNA sentezinin kimyasal inhibisyonunu apoptozisin engellediğini göstererek , apoptozisin aktif bir süreç olduğunu ispatlamışlardır. 1992'de Williams ve arkadaşları bir nematod olan Caenorhabditis Elegans'ta yapılan çalışmalarla apoptozun aktif ve genetik kontrol altında olduğunu kesinleştirmiş ve memeli hücrelerindedeki genetik kontrolün önemini göstermişlerdir (126).

Apoptozisin Morfolojisi: Işık mikroskobu ile geç dönem değişiklikler tanımlanabilmekte ise de eniyi elektron mikroskobu ile görüntülenir. Buna göre

- 1) Yüzey organellerinin kaybı: mikrovilluslar, bağlantı noktaları ortadan kalkar, hücrenin komşularıyla bağlantısı kesilir.
- 2) Hücre büzülmesi: Apoptozis sırasında hücre büzülmeye, sitoplazma yoğunlaşmaya başlar ve organeller sıkışık bir hal alır.
- 3) Kromatin yoğunlaşması: Apoptozis ışık mikroskopunda da seçilen en belirgin bulgusudur. Nükleus endojen endonükleazların etkisi ile membranın çevresinde yoğunlaşır, yuvarlağımsı kitleler haline gelir ve nükleus parçalanarak ayrılır.
- 4) Sitoplazmik vakuolizasyon ve apoptotik cisimciklerin oluşması:

Hücrede membran dışına doğru vakuolizasyon olur ve takiben vakuol hücreden ayrılırken birçoğunda nukleus organel parçaları vardır ve 'apoptotik parça' denilen cisimcikler halindedir(24-126-7).

Apoptozisin kontrolü; hücrede çevresel, gelişimsel ve yaşamsal genetik sinyaller ile olur.

Apoptozisi Uyarılar: Yaşamsal faktörlerin ortadan çekilmesi, potent apoptotik sinyaller oluşmasına neden olur. Çevresel apoptotik sinyallerden olan sitotoksik T lenfositleri apoptozise neden olur(126). Isı şoku, radyasyon, viral enfeksiyonlar, serbest oksijen radikalleri, sitotoksik ilaçların varlığı gibi durumlarda hücrel büyüme kontrol bozukluğu, hücrel hasar oluşumu, hücre-hücre veya hücre-substrat ilişkisinin bozulması halinde apoptozis organizmanın bir savunma mekanizması olarak devreye girer(24-123-126).

Apoptozisin Baskılayıcıları: Koloni sitümüle edici faktörler ve interlökinler , eritropoetin apoptozisin hücre bazındaki en önemli inhibitörleridir. EBV, Herpes virüs, E179 Adenovirüs özellikle Bcl-2 gen ailesi üzerinde apoptozisi engeller(126).

Apoptozisi yapan genler proapoptotik genler olarak tanımlanır bunlar: bak, bcl-xs, bad, bik, bid, bim, hrk' dır.

Apoptozisi engelleyen genler antiapoptotik genler olarak tanımlanır : Bunlar bcl-2, bcl-xl, bcl-w, mcl-1'dir(148-126-177).

P53'ün gen ürünleri apoptozisin kontrolünde rol alan multipl genlerin, indükleyicisi olarak bilinir(148). P53'ün apoptoza yol açabilmesi için çeşitli faktörlerin bir araya gelmesi gerekir. Örneğin DNA'nın hasar gördüğü durumlarda ve hücreye yaşaması yönünde az, hatta hiç sinyal gelmemesi durumunda yada bir onkogenin hücreyi bölünme siklusuna girmeye zorlaması durumunda, p53 aracılığıyla apoptoz başlatılabilir. P53'ün apoptozu başlatabildiği uzun süredir bilindiği halde, bunu hangi mekanizmayla yaptığı yakın zamanda bulunmuştur(143-159-177). p53 aktive olur hücre siklusunu G1 fazında durdurur, DNA tamiri için gereken emirleri verir. Eğer DNA başarılı bir şekilde tamir olursa cmyc aktif hale gelir ve p53 miktarını azaltarak hücre siklusunun kaldığı yerden devamını sağlar. Ancak hücre büyümesi

için ters yönde dışarıdan sinyaller devam ederse yani hücreye çelişkili sinyaller gelirse hücre apoptozisi başlatır(24). P53'deki değişiklikler kanserin direkt etkisi değildir. Ancak P53'e bağlı hücrelerin DNA hasarında kontrol cevabında bir defekt olduğunda bu hücreler malign transformasyon için yüksek risk oluştururlar(7).

P53 geni birçok gen ile ilişki içinde genom bütünlüğünü kontrol eden, bu bütünlükte bir sorun olduğu zaman hücreyi mitoz girmekten alıkoyarak diğer sinyal ve genlerin yardımı ile gen onarımı ve hücre diferansiasyonunu sağlamakta veya hücreleri apoptozise sürüklemektedir(24-143-159-68). P53 gen ürünleri transkripsiyondan bağımsız olarak da apoptozisi indükleyebilmektedir(143). P53'ün transkripsiyona bağımlı ve bağımsız apoptozis fonksiyonları hücre tipine göre değişebilmektedir(143-159). Büyümenin durması veya apoptoz etiyolojisindeki faktörlerden hücre tipindeki farklılıklar, DNA hasarı sonrası apoptoz giden hücreler ve normal diploid fibroblastlar hücre siklusu durmasında önemli rol oynarlar. Bazı onkogenlerin ekspresyonu apoptoz oluşumunu büyüme durmasından daha çok etkilemektedirler(159).

Nm23:Nm23 H.Steeg ve ark. tarafından fare K-1735 melanoma hücrelerinde bulunan (1988) bir gendir. Kromozom 17q21.3'de lokalize bu gen, nukleozid difosfat kinaz A ve B (NDPK-A, NDPK-B) proteinlerini kodlayan Nm23-H1 Nm23-H2 iki homolog genden oluşur.

Nm23 tarafından kodlanan NDPK, nükleik asit sentezinde çok önemli bir enzim olan nukleozid trifosfataz enziminin sentezini sağlar. Nükleik asit sentezindeki artış sonucu hücre proliferasyonunda artış meydana gelir. Hücre proliferasyonunda artış meydana getirirken, aynı zamanda diferansiasyonu da sağlamaktadır. NDPK, ayrıca guanozin trifosfat(GTP) bağlayan proteinlerin aktivasyonu , hücrelerin sinyal iletiminde çok önemli bir görevi olan G-protein ve bunun gibi etki gösteren diğer proteinlerin sentezini arttırmaktadır. NDPK-B enzimini kodlayan Nm-23-H2 geninin metastaz ve prognoza etkisi bazı çalışmalarda gösterilememiştir. Memenin benign ve malign lezyonlarında Nm23-H2 antikoruyla yapılan çalışmalarda, benign lezyonlarla daha çok ilişkili olduğu bulunmuştur. Diğer taraftan metastazlı primer meme tümörlerinde, metastazsız olanlara göre Nm23-H1 değerleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Nm23-H2 ekspresyonunun ise metastazlı olan ve olmayanlarda farklı olmadığı bulunmuştur. Bu bulgularla Nm23-H1, ve bunun ürünü olan NDPK-A enziminin metastazla ilgili olduğu ileri sürülmektedir.

Deneysel çalışmalar, Nm23 mRNA değerlerinde azalmanın artmış metastaz potansiyeli ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Nm23 geninin birçok malignitede metastazı önlediği kabul edilmektedir. Bu genin bir takım proteinlerin kodlanması ve bir takım enzimlerin aktive edilmesi üzerindeki rolü kesin olsa da metastaz supresyonundaki mekanizması tam bilinmemektedir. Mekanizma ne olursa olsun hücre proliferasyon ve diferansiasyonunu sağlamaktadır(23).

Tümör dokusunun proliferatif aktivitesi çoğalma fraksiyonu(hücre siklusundaki hücre sayısı) ve hücre siklusunun süresi ile belirlenir. Çoğu insan kanserlerinde proliferasyon aktivitesi ile prognoz arasında ilişki bulunduğu bildirilmiştir. Bu nedenle tümörlerin proliferatif aktivitelerinin tayini, buna dayanarak biyolojik davranışlarının belirlenmesi giderek önem kazanan bir konu durumuna gelmiştir. Bilinen 2 Nm23 geni birbirinin%88 oranında benzerdirler; hücre proliferasyonu, diferansiasyonu bazal membran formasyonu ile birlikte büyümesinin durdurulmasında görevlidirler. Yalnızca nM23 proteininin ekspresyonu kolorektal kanserlerdeki karaciğer metastazı riskini artıran (yaklaşık5 kez) bağımsız bir etki yaratmaktadır. Karaciğer metastazlı kolorektal kanserlerde p53 ekspresyonu ile karşılaştırıldığında yalnızca çok sınırlı bir beraberlik gösteren p53 ekspresyonundan farkı ortaya çıkmaktadır. Christoph ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Duke's Stage B kolorektal tümörlerde nM23 protein ekspresyonunun gösterilmesi belirgin olarak ortaya konulmuştur. Protein belirteçleri ve onların karaciğer metastazı riski ile beraberliği çoklu analiz çalışmalarında yalnızca nM23'ün bağımsız bir beraberlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Kolorektal kanserlerde 58 hastalık bir seride nM23 ekspresyonunun p53 ve c erb B2 ile korelasyon gösterdiği aynı araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur(23).

BCL-2: Apoptozisi inhibe eden bir gendir(44-78). Bcl-2 1984 yılında B-hücreli lenfoma (Bcl) ve non hodgkin folliküler lenfomalarda ilk kez saptanmış olup t(14:18)(q32-q31) translokasyonu olarak izlenir(77-137-164). İnsan lenfoid doku tümörlerinde izlenen en sık kromozomal translokasyondur. Folliküler lenfomalarda

%80, diffüz B hücreli lenfomalarda %20 oranında izlenir(77-98-65). Ancak t(14:18) translokasyonu gözlenmeyen lenfoid hastalıklarda, normal t ve b lenfositlerde izlenebilir.

Bcl gen ailesi bir çok genden oluşur(77-98).

a.Hücre ölümünün süpressörleri:Bcl-2, Bcl-XL, mcl-1

b.Hücre ölümünün promotorları: Bax, Bcl-XS, Bak, Bad

Bcl-2 ekspresyonu fetal dokularda erişkinden daha yüksek olup bu durumun morfogenez ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir(13). Hücre siklusuna etkiyerek apopitozisi inhibe etmektedir(44). Apopitozisi inhibe etme yolu kesin olarak bilinmemekle birlikte, mitokondri membranında bol bulunması fonksiyonunu mitokondri üzerinden gerçekleştirdiğini düşündürmektedir(77-78).

Bcl-2 antioksidan gibi gama radyasyonun uyardığı hücre ölümünü bloke etmektedir(98).

Büyüme faktörü veya nörotropik faktörlerin yokluğunda yada hücreye zarar veren bir çok faktörde, Bcl-2 hücre ölümünü geciktirir. Glukokortikoid veya Ca++ ile uyarılmış hücre ölümünü çok etkili bir biçimde bloke eder(137-16-41).

Embriyonik epitelde gelişimin evresine bağlı olarak organdaki miktarı değişir(98). Mesela gelişen meme dokusunda, tomurcuklanan bronşun proksimalinde miktarı çok artar(78).

Erişkin insan dokularında Bcl-2 üç temel grupta bulunur(98).

1)Tüm ekzokrin glandların duktus hücrelerinde(Pankreas, terbezi, tükrük bezi)

2) Kök veya prolifere olan hücrelerde (Bazal keratinositler, intestinal kriptlerin bazal hücreleri)

3) Hormonal sitimulusa cevap veren epitel hücreleri (Meme, endometrium, prostat dokuları)

Normal deride bazal keratinositlerde izlenirken, suprabazal hücrelerde

izlenmez(77). Benign nevik lezyonlarda immünohistokimyasal olarak Bcl-2 pozitifitesi malign melanomlardan düşüktür. Ancak melanom hücrelerinin doku kültürlerinde yüksek Bcl-2 ekspresyonu saptanmaktadır(160-131).

Bcl-2 reaktif lenf nodlarında mantle zonda kuvvetli pozitif iken, follikül merkezinde negatiftir. Folliküler lenfomalarda ise ters bir patern olup folliküllerde kuvvetle pozitif iken çevrede negatiftir(77). Bcl-2 eksprese etmeyen nonhodgkin lenfomalar Bcl-2 eksprese edenlerden daha iyi tedaviye cevap verirler(66).

Normal endometriumda menstrual siklus fazlarıyla ilişkili olarak Bcl-2 ekspresyonunda farklılıklar izlenir. Endometrium kanserlerinde ise Bcl-2 ekspresyonunun prognostik önemi çok belirgin değildir(142-48).

İgisi hücreli tümörlerden sinovyal sarkomda dokuda immünohistokimyasal olarak Bcl-2 ekspresyonu %100 izlenirken, leiomyosarkomda saptanmaması ayırıcı tanıda kullanılabilir.

Srasser ve arkadaşlarının yaptığı çalışma sonucunda mitokondrial membran içinde yerleşmiş olan bcl-2 proteini apoptozisi bloke ederek bu tür hücrelerin yaşamını uzattığı ortaya konulmuştur. Normal kolon hücresinde bcl-2 protein ekspresyonu kriptin alt yarısında yoğunlaşmaktadır. Bu durum proliferen olan (stem cell) kök hücreleri koruma amacına yöneliktir(148-59). Kolorektal karsinogenezde immünohistokimyasal boyalarla bcl-2 proteininin ortaya konulması açık olarak bildirilmemiştir. Brenner ve Hague 'nin çalışmalarında bcl-2nin kolorektal karsinogenezde %86 ve 92 arasında ekspresyonu bildirilmiştir(14-53). Fakat bunun dışındaki çalışmalarda bu oran giderek azalmaktadır hatta Watson ve Ofner'in çalışmalarında bcl-2 ekspresyonu adenokarsinoma dönüşümü sırasında hiç gösterilememiştir(122-169) . Gastrointestinal sistemde tümöre bitişik mkozada genelde Bcl-2 ekspresyonu izlenmezken, displastik ve hiperplastik epitelde Bcl-2 ekspresyonu izlenir(98) . Appendix ve kolonrektumda görülen adenom ve karsinomların farklı morfolojik yapıları ve davranışları bulunmaktadır. Bu durum hücre proliferasyonu apoptozis ve ilgili moleküllerin ekspresyonunun hücre içinde değişik olmasıyla ilgili olduğu kabul edilir. Hem p53 hemde bcl-2 nin kolorektal kanserler gibi bir çok neoplazmın

onkogenezinde etkili olduğu bilinmektedir. Yukarıda anlatıldığı gibi wildp53ün kaybı ve TP53'ün mutasyonu sonucunda protein stabilitesini arttıran çok miktarda mutant p53 birikimi olacaktır. P53ün immünohistokimyasal olarak gösterilmesi TP53 mutasyonuna bir delildir. Özellikle DNA hasarı sırasında ve p53 proteininin yokluğuna neden olan TP53 mutasyonlarının olduğu zamanlarda uygun tekniklerle bu durum neoplazmlarda ortaya çıkarılabilir. Bcl-2 protoonkogeninin programlı hücre ölümünü inhibe etmesi ve bu durumun p53 tarafından engellenmesi olağan olarak hücrede meydana gelmektedir. Kolonik adenokarsinomlarda bcl-2 nin ekspresyonu adenomalara göre daha azdır. Carr ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada adenomalarda bcl-2 ekspresyonu ki-67 ve p53 ile beraber daha belirgin olarak ortaya konulmuştur. Bu durum adenomaların daha çok villöz karakterde morfolojik yapı göstermesinden kaynaklanabilir. Aynı çalışmada bcl-2nin karsinomalarda adenomlardan daha az olasılıkla ortaya çıkarıldığı bildirilmiştir. Bu çalışmada bcl-2 , p53 ile ki-67 arasında herhangi bir korelasyon bulunmamıştır.

Prostat adenokanserlerinde Bcl-2 eksprese eden tümörlerin hormonoterapiye dirençli olduğu gösterilmiştir(98).

Normal meme duktus ve lobüllerinde %90'a varan oranlarda Bcl-2 ekspresyonu izlenir(85-133). Memede normalde Bcl-2 ekspresyonu endometrium gibi menstrual siklus ile uyumludur. Menstrual siklusun folliküler faz sonunda Bcl-2 ekspresyonu en yüksek düzeydedir(142). Luteal faz sonunda lobüler epitel hücrelerinde ekspresyonu aniden düşer. Bu durum Bcl-2'nin hormon bağımlı bir kontrolü olduğunun göstergesi kabul edilir(142).

CERB-B2: c-erbB-2 (HER-2/neu) protoonkogeni ilk kez ethylnitrosürea ile indüklenmiş ratların neroblastomalarında tanımlanmıştır(3-31). Kromozomda 17q12-21.32 yerleşimlidir. C-erbB-2 protoonkogeni 185000 dalton ağırlığında transmembran proteinini kodlar. Bu proteinin ekstraselüler komponenti EGFR'ne benzer (152-25) ve EGFR gibi c-erbB-2 ekspresyonu da artmış proliferatif aktiviteyi gösterir(70-11).

Epidermal büyüme faktörü c erb B2-3-4 (HER2-3-4) tirozin kinaz enzimi subtiplerindedir. Bir çok kanserle olan ilişkisi literatürde belirtilmiştir. Bunların arasında meme, endometrial ve servikal kanserler vardır. Bunlarda belirginliğinin

bulunması kötü prognozla birlikte.

Yapılan çalışmalarda erb-B2 onkogeninin malign meme kanseri (172-167-151) over ve gastrik kanserlerde (176) hem erken dönem nüksler ile hemde kısalmış yaşam süreleriyle birlikte görülmektedir. Hem erb B2 hemde erb B3 genleri hergulin yada neu diferansiye edici faktör (NDF) için reseptör olarak keşfedilmişlerdir(153). İnteraksiyonları tümör progresyonunu artırmaktadır(75) .

C erb B2 ile B3 arasındaki ilişki tam olarak ortaya konulamamıştır. Son analizlerde (132-86) C erb B ailesinde reseptör ler arası ilişkiler değerlendirildiğinde NDF ile birleşen C erb B3 ün c erb B2 ile heterodimer yaptığı ve bu suretle tirozin rezidülerinin fosforilasyonunu hızlandırdığı ortaya konulmuştur. Ligan olarak C erb B4 ün NDF'e olan afinitesinde c erb B3den daha fazladır. EGFR ile c erb B2 benzer heterodimer oldukları halde ne epidermal büyüme faktörüne bağlanırlar nede artmış ligant veya kinaz aktivitesi göstermektedirler(166).

C-erbB-2; sauthern Blotting ve Slot Blotting ile frozen dokusunda saptanabilir, ancak çok miktarda doku gerekir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile parafinde çalışılabilir ve çok az doku gerektirmesine rağmen sensitif olarak parafinde gösterilebilir. İnsitu hibridizasyon en sensitif yöntem olmasının yanı sıra çok pahalıdır.(31) İmmünohistokimyasal inceleme gen miktarı düşüklüğünde sensitivitesi azalmakla birlikte ucuz ve kolay uygulanan bir yöntemdir(4-150-140). Formalin tespiti immünohistokimyasal boyanmanın sensitivitesini azaltmaktadır(129). En yüksek boyanma asetona fiksasyonunda izlenir(31). Pozitif boyanma membranöz olup, sitoplazmik boyanma mitokondrilerin çapraz boyanması sonucu olur değerlendirilmemelidir(135).

B) RAS ONKOGENLERİ

Ras Onkogen aktivasyonu:

Rat sarkoma'dan gelen adı ile ras geni ilk kez hayvan tümöründe bulunmuştur. İnsanda birkaç adet ras protoonkogeni bildirildi: H-ras, K-ras 1, K-ras 2 ve N-ras. K-ras KRK karsinogenezinde en etkin olanlardır. Bu gen 12. kromozomun kısa kolundadır. Normalde ras onkogeni hücre membranında iletimden sorumlu olan p21 proteinlerinin yapımını sağlamaktadır (45). Bos ve arkadaşları ilk kez ras protoonkogen mutasyonunu

bildirmişti (1987). Vogelstein ise 1988'de KRK'lerde ras mutasyonunu sporadik vakalarda %50'den fazla, herediter vakalarda da % 13-15 civarında bildirdi (161). Ras onkogeni mutasyonu 1cm.'nin üzerinde olan adenomlarda da %58 olarak aynı yazar tarafından bildirilmiştir.

MUTO ve EDELSTEIN'in çalışmalarında özellikle K-RAS onkogeninin 1cm.den küçük olan tümörlerde mutasyonunun çapı, büyük olan tümörlere oranla daha az olduğunu ortaya koydular. 2cm. üzerinde çapa sahip olan poliplerde K-RAS onkogeninin adenoma gelişmesinde etkisi %50'nin üzerinde olarak bildirildi. Fakat invazif karsinomda sıklığı beklenenden az olarak bulunmuştur. Yapılan son çalışmada (112) özellikle sağ kolonda yerleşmiş olan flat adenomların karsinogenezinde K-ras onkogeni mutasyonunun sol tarafta yerleşmiş olan çapı 2cm. den büyük poliplere oranla fazla olduğu bildirilmiştir.

C) COX2 RESEPTÖRLERİ

COX-2; Aspirin gibi COX-2 inhibitörlerinin KRK riskini azaltıcı etkisinin ortaya çıkarılması bu reseptörleri önemli hale getirmiştir. COX-2 normalden daha fazla olmak üzere insan KRK hücrelerinde gösterilmiştir. COX-2 beta-cathenin metabolizmasını PPAR-gama (peroksizon prolifer edilmiş protein) aktive olması üzerinden yapmaktadır.

B) BİYOLOJİ

Kolonik kriptler (normal biyoloji)

Adenomatöz polipler aberan kript odağı (ACF) olarak bilinen küçük bir odaktan kaynaklanmaktadır. Takayama ve arkadaşlarınınca yapılan çalışmada (117) kolon ve rektumdaki displastik ACF ile ileri yaş, senkron makroadenomlar ve kolorektal adenokarsinomlar ile çok sıkı ilişkisinin olduğunu net olarak ortaya konulmuştu. Bu odağın sulindak ile de regrese olduğu Giardiello ve arkadaşlarınınca da ortaya konulmuştu (116).

Kanser gelişme riski olan bu odağın kaynaklandığı hücre tipleri barsak mukozasında invaginasyon yapısı gösteren kriptlerin dibinde yer alan 4 grup hücreden kaynaklanır: absorbtif hücreler, Paneth hücreleri, goblet ve enteroendokrin hücreleridir. Kriptlerin dibinde yerleşmiş olan ana kök hücreleri (stem cell) differansiye olmamış hücreleri üretir. Oluşumunu takiben birkaç bölünme geçiren bu hücreler kriptlerin üstüne

doğru hareket eder. Bunların içinde aşağıya göç eden Paneth hücreleri hariç tutulmalıdır. Kolonda bulunan intestinal kriptlerde aynı progenitor hücreden gelişmiş hücre grupları bulunur. Yani bu demektir ki intestinal kript adultlarda kolonaldır. Her gelişen hücre faaliyetinin sonunda programlanmış hücre ölümüne (apoptosis) gitmektedir. Kolon hücrelerinin tüm yaşam süresi ortalama 4-5 gündür. Fakat Paneth hücreleri ortalama 4 hafta kadar yaşamaktadır. Bu hızlı döngü intestinal karsinogenlerin mutagenik etkisinin ortadan kaldırılması veya en aza indirilmesi için bulunan bir yöntem olsa gerektir (36-108).

Polipler

Polip intestinal mukozadan kaynaklanıp lümene protruze olan lezyonlardır.

Bunların nemi kolorektal adenokarsinomaların prekürsörü olmalarından kaynaklanmaktadır. Hiperplastik polipler gibi çoğu polip malign forma dönüşmediği halde bazıları bu dönüşüm içerisinde yer almaktadır. Poliplerin histolojik tipleri kadar büyüklüklerinde önemlidir. 1 cm nin üzerinde çapa sahip olanlarda yüksek derecede displazi ve adenokarsinoma daha sık olarak görülmektedir. Eğer bu lezyon villöz histoloji içermekte ise bu yüzde daha da artacaktır. Muto ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma sonunda (112) 2075 vakada tespit edilen polipler çapları ve kansere dönüşüm oranları orta derecede risk ten invaziv karsinoma spektrumu arasında incelenmiştir. 1 cm çapın altındakilerde 19 vakada invaziv karsinoma dönüşüm görülmüşken, çapı 2 cm nin üzerinde olanlarda 272 vakada görülmüştür. Poliplerin sayısının artması malignite dönüşüm riskini de artıracaktır. Küçük bir adenomanın kansere dönüşmesi 10-11 yıl kadar olmakla beraber herediter KRK olgularında bu sık olarak meydana gelmektedir. Residüel adenomatöz doku ile beraber olmayan 2 cm den küçük ülserli karsinomalar ise “de-novo” karsinomaların bir kanıtı olarak değerlendirilmektedir. Bunlarda kanser olgusu direkt olarak normal mukozadan öncesinde adenoma fazı olmadan gelişmektedir (112). Muto ve ark.ları tarafından yapılan çalışmada 1975 ten beri rezeke edilen kolonik poliplerin adonoma karsinoma dönüşüm oranı %10 olarak bildirilmiştir. 1cm nin altında cm altında çapta olan adenomlarda da karsinoma gelişimi gösterildi. Bu nedenle eskiden olan bu inanış yıkılmış durumdadır. Non pedinküllü adenomaların da karsinoma dönebilecek prekürsörler olduğu yine aynı yazarlar tarafında bildirilmişti.

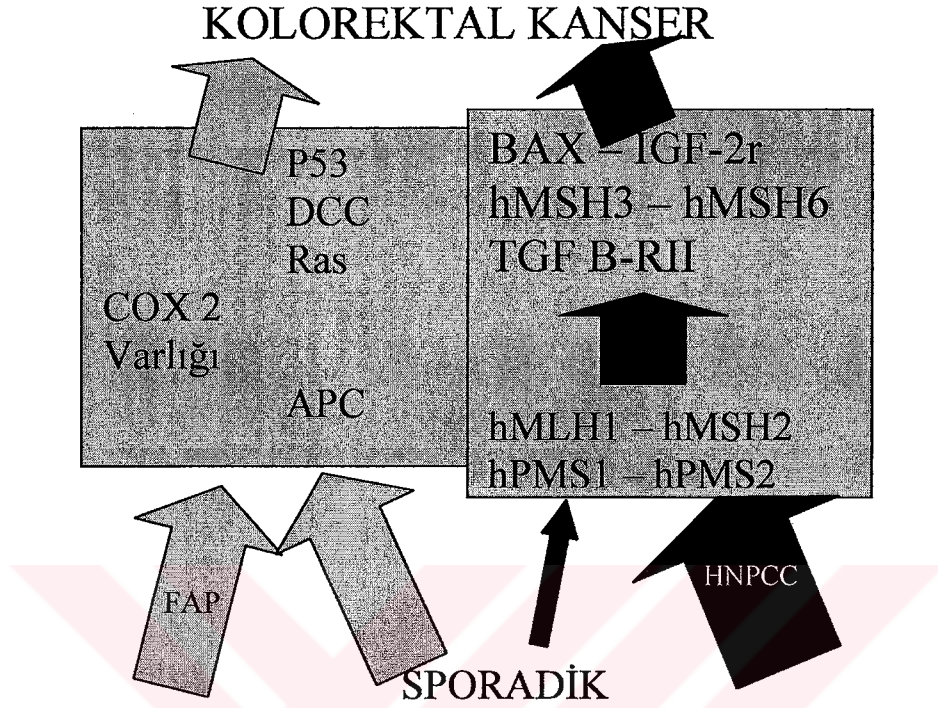
Polipoid olarak lümene büyümeyen ama düz ve sapsız olarak bulunan

lezyonlar için kolonoskopik değerlendirmeler sonunda

a) kırmızımtrak bir yüzeyle hafif mukozadan yüksek lezyonlar olarak bulunmaktadır,
b) flat ten sesile doğru değişiklik gösteren morfolojik tiplerinin olması yanında histolojik tipleri hemen tamamen tubuler adenomadır. Bu histolojik yapıda oldukça sık olarak ciddi atipi ile beraber bulunmaktadır. Aynı zamanda laterale ve ince olan muskularis mukoza tabakasına doğru hızlı yayılma eğilimleri de olmaktadır. Adenomatöz komponent etraf mukoza dokusundan iki kat daha fazla kalındır. Tokyo üniversitesinde yapılan bir çalışmada 117 kolonoskopik flat adenomanın değerlendirildiği vaka serisinde çapı 1 cm den daha küçük olmasına rağmen %13 oranında maligniteye rastlanmıştır (112). 1985 ten beri Japonyada yapılan çalışmaların sonuç raporlarında (79-92)daha küçük lezyonlarda da (örneğin deprese olarak bulunan lezyonlarda) kanser görülebilmektedir. Bunlar non-polipoid neoplazmlar olarak isimlendirilmişlerdir. Bunlar adenoma veya karsinoma olarak karşımıza çıkabilir. Karsinoma görüldüğünde submukoza tabakasının kısa sürede invaze edildiği gösterilmiştir. Genel olarak nonpolipoid lezyonların kansere dönme oranı yine japoyada yapılan çoklu merkez çalışmaları sonunda %6.5 olarak polipoid lezyonlar için ise bu dönüşüm oranının ise %93.5 olduğu bildirilmiştir.

DNA analizleri polipoid ve flat lezyonlar için yapıldığında adenomalarda aneöploidi ile birlikte orta dereceli atipi ile belirginleşmiştir. Tipik olan 5 mm den daha büyük flat adenomalarda %80 ornında anöploidi görülmüştür. Bu aynı derecede atipi gösteren bir polipoid lezyonda %33 civarında kalmaktadır. Bu durum flat adenomaların kansere dönmede ne derece potansiyel olduklarını da belirtmektedir (113).

Vogelsteinin tanımlamasıyla açıklığa kavuşan adenoma karsinoma dönüşümünde APC, K-ras, p53, ve DCC geninde kümülatif genetik değişiklikler bulunduğu bilinmektedir. Fakat nonpolipoid tümörler için bu bilgilerin çok az kısmı doldurulabilmiştir. Ando ve arkadaşlarıncı (5) K-ras oncogeni 12. kodonundaki nokta mutasyonu karsinomlarda adenomlardan daha az olarak ortaya koymuş ve rapor olarak karsinomların adenomatöz ara fazlar olmadan geliştiği çıkarımını yapmıştır. Flat adenomların tip IIb ve IIc sinde K-ras mutasyonunu diğer kanser türlerinde ve polipoid adenomalarda görüldüğünün aksine yoktur. Bunlarda göstermektedir ki flat adenoma tip IIc tip IIb ve polipoid lezyonlara göre değişik bir genetik patern taşımaktadır. (Şekil-4)



Şekil-4: Kolorektal kanser oluşumu sırasında sporadik ve ailesel etyolojiye bağlı olarak kanserogenezise katılan gen ve onkogenler ve etki şekilleri şemada gösterilmiştir.

Polip kanser dönüşümü:

Familyal adenomatöz koli hastalığını taşıyan hastaların piyeslerinde yapılan çalışmalarda tek bir adenomatöz kriptten invaziv karsinoma kadar geniş spektrumda histolojik tip birden bulunduğu 1925 yılından beri bilinmektedir (94) Aynı zamanda sporadik kanser olgularının %15 inde de adenomatöz elemanlar gösterilmiştir. Bunlar her iki antiteninde birbirinden gelişebildiğine delildir. Stryker ve arkadaşları tarafından 1988 yılında yayınlanan çalışmanın sonucuna göre en uzun süre ile takip edilen kolon polipoid adenomalı hasta serisinde 226 hasta 12-229 ay kadar Baryumlu grafler ile izlenmiş ve sonunda poliplerin %37 sinde büyüme olduğu ve çıkarılanlarında 21 tanesinde kanser gelişmiş olduğu bildirildi(156). Kanser görülme riski 10 yılda %8 ve 20 yılda da %24 olarak bildirilmiştir. Dahada önemlisi poliplerin rezeksiyonunun tedavi edici olma olasılığının tartışmalı olduğudur. Zira adenoma karsinoma yolağı kırılmamaktadır (8).

Herediter ve sporadik kanser arasındaki bağlantı: Adenoma karsinoma döngüsünün karşısında olan herhangi bir hipotez de tam olarak yoktur. Bazı yazarlar de novo gelişimini göstermektedir. Burada bile kanser gelişiminde flat adenoma bir kaynak olarak görülmektedir. Gelişim evresi de hemen aynı olarak karşımıza gelir (147-111). KRK gelişiminde olaya katılan genler aşağıda sıralanmıştır.(Tablo 2)

GENLER	ETKİLENEN KROMOZOMAL BÖLGE	SENDROM	PROTEİN FONKSİYONU
APC	5q21	FAP	Hücre adezyonu, apoptozis, c-myc nin önlenmesi
hMSH2	2p16	HNPCC	DNA'nın uygun olmayan tamiri
hMLH1	3p21		
hPMS1	2q31		
hPMS2	7p22		
hMSH6	2p16		
PTEN	10q23	Familial juvenil polipozis	Tirozin fosforilaz homoloji
SMAD 4	18q21	Familial juvenil polipozis	TGF-beta'nın sinyal yolağında sitoplazmik mediatör
LKB1	19p13	Peutz-Jeghers Sendromu	Serine treonin kinaz
P53	17p13	Tümör süpresör	Hücre siklus kontrolü, DNA hasarının tamiri, apoptozis
DCC	18q21	Tümör süpresör	Hücre adezyonu
MCC	5q21	Tümör süpresör	Bilinmiyor
K-ras	12p	Onkogen	GTP bağlayıcı protein
N-ras	1p		Sinyal iletimi
H-ras	11p		
c-myc	8q24	Onkogen	DNA sentezi, apoptoz
RII		Tümör süpresör	TGF-beta reseptör gen, intestinal hücre inhibisyonu, apoptozis
IGFIR	6q26	Tümör süpresör	TGF-beta'ya bağlar ve TGF beta'nın IGF2 ye degradasyonu aktifleştirir
BCL2		Tümör süpresör	Apoptozis
BAX		Tümör süpresör	Apoptozis (BCL2 gen ailesinin üyesi)
RB1	13q14	Tümör süpresör	Transkripsiyon faktörü
NM23	17q22	Tümör süpresör	NDP kinaz aktivitesi

Tablo 2: Kolorektal karsinogenezde etkide bulunan genler

Karsinogenez teorileri:

Çok basamaklı model

1950 lerde epidemiyolojik çalışmalar çok basamaklı yolağı tanımlamıştır. Nowell (121) seçilmiş subklonlardan kaynaklanan karsinogenetik yolağın basamaklarını ilk kez tanımladı. Genetik hasar rastgele mutasyonlara neden olmaktadır. Bu mutasyonlar çevresel ve kimyasal maddelerle karşı karşıya kalma gibi etkiler ile bir klon içindeki hücreyi etkileyerek ileri derecelerde artışına neden oluyordu. Selüler proliferasyonu artıran bu değişiklikler altklonların oluşmasına neden olmaktadır. Bu durumda komşu hücrelerin harcanımını arttırmaktaydı. Hücresel düzeyde görülen doğal seleksiyon bu altklonlarında daha altklonlarını oluşturmaktaydı. Sonuçta bir çok mutasyon bölünmüş olan bu hücre kütlesinin içinde bol olarak karşılaşılmaktaydı. Bütün bu gelişmelerin kansere gidişi meydana getirdiğini Nowell ve Bodmer ile Bishop çalışmalarında (120) ortaya koydu. Klonal teori kanser lezyonuna yakın bölgedeki adenomatoz doku için tanımlanmıştır.

Genetik instabilite ve dönüştürücü fenotip:

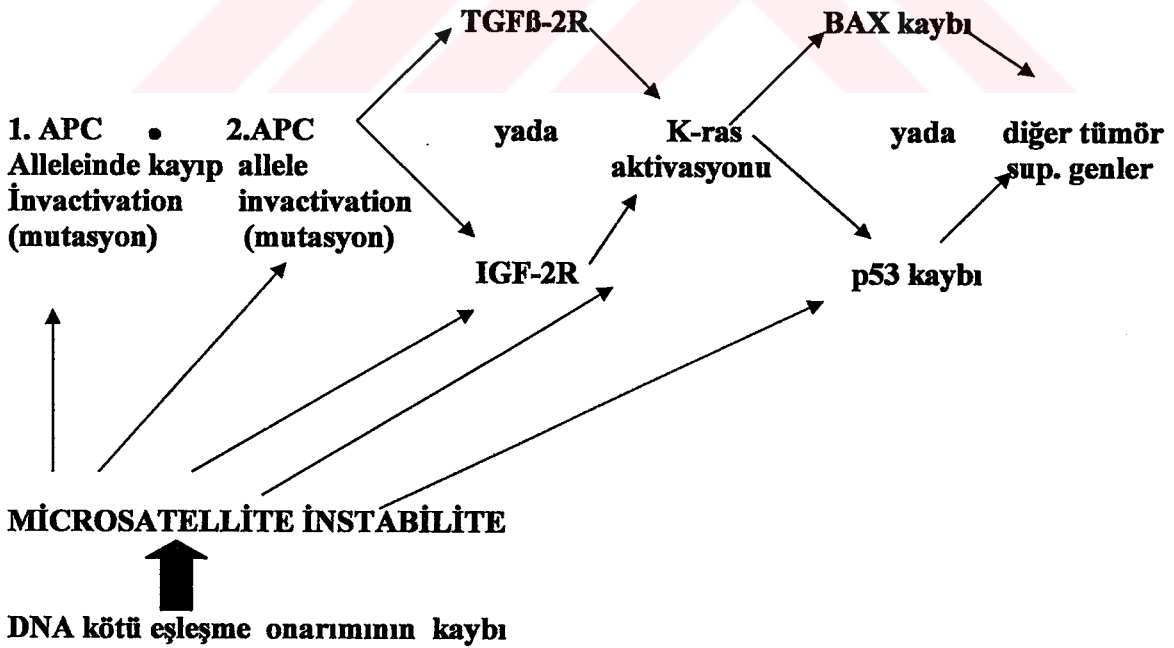
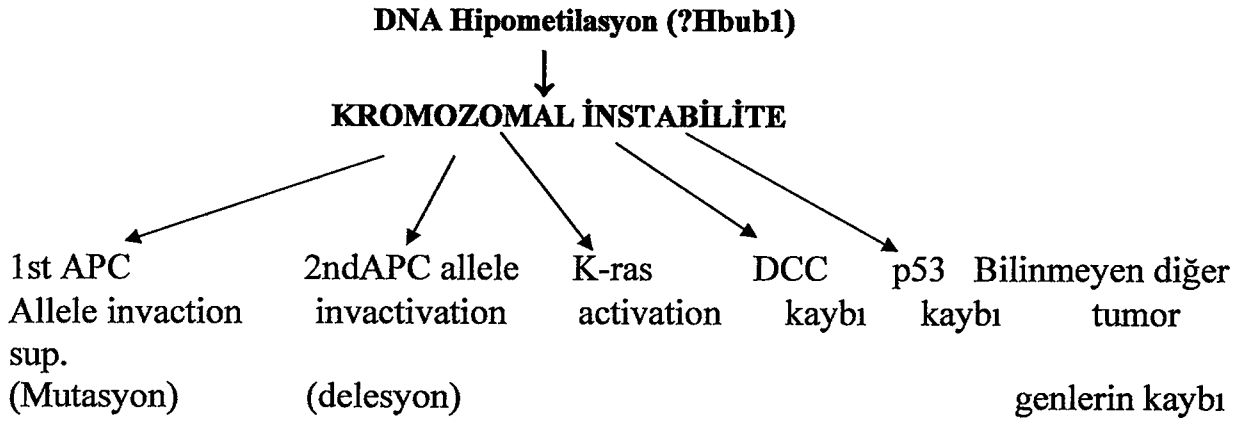
Loeb (95) dönüştürücü fenotipe neden olan genetik instabilite, çok basamaklı karsinogenezin altta yatan nedeni olması gerekliliğinden bahsetmişti. Altta yatan doğal olarak meydana gelen mutasyonların kanser gelişimine neden olduğu bilinse de Loeb bu döngünün yeterince büyük hücresel artış meydana getirmek için çok yavaş olduğundan da bahsetmişti. Bu düşüncenin doğal sonucu olarak çok basamaklı yolaktan önce bu mutasyonların olması gerekliliği ortaya atıldı. Loeb ve arkadaşları 1974 te yaptıkları bir çalışmada malign değişimin DNA replikasyonundaki hatadan kaynaklandığını zaten bildirmişlerdi (96). Genomdaki instabilitenin başlıca iki yolda olmaktadır: ya tüm kromozomu etkileyen yada DNA da devamlı tekrar eden kısa bir segmenti (ki bunlara mikrosatellite denilmektedir) etkileyen, bu değişici fenotip sporadik kanser oluşumunda karsinogenezisin hem klasik hemde mikrosatellite instabilite yolunu destekler görülmektedir. (Tablo-3)

Kromozomal instabilite:

Bir çok tümör kromozomal anormallikler göstermektedir. Bunlardan en sık olanları anöploidi (anormal kromozom sayısı) veya kromozom segmentlerinin kaybıdır. Bu tip instabilitede hücre bölünmesi sırasında kromozomda kopma ile meydana gelmekte ve sonuçta tam bir kromozom kazanılmakta veya kaybedilmektedir.(175). Kontrol mekanizması tam olarak bilinmese de DNA hipometilasyonu kabul edilmektedir. Bu değişimden bir adet mutatan mitoz değiştirici gen hBUB1 sorumlu olarak rapor edilmiştir (20). Kromozomun hepsinin veya bir kısmının kaybı tümör süpresör genin ikinci allelini inaktive etmekte ve olasılıkla kromozomal bozukluk karsinogeneizde direkt rol almaktadır (162).

Mikrosatellite instabilitesi (MSI):

Mikrosatellit DNA'nın tekrar eden küçük parçasıdır. Sıklıkla sitozin ve adenin veya dinükleotid yada CA tekrarlarından oluşmaktadır. Tüm genom alanında dağılmış olarak yaygındır. Tam fonksiyonu bilinmemekle beraber genetikçiler tarafından sık kullanılan ve yüksek dereceli polimorfizmi PCR ile kolay identifiye edilen bir elemandır. Herediter hastalıklarda kromozom segmentlerinin takip edilmesi (linkage) için ve tümörlerde segmentlerin delesyonlarını (heterozigositenin kaybı: LOH=loss of heterozygosity) araştırmak için kullanılmaktadır. Normal şartlar altında tekrar eden bu parçalar oldukça sağlam olarak bulunmaktadır. Öyleki kalıtsal hastalıklar araştırılırken bu parçalar bir jenerasyondan öbürüne aranmaktadır. Tümör örneğinde ise sıklıkla yapısal alellerden iki bazın toplanması ile oluşan yeni bir alelin görünümü "mikrosatellite instabilite olarak" (MSI) bilinmektedir.ve bu durum normal replikasyon sırasında DNA polimeraz enziminin kaymasından kaynaklanmaktadır. Ama tümör hücresindeki anormallik bu dağınıklık (veya kaymış durum) değil hücrenin uygunsuzluğu tanıma ve düzeltmedeki yetersizliğidir. Bu durum en iyi HNPCC de gösterilmiştir.(Tablo 3)



Tablo-3 Kolorektal karsinogenezin Muhtemel çoklu basamak yolları. Sporadik Kanselerde MSI.

**Tablo-3 Kolorektal karsinogenezin Muhtemel çoklu basamak yolakları.
Sporadik Kanserlerde MSI.**

Tümör süpresör hipotezine göre bu tümörler HNPCC de olduğu gibi ya ikincil mutasyonla birlikte ve kalıtsal olan MMR (mismatch reaction) gen mutasyonu ile veya MMR geninin her iki kopyasının somatik mutasyonu veya delesyonu ile görülebilir. Aile hikayesi olmadan MSI + tümör gelişen vakalarda DNA analizleri germline MMR insidensinin çok düşük olduğunu göstermiştir (146-99). Bu durumda böyle gelişen kanserleri sporadik olarak tanımamıza neden olmaktadır. Daha enterasan olan ise MSI gösteren tümörlerdeki MMR genlerinde somatik mutasyonun açık olarak görülmemesidir. Ayrıca MMR genlerinin bu tür vakalarda MSI fenotipine karıştığı da açık olarak ortaya konmuştur. Çünkü hem hMSH' ve hemde hMLH1 yokluğu yüksek oranda görülmektedir.

Klasik yolak:

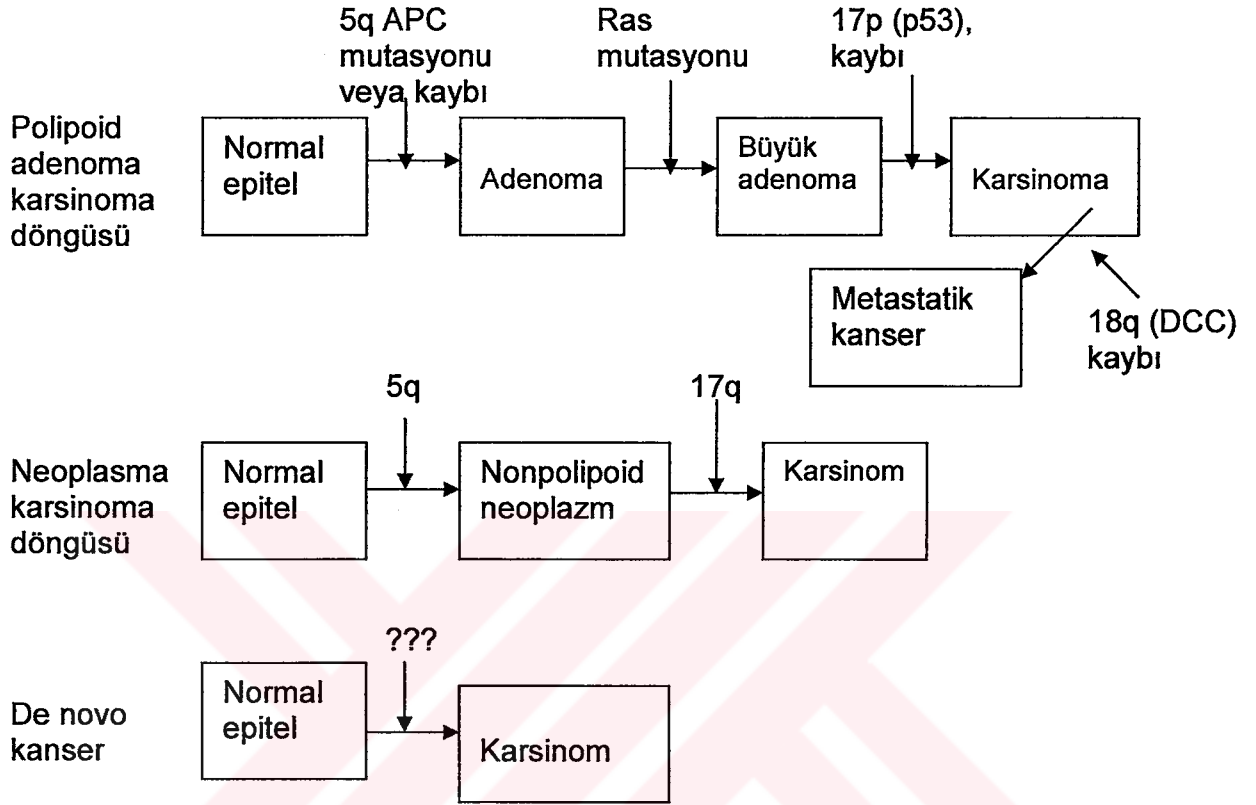
Vogelstein ilk kez bunun hakkında detaylı olarak çalıştı. Ama bu döngüde hem epidemiyolojik hemde histolojik kanıtlar bulunmaktadır.

Epidemiyolojik kanıtlar dan, kolon polipleri ve kanseri arasında insidens ve lokalizasyon arasında ciddi ilişki vardır. Gelişmiş ülkelerde daha yaygındır ve sol kolonda daha sık olarak görülmektedir.

Histolojik kanıtlar ise kolon kanserinin adenomatöz dokuya oldukça yakın olarak bulunmasıdır. FAP de olduğu gibi adenomatoz olan binlerce polip eğer ortadan kaldırılmaz isemutlaka kanser gelişmektedir. (Tablo:4)

Özellik	Klasik yolak	MSI yoluğı
Sıklık	%85	%15
Genomik instabilite	Kromozomal	Mikrosatellit
Ploidi	Anöploidi	Diploid
LOH	Sık	Nadir
Genlerdeki mutasyon	Nokta mutasyon, delesyon, insersiyon	Tekrar eden alanların insersiyonu veya delesyonu
Tumor lokalizasyonu	%66 sol kolonda	%80-90 sağ kolon
Yaş	Yaşlı	Genç veya muhtemel çok yaşlı
Prognoz	Kötü	İyi

Tablo 4: Sporadik KRK lerin oluşumunda rol alan her iki yolak arasındaki fark



Tablo 5: Adenoma - Karsinoma dönüşümü

Vogelsteinin teorisinde ise bir çok gen mutant olarak veya delesyona uğramış olarak bu kaskadın bir yerinden olaya katkıda bulunmaktadır. Vogelstein ve ark. K-ras mutasyonunu 5q (APC yönü) kromozom delesyonunu, 17p(p53 yönü) delesyonunu ve 18q (DCC ve yeni bulunan SMAD4 yönü) kromozomunda yine bulunan delesyonu açısından değerlendirmişlerdir. APC delesyonunu adenomalarda %30 oranında tespit etmelerinin yanında 17p ve 18q delesyonunu küçük adenomalarda nadir olarak tespit ederken adenomalarda ve in situ karsinomalarda delesyon oranının arttığını bildirdiler. K-ras sıklığı ise displazi durumunda ve adenomaların çapının artmasıyla sıklığının arttığını bildirdiler. Ama invaziv kanserlerde artışında daha fazlalaşma tespit edilmediğini bildirdiler. Bu sonuç her genin adenoma karsinoma dönüşümünün belirli noktalarında rol aldığını ortaya koydu. Örneğin 5q kaybı adenoma formasyonu için gereklidir. K-ras mutasyonu progresyon için ve 17p ile 18q delesyonlarında invazyonu için gereklidir. Bu teoriyle onkogenlerdeki sonradan meydana gelen değişikliklerin ne

derecede önemli olduğu ortaya konuldu(Tablo 5) (99-40-36).

APC nin kritik rolü:

Adenoma oluşumunda esas rolü almaktadır. Klasik ve MSI yolaklarında da önmeli rolü vardır. FAP de önemi ise karpeting halinde polipozisi olanlarda ki bu durumu oluşturan germline mutasyondur. APC fonksiyonu mutasyonla beraber yok olduğu zaman poliplerde kanserleşme potansiyeli meydana çıkmaktadır. Bu nedenle APC geni “gatekeeper” olarak adlandırılır. Bu durum yalnızca colon ve rectum organları için geçerlidir (14).

Çok basamaklı model ile MSI etmeni ile oluşmuş tümörler arası ilişki;

İki yolak arasında üst üste geçmiş mekanizmalar bulunmaktadır. Klasik kolorektal karsinogenezisi ile bir çok aynı gen (APC, K-ras, p53,) MSI+tümör vakalarında sorumlu olarak bildirilmektedirler. Bazı ilave tümör süpressör gende önemli derecede değişikliklerin de ilişkisinin olduğuda bilinmektedir (26)

Başlama basamağı; APC adenomanın başlangıç formunda önemlidir. APC mutasyonu MSI- tümörlerde görünenden farklıdır. Onlarda ise sıklıkla tekrar eden poliadenin traktının mutasyonu oldukça sıktır. Bu bölgede MMR da sayısal olarak azdır. BU durum göstermektedir ki mutator fenotip APC mutasyonundan önce oluşmalıdır. Böylece yolağın ilk adımı olasılıkla MMR nin inaktivasyonu ve takiben “gatekeeper” APC geninin mutasyonu olacaktır (61).

Onkogen ve tümör süpresörler; K-ras, APC, p53 MSI+ tümörler de daha az sıklıkla görülmektedir. Fakat klasik yolla oluşan tümörlerde ise daha sıktırlar. Ayrıca tümör süpressör genler içinde LOH sıklığı MSI+ tümörlerde oldukça nadirdir. MSI+ tümörlerde karsinogenezis yolağında diğer genlerle de ilişkiler görülmektedir. Bunlardan en bilineni ve sık gözlenenini de RII genidir ki Transforming Growth Factor Beta2 (TGF-B2) yi kodlamaktadır. Bu gen biraz özeldir. Zira barsak epitelinde apoptozis indüksiyonu yaparak hücre büyümesini inhibe etmektedir. Aynı zamanda içerisinde içerdiği (A)10 traktı MMR defektli hücrelerde mutasyondan sorumlu olduğu düşünülmektedir. MSI ile olan tümörlerde %80-90 mutant RII poly(A) traktı bulunmaktadır. Ki bu trakt kodon sentezi sırasında kodonu prematür olarak kesmektedir. Bir diğer gen ise insülin like growth factor II receptor (IGF-2r) aynı yolla mutant ve daha az sıklıkla ve tüm RII mutasyonu görülen tümörlerde olmamak kaydı ile bulunur.

Nihayetinde bu büyüme önleyici genlerin biri veya ikisi MSI karsinogenezinde rol almaktadır. Bir başka gen de BAX (G)8 traktını içeren gen dir. Ortalama olarak MSI + tümörlerde %50 mutant olarak bulunur. BAX p 53 ile interaksiyona girmektedir ve normal hücrelerde apoptozisi düzenler. Ve MSI+ tümörlerde mutasyonu MSI –lerde p53 delesyonunun karşılığı olabilir (36).

Kolorektal kanserogeneziste işe karışan genlere topluca bakacak olur isek karsinogenezde kansere neden olan genlerde çoklu mutasyonlar tespit edilmektedir. Sıklıkla mutant olan bu genlerde anahtar olabilecek hücrel aktivite kontrol etmektedirler. Böyle çoklu hücrel yolların tutulması da kanserin neden tedavi edilmesi zor bir hastalık olduğunu anlatmaktadır. Kolorektal karsinogenez iki ana yoldan gider. Bunlar ya kromozomal instabilite (CIN)veya mikrosatelitlerin instabilitesidir (MSI). CIN yolağında mutasyonu görülen tümör süpressör genler APC, p53,ve DCC(deleted colorectal cancer gene) dir. Ayrıca protoonkogen olarak bulunan Ras da olaya katılır. Yukarıda da belirtildiği gibi kolon kanserinin büyük kısmı bu yolla karsinogenezin geliştiği bir yolağı izlemektedir. Bu gelişimde APC geni gatekeeper olarak rol almaktadır. MSI da ise ana neden mikrosatelitlerin replikasyon hatasıdır. Mutasyon DNA bozukluğunu tamir edecek genlerde (MMR) mutasyon bulunmaktadır. Yukarıda belirtilenlerden başka MSI yolağında DNA hata tamir genleri olan hMSH3 ve hMSH6 mutasyonu da görülmektedir.

PATOLOJİ ve EVRELENDİRME:

Kolon kanserlerinin %95'i, rektum kanserlerinin %85'i adenokarsinomadır. Bu kanserlerin %10-15'i müsin salgılar ve prognozları daha kötüdür. Adenokanserlerin %20'si iyi diferansiye (Grade I), %60'ı orta derecede diferansiye (Grade II), %20'si ise kötü diferansiye (Grade III)'dir. Kötü diferansiye olanlar erken metastaz yaparlar (101-27).

WHO sınıflamasına göre kalın barsakta malign epitelial tümörler aşağıdaki sınıflarda incelenmektedir(Tablo-6);

Tablo-6: Epitelyal Kolorektal Kanserler

- Adenokarsinoma
- Mucinöz adenokarsinoma
- Taşlı yüzük hücreli karsinoma
- Skvamoz hücreli karsinoma
- Adenoskuamoz karsinoma
- Küçük hücreli karsinoma
- İndiferansiye karsinom

Kolorektal kanserin predominant tipi de adenokarsinomadır. Adenokarsinomada gradeleme sistemine göre sınıflandırılarak değerlendirilmektedir. Bu sınıflama sistemi diferansiasyon derecesine, glandüler-tübüler formasyona ve sitolojik karakteristiklere göre yapılmaktadır. Kolorektal kanserler makroskopik olarak polipoid, ülseratif, annüler tip ve linitis plastika olmak üzere dört grupta sınıflandırılır:

1 -Polipoid tip:

Lümen içine doğru büyüyen karnıbahar görünümlü tümörler olup daha çok çekum ve rektumda görülür. Bunların çoğu iyi diferansiye adenokarsinomalardır. Lümeni annüler tarzda sarma eğilimi olmadığından genelde intestinal obstrüksiyon yapmazlar. Sıklıkla kanamaya neden olurlar (144).

2-Ülseratif tip:

Nekrotik bir taban ve etrafında kabarık bir kenardan oluşan tipik malign ülser görünümü vardır. Daha çok çekum kanserlerinde görülür (144).

3-Annüler tip:

Barsak duvarını çepeçevre saran ve intestinal obstrüksiyona neden olan tümörlerdir. Oldukça yavaş gelişim gösterirler ve metastaz eğilimleri yüksektir. Daha çok inen kolon ve sigmoid kolonda görülürler (144).

4-Linitis plastika:

Kolon duvarının geniş bir bölümünde duvar kalınlaşması oluşturan tümörlerdir.

Sıklıkla lümen daralmasına sebep olurlar (39).

Rektum kanserleri patolojik olarak ilk kez 1932'de Duker tarafından evrelendirilmiş, daha sonra bu kolon kanserlerine de uygulanmıştır (32). Kolorektal kanserlerin tedavilerinin düzenlenmesi ve prognozlarının belirlenmesi amacıyla histoloji, makroskopi, uzak ve yakın metastaz kriterleri dikkate alınarak bazı evrelendirmeler yapılmıştır. Bunların en önemlileri Duker, Astler-Coller (Şekil-7) ve America Joint Committee (AJCC)'nin TNM sınıflaması'dır (Tablo-7) (144-37).

Tablo-7: (AJCC)TNM Sınıflandırması:

<u>Primer Tümör (T)</u>	<u>Bölgesel Lenf Nodu (N):</u>
Tx- Primer tümör bilinmeyen	Nx- Lenf nodu bilinmeyen.
To- Primer tümör olmayan.	No- Lenf nodu metastazı olmayan
Tis- İn situ karsinom.	N1- Perikolik veya perirektal 1-3 lenf nodu metastazı.
T1- Tümör mukoza ve submukozadadır	N2-Perikolik veya perirektal 2-4 lenf
T2- Tümör muskularis propriadadır	N3- Damar boyunca lenf nodu metastazı
T3- Tümör tüm barsak duvarını tutmuştur	Nodu metastazı(2002 yılında yapılan toplantıda alınan kararla N3 kaldırıldı).
T4- Tümör serozayı aşmış çevre dokuları tutmuştur	

Uzak Metastaz (M):

- Mx- Uzak metastazı bilinmeyen.
Mo- Uzak metastazı olmayan.
M1- Uzak metastazı olan.

<u>Evre</u>		<u>TNM</u>
0	İn situ karsinom	TisN0M0
I	Muskularis propriaya kadar yayılım	T1,T2 N0 M0
II	Tüm barsak duvarı tutulumu	T3,T4 N0 M0
III	Lenf nodu metastazı	T N1,N2,N3M0
IV	Uzak metastaz varlığı	TNM1

Astler-Coller Sınıflandırması

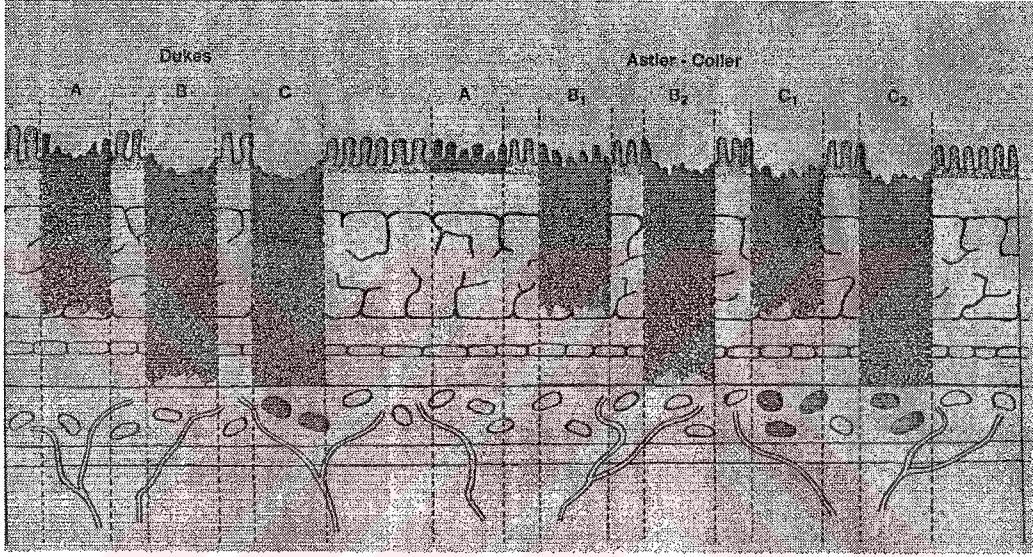
Dukes sınıflamasının modifikasyonu ile yapılmıştır.

A: Mukozada sınırlı tümör.

B1: Lenf nodu metastazı olmadan muskularis propriaya kadar tümör tutulumu.

B2: Lenf nodu metastazı olmadan muskularis propriayı invaze eden tümör.

C1: Tüm barsak duvarı tutulumu ile beraber lenf nodu metastazı.



C2: Barsak duvarını aşmış tümör ile beraber lenf nodu metastazı.

D : Uzak organ metastazı.

Şekil 3: Dukes ve Astler Coller Sınıflamalarının Şematik Şekli

Literatürdeki değişik çalışmalarda ortalama olarak kolorektal kanserlerin %15'i Dukes A, %35' i Dukes B, %50' si Dukes C evresindedir.

Hacettepe Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada olguların %32.3'ü D evresinde çok az bir kısmı (%1.3) A evresinde bulunmuştur. Terrazas ve arkadaşlarının çalışmasında ise bu oran evre A'da %1.3, evre B'de %41.3, evre C'de %22.6, evre D'de %32.3 olarak saptanmıştır (144).

TÜMÖRÜN YAYILMA YOLLARI:

- 1-Direkt yayılım
- 2-Lenfatik yayılım
- 3-Hematojen yayılım
- 4-Intramural yayılım
- 5-Transperitoneal implantasyon ile yayılım gösterirler.

Direkt yayılımda, tümör barsak duvarına ve komşu organlara invazyon gösterir. Barsak duvarında distale doğru yayılım çok azdır. Makroskopik olarak tümör sınırının bittiği distalde 5 cm.'ye kadar tümör yayılımı olabileceğinin bilinmesi cerrahi yönden önem taşır (101-27-145).

Yakın zamana kadar klasik kaynaklar kanser nüksünün önlenmesi için barsağın tümörden 5 cm. distalden rezekte edilmesi gerektiğini savunmuşlardır. Son yayınlarda distalde mikroskopik yayılımın daha az olduğu, bu nedenle tümör sınırından itibaren 2-2,5 cm'lik distal rezeksiyonun yeterli olacağı bildirilmektedir. Bu konu özellikle rektum tümörlerinde sfinkter koruyucu operasyonların tercih edilmesinde önem kazanmaktadır (80).

Lenfatik yayılım, kolorektal kanserlerde en sık görülen yayılım şeklidir. Tüm barsak duvarını invaze etmiş tümörlerin yaklaşık yarısında lenfatik yayılım tespit edilmiştir. Rektum kanserlerinde lenfatik yayılım genelde yukarı doğrudur. Inguinal lenf nodlarına yayılım, daha çok linea dentatayı geçen alt rektum kanserlerinde görülür (19). Kolorektal kanserlerin hematojen yolla en çok yayıldıkları organ karaciğerdir (%60), sonra akciğer (%50), kemik (%15), periton (%15) ve beyin metastazları sık görülür.

Operasyon esnasında kitlenin manipasyonu ile tümör hücrelerinin venöz sisteme geçebilecekleri ileri sürülmektedir. Bunu önlemek için önce rezekte edilecek kısmın mezenterik venlerin bağlanması ve "no-touch" tekniği ile rezeksiyon yapılması önerilmektedir. Tümör hücrelerinin intraperitoneal kaviteye deskuame olması kolorektal kanserlerde peritonitis karsinomatozaya neden olmaktadır (144).

HASTALAR VE METOD

Bu çalışma, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Genel Cerrahi Servisi'nde Kasım 1997 ve Haziran 2003 tarihleri arasında KRK tanısı konulan ve cerrahi tedavi yapılan 98 hasta arasında retrospektif olarak planlanıp çalışıldı. Olgu verileri, hasta kayıt dosyalarından elde edildi.

Hastalar yaş, cins, tümör lokalizasyonu, diferansiasyon derecesi ve evresine göre sınıflandırıldı. (Tablo 8)

CİNSİYET	n
ERKEK	46
BAYAN	52
YAŞ	
<60 YAŞ	32
>60 YAŞ	66
TM. LOKALİZASYONU	
KOLON	75
REKTUM	23
DİFERANSİASYON	
İYİ VE ORTA	88
AZ VE MÜSİNÖZ A.CA	10
EVRESİ (ASTLER-COLLER)	
A	0
B1	9
B2	53
C1	9
C2	21
D	6

Tablo 8: Hastaların yaş, cins, tümör lokalizasyonu, diferansiasyon derecesi ve evresine göre dağılımı.

Bu hastaların hiç biri neoadjuvan kemoterapi almamıştı. 98 adet parafin blokta sabitlenmiş kolorektal tümör kesitlerinin 23 tanesi rektumda 75 adedi de tüm kolonda yerleşmiş olarak tespit edildi. Kolorektal kanserlerin 21 tanesi çekum ve sağ kolon, 18 tanesi transvers kolon, 35 tanesi sigmoid kolon , 23 tanesi ise rektum yerleşimliydi. (Tablo 9)

TÜMÖR LOKALİZASYONU

	TÜM OLGULAR	%
ÇEKUM VE SAĞ KOLON	21	21.42
TRANSVERS KOLON	18	18.36
SİG. KOLON	35	35.71
REKTUM	23	23.46
TOPLAM	98	

Tablo 9: Tümörün kolondaki lokalizasyonuna göre dağılımı

Her bir vakaya ait histopatolojik preparat tekrar gözden geçirilerek, tanıların doğruluğu kontrol edildi ve Astler- Coller sınıflamasına göre postoperatif evrelendirildi. Bu 98 kolorektal kanserli hastaya ait tümörlerin parafin doku bloklarından 4 mikronluk 5 kesit hazırlandı. Bu kesitlerden biri hemotoksilen eozin ile boyanarak tümörün histolojik tip tayini yapıldı. Diğer kesitler P-53, Bcl-2, Nm23, c-erbB-2 proteini tespiti için immünohistokimyasal boyama (İHKB) yöntemlerine tabi tutuldu. Biz boyama setimizde **p53** için DAKO'nun Labelled Streptavidin Biotin 2 USA , **nm23** için K06175, DAKO, Carpinteria, CA, ABD, **bcl 2** için DAKO High Wycombe UK, **C erb B2** içinse Blogenex P-134 USA, kitini kullandık.

Onkoproteinlerin İmmünohistokimyasal Analizi

İmmünohistokimya, dokuda var olan bir takım proteinlerin çeşitli işaretleyiciler yardımıyla mikroskopik düzeyde görülebilir hale getirildiği bir yöntemdir. Bu yöntem frozen kesitler veya parafin kesitlerde kullanılabilir. Bu yöntemde esas, dokuda aranacak proteine karşı geliştirilmiş poliklonal veya monoklonal antikorların (işaretlenmiş) kullanılmasıdır. Dokuda özel proteine bağlanan antikorlar, bir antijen-antikor kompleksi oluşturmaktadır. Antijen-antikor reaksiyonu spesifik bir reaksiyon olduğu için doku elemanlarının (antijenlerin) çeşitli kromojenler (renkli madde öncüleri) sayesinde tanınması mümkün olur.

İmmünohistokimyasal Değerlendirme:

P53'ün varlığının İHKB sonucunda değerlendirilmesi: İHKB sonucunda, p53 proteini tespit edilen hücre nükleusları AEC (Amino ethyl Carbazol) kromojenine bağlı lacivert mor renkli boyandılar. P53 onkoprotein için immünreaktif pozitiflik 10X büyütme

alanında görülen tüm hücrelerin nükleusunda P53 ile nükleer boyanmanın %10dan fazla olması (+) olarak değerlendirildi.(127)

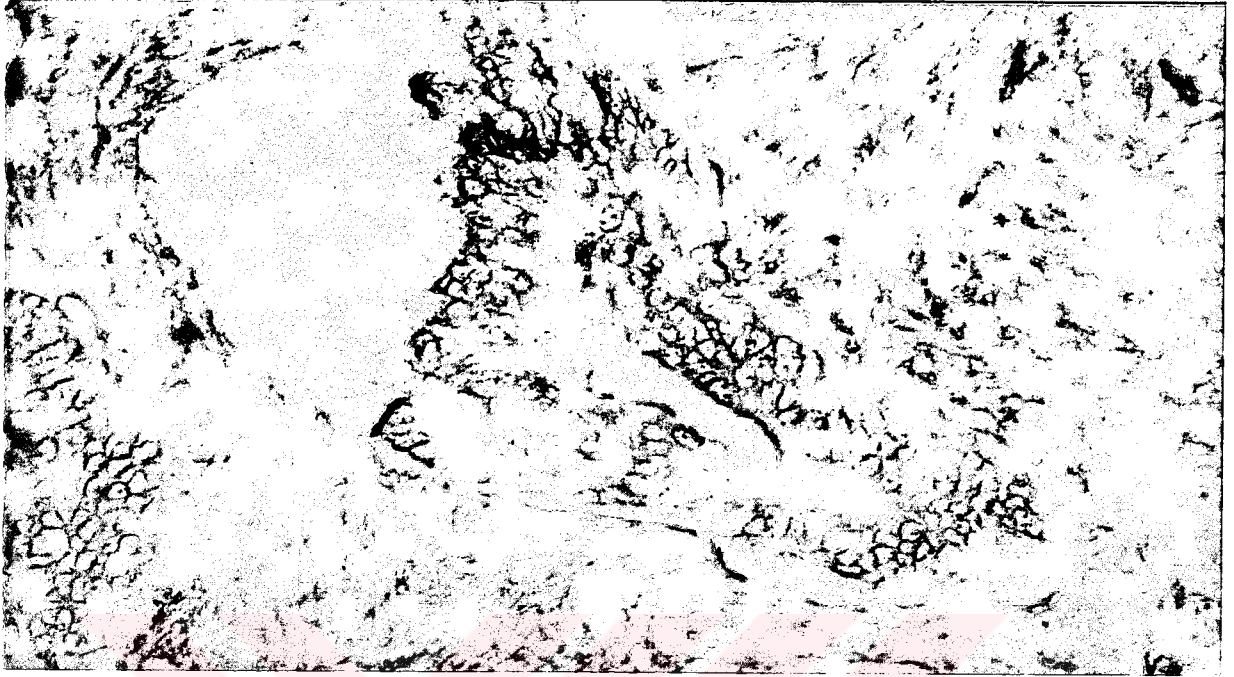
Nm-23'ün varlığının İHKB sonucunda değerlendirilmesi: İHKB sonucunda, nm-23 proteini tespit edilen hücrelerin sitoplazması yeşil renkli boyandı. Nm-23 onkoprotein için immünreaktif pozitiflik 10X büyütme alanında şiddeti dikkate alınmaksızın sitoplazmik boyanmanın olmasıyla belirlendi. Nm-23 ile sitoplazmik boyanma %10dan fazla ise(+) olarak değerlendirildi.(127-67)

Bcl-2'nin varlığının İHKB sonucunda değerlendirilmesi: İHKB sonucunda, bcl-2 proteini tespit edilen hücrelerin sitoplazması pembe-yeşil renkli boyandı. Bcl-2 onkoprotein için immünreaktif pozitiflik 10X büyütme alanında şiddeti dikkate alınmaksızın sitoplazmik boyanmanın olmasıyla belirlendi. Bcl-2 ile sitoplazmik boyanma %20dan fazla ise(+) olarak değerlendirildi. Tümör dokusuna ait kesitlerde internal kontrol olarak bcl-2 ile pozitif boyanmış lenfositler değerlendirildi.(47)

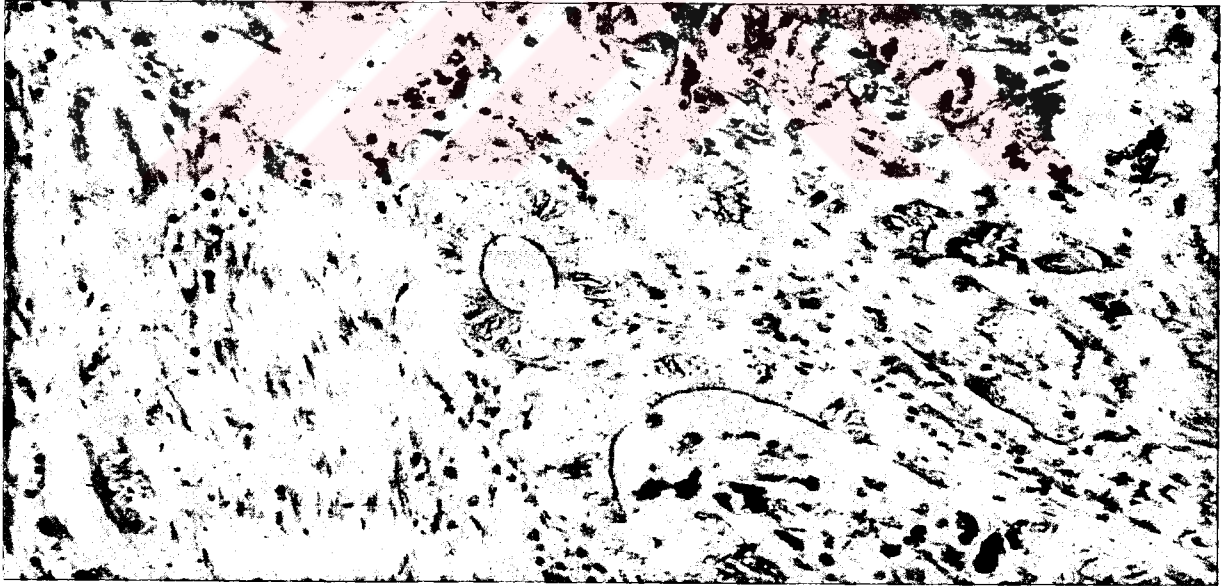
C-erb B-2 varlığının İHKB sonucunda değerlendirilmesi: İHKB sonucunda, c-erb B2 tespit edilen hücrelerin membranı kırmızı-yeşil renkli boyandı. C erb B-2 onkoprotein için immünreaktif pozitiflik 10X büyütme alanında şiddeti dikkate alınmaksızın hücre membranında boyanmanın olmasıyla belirlendi. C erb B-2 ile hücre membranındaki boyanma %20dan fazla ise(+) olarak değerlendirildi.

İstatistiksel analiz:

İstatistiksel analizler için tüm veriler bilgisayar ortamına aktarıldı. Verilerin değerlendirilmesi için StatsDirect(StatsDirect Limited, ver.:0) istatistiksel paket programı kullanıldı. Verilerin frekans dağılımları ve yüzdeleri hesaplandı. Tüm verilerin Niteliksel olmalarından dolayı gruplar arasındaki farklılıklar ' iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testi (Z testi) ' ile araştırıldı. Tüm istatistiksel karşılaştırmalar için yanılma düzeyi olarak alfa=0.05 seçildi. Bu değere eşit veya küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı , daha büyük değerler ise istatistiksel olarak anlamsız şeklinde yorumlandı.



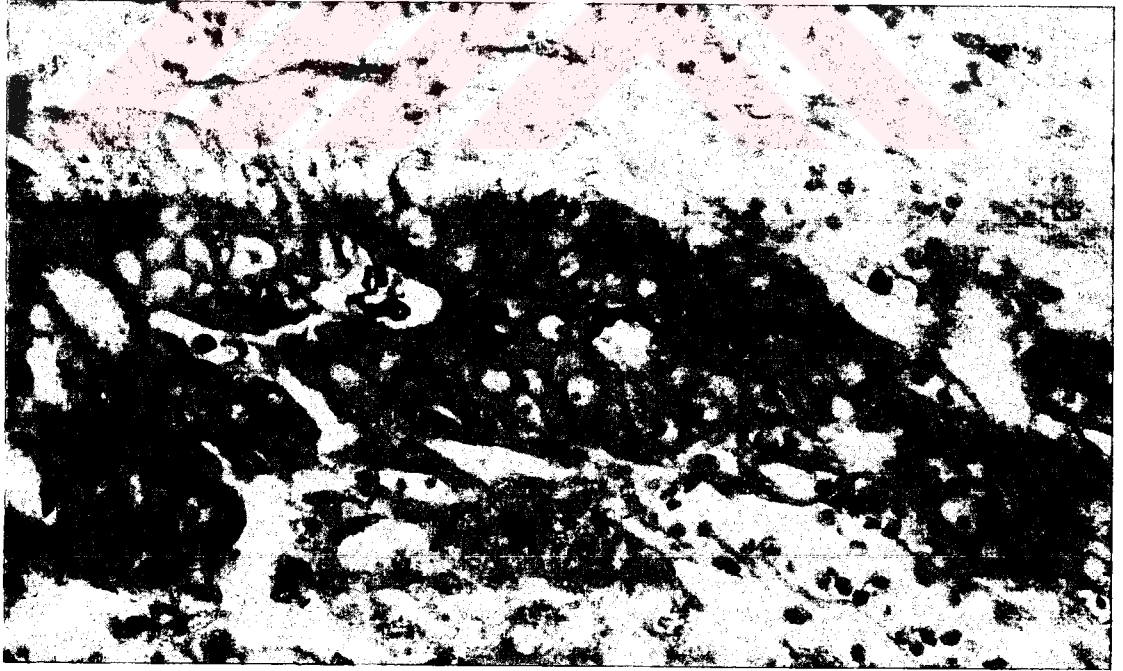
Şekil 4: DAKO'nun labelled streptavidin 2 boyasıyla p53(+) boyanmış hücre nukleusları görülmektedir.



Şekil 5: DAKO'nun K06175 boyasıyla nm23(+) boyanmış hücre sitoplazması görülmektedir.



Şekil 6: DAKO'nun High Wycombe boyasıyla bcl 2 (+) boyanmış hücre sitoplazması görülmektedir.



Şekil 7: BLOGENEX'in P134 boyasıyla C erb B2 (+) boyanmış hücre membranı görülmektedir.

BULGULAR

Olgularımızın 46'sı erkek ve 52'si kadın olup erkeklerin yaş ortalaması 57.9 kadınların yaş ortalaması 56.5 idi. (En genç hasta 28; en yaşlı hasta ise 94 yaşındaydı)

Tümör yerleşim yeri çekum ve çıkan kolon olan 15(%15), transvers kolon 18(%18), inen kolon ve sigmoid kolon 42(%43), rektum 23(%24) tane idi.

Olgularımızın 18'i (%19) iyi diferansiye, 70'i (%71) orta diferansiye, 10'u (%10) az diferansiye Adeno CA ve bunların 5 (%5) tanesi müsinöz Adeno CA idi.

Olgularımız postoperatif patolojik evrelemeye tabi tutuldular. Astler – Coller evreleme yöntemine göre olgularımızdan 9 (%9) tanesi Evre B1, 53 (%54) tanesi Evre B2, 9(%9) tanesi EvreC1, 21(%21) tanesi Evre C2, 6(%7) tanesi Evre D tümördü.

İHKB sonucunda tüm vakaların(98tane) 23 ünde(%24) p53 (+), 21inde(%21) nm23(+), 16sında (%16) bcl-2(+), 19(%19) unda c-erb B2(+)'liği tespit edildi.(Tablo10)

	P53	NM23	BCL-2	C ERB-B2
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
(+)	23 (24)	21 (21)	16 (16)	19 (19)
(-)	75 (76)	77 (79)	82 (84)	79 (81)

Tablo 10: Çalışmamızda (+) olarak tespit ettiğimiz vakalarımız

P53 erkek hastaların 11inde (%24) bayan hastalarinsa 12sinde(%23) (+) olarak tespit edildi. 60 yaşından küçük hastaların 7 sinde (%22) p53(+) iken 60 yaşından büyük hastaların 16 sında(%24) p53(+) idi. Yerleşim yeri kolon (çekum + çıkan kolon + transvers kolon + inen kolon+ sigmoid kolon) olan tümörlerin 8 inde (%11) , yerleşim yeri rektum olan tümörlerin ise 15 inde (%65) p53(+) olarak tespit edildi. Olgular diferansiasyonuna göre ayrıldığında iyi ve orta diferansiye 88 vakanın 16 sında (%18) , az diferansiye 10 adet vakanın 7 sinde (%70) p53(+)'liği tespit edildi. Astler-Coller sınıflamasına göre Evresi B1 ve B2 olan 62 vakanın 6(%10) sında p53 (+) iken; Evre C1-C2 ve Evre D 36 vakanın 17sinde(%47) p53(+)'di.(Tablo11)

Nm23 erkek hastaların 9inde (%20) bayan hastalarinsa 12sinde(%23) (+) tespit edildi. 60 yaşından küçük hastaların 10 unda (%31) nm23(+) iken 60 yaşından büyük hastaların 11 inde (%17) nm23(+) idi. Yerleşim yeri kolon (çekum + çıkan kolon + transvers kolon + inen kolon+ sigmoid kolon) olan tümörlerin 8 inde (%11) , yerleşim yeri rektum olan tümörlerin ise 13 inde (%57) nm23(+) olarak tespit edildi. Olgular diferansiasyonuna göre ayrıldığında iyi ve orta diferansiye 88 vakanın 12 sinde (%14) , az diferansiye 10 adet vakanın 9 unda (%90) nm23(+)liği tespit edildi. Astler-Coller sınıflamasına göre Evresi B1 ve B2 olan 62 vakanın 5(%8) inde nm23 (+) iken; Evre C1-C2 ve Evre D 36 vakanın 16 sında(%44) nm23(+).di. (Tablo11)

Bcl-2 erkek hastaların 6sında (%13) bayan hastalarinsa 10unda (%19) (+) tespit edildi. 60 yaşından küçük hastaların 7 sinde (%22) bcl-2(+) iken 60 yaşından büyük hastaların 9 sında(%14) bcl-2(+) idi. Yerleşim yeri kolon (çekum + çıkan kolon + transvers kolon + inen kolon+sigmoid kolon) olan tümörlerin 11 inde (%15) , yerleşim yeri rektum olan tümörlerin ise 5 inde (%22) bcl-2(+) olarak tespit edildi. Olgular diferansiasyonuna göre ayrıldığında iyi ve orta diferansiye 88 vakanın 14 ünde (%16) , az diferansiye 10 adet vakanın 2 sinde (%20) bcl-2 (+) liği tespit edildi. Astler-Coller sınıflamasına göre Evresi B1 ve B2 olan 62 vakanın 8 inde (%13) bcl-2 (+) iken; Evre C1-C2 ve Evre D 36 vakanın 8inde(%22)bcl2(+).di. (Tablo 11)

C erb B2 erkek hastaların 9unda (%20) bayan hastalarinsa 10unda (%19) (+) tespit edildi. 60 yaşından küçük hastaların 8 inde (%25) C erb B2(+) iken 60 yaşından büyük hastaların 11 inde (%17) C erb B2(+) idi. Yerleşim yeri kolon (çekum + çıkan kolon + transvers kolon + inen kolon+sigmoid kolon) olan tümörlerin 12 sinde (%16) , rektum olan tümörlerin ise 7 sinde (%30) C erb B2 (+) olarak tespit edildi. Olgular diferansiasyonuna göre ayrıldığında iyi ve orta diferansiye 88 vakanın 13 ünde (%15) , az diferansiye 10 adet vakanın 6 sında (%60) C erb B 2 (+) liği tespit edildi. Astler-Coller sınıflamasına göre Evresi B1 ve B2 olan 62 akanın 6 sında (%10) C erb B2 (+) iken; Evre C1-C2 ve Evre D 36 vakanın 10 unda (%36) C erb B2(+).di. (Tablo 11)

CİNSİYET	P53(+)	Nm-23(+)	Bcl-2(+)	C erb B2(+)
ERKEK (n=46)	11(%24)	9(%20)	6(%13)	9(%20)
BAYAN (n=52)	12(%23)	12(%23)	10(%19)	10(%19)
YAŞ				
<60 YAŞ (n=32)	7(%22)	10(%31)	7(%22)	8(%25)
>60 YAŞ (n=66)	16(%24)	11(%17)	9(%14)	11(%17)
LOKALİZASYON				
KOLON (n=75)	8(%11)	8(%11)	11(%15)	12(%16)
REKTUM (n=23)	15(%65)	13(%57)	5(%22)	7(%30)
DİFERANSİYASYON				
İYİ VE ORTA (n=88)	16(%18)	12(%14)	14(%16)	13(%15)
AZ VE MÜS.A.CA (n=10)	7(%70)	9(%90)	2(%20)	6(%60)
EVRESİ (ASTLER-COLLER)				
ERKEN EVRE B1+B2 (n=62)	6(%10)	5(%8)	8(%13)	6(%10)
GEÇ EVRE C1+C2+D (n=36)	17(%47)	16(%44)	8(%22)	13(%36)

Tablo 11: 4 protoonkogen ile hastaların; cinsiyet, yaş, tümör lokalizasyonu, diferansiyasyonu ve evresi bakımından karşılaştırılması.

98 adet KRKli hasta yukarıda belirtilen 4 protoonkogen ile cinsiyet, yaş, tümör lokalizasyonu, diferansiyasyonu ve evresi bakımından karşılaştırıldı. İki yüzde arasındaki farkın önemlilik testine göre ;

1) 4 adet protoonkogenin dağılımının kadın ve erkekler arasında farklılık göstermediği,

2) Yaş gruplarına göre yaptığımız inceleme sonucunda protoonkogen değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı,

3) Tümör lokalizasyonlarına göre yapılan inceleme sonucunda; C erb B2 ve bcl-2 onkoproteinlerinin herhangi bir lokalizasyon ile ilişkili olarak farklılık göstermediği, fakat diğer onkoproteinlerin lokalizasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği bulundu. Buna göre p53 ve nm23 onkoproteinlerinin özellikle rektumda yerleşen Adeno kanserler için kolonda yerleşenlere göre daha sık olarak eksprese edildiğini tespit ettik.

4) Tümör diferansiyasyonları ile dört onkoproteininin karşılaştırılması sonucunda yapılan incelemede bcl-2 hariç, p53, nm23, c erb B2 arasında istatistiki olarak önemli fark olduğu ortaya konuldu. Bu üç onkoproteinde az diferansiye ve müsinöz tümör

histolojik tipinde belirgin oranda daha fazla eksprese edilmektedir.

5) Bütün adenokanserler hem kolonda hem de rektumda Astler-Coller sınıflamasına göre evrelendirildi. Evreler arasında incelediğimiz onkoproteinler bakımından farklılıklar araştırdık. Bcl-2 onkoproteinini dışında diğer bütün onkoproteinlerin ileri evre adeno CA ile diğer evreler arasındaki farklılığını istatistiksel olarak anlamlı olduğunu tespit ettik. (Tablo12)

	İSTATİSTİKLER	P53	NM23	BCL-2	C-ERB B2
CİNSİYET	Z	0,098	0,423	0,827	0,042
	P	0,922	0,672	0,408	0,967
YAŞ	Z	0,259	1,65	1,035	0,979
	P	0,795	0,099	0,301	0,328
LOKALİZASYON	Z	5,4	4,689	1,408	1,531
	P	<0,0001	<0,0001	0,158	0,126
DİFERANSİYASYON	Z	3,663	5,577	1,757	3,428
	P	0,0002	<0,0001	0,159	0,0006
EVRE	Z	4,228	4,231	1,203	3,191
	P	<0,0001	<0,0001	0,229	0,001

Tablo12: Hastaların yaş, cins, tümör lokalizasyonu, diferansiyasyon derecesi ve evresine göre protoonkogen ekspresyonlarının istatistiksel dağılımı

Çalışma sonucunda incelediğimiz her 4 onkoproteininde yaş ve cinsiyetle karşılaştırıldığı zaman istatistiksel olarak anlamlı bir eğilim içerisinde bulmadık.

4 onkoprotein bcl-2 hariç ileri evre kanserlerde (Evre C1-C2-D) sıklıkla belirgin olduğu ve preoperatif net olarak evrelendirilemeyen KRKlerde ortaya konulmalarının hastalığın evresi ve prognozuna ait bilgi vereceğini düşünmekteyiz. Bu 3 onkoprotein (p53, nm23, C erbB2) tümörde ekspresyonunun KRK evrelemesi için kullanılabilir belirteç olabileceği kanısına vardık.

4 onkoprotein bcl-2 hariç; aynı zamanda kötü diferansiye adenokanserlerde ekspresyonunun hepsi için istatistiksel anlamlı olduğu ortaya konuldu buda yukarıda belirtilen ileri evre KRKlerde görüldüğü gibi tümörün progresivitesi ve hasta prognozu üzerine etki eden parametreler olarak kullanılabileceğini gösterdi.

C erb B2 ve bcl-2 protoonkogenlerini tümör lokalizasyonu ile ilgili olarak bir

eyilim içerisinde bulmadık. Fakat p53, nm23, protoonkogenleri daha belirgin olarak rektum kanserlerinde eksprese edildiler. Buradan çıkarılan sonuç p53, nm23'nin rektum kanserlerinde birer belirteç olarak kullanılabileceğini bize göstermektedir.

Sonuç olarak ileri evre rektum kanserlerinin agresifitesinin ve hastalığın prognozu hakkında p53 ve nm23'ün daha anlamlı sonuçlar verebilecek birer belirteç olabileceği kanısına vardık.

TARTIŞMA

20 yıldan fazla bir zamandır kolon rektum tümörleri için tümör sensitivitesini veya rezistansını ve rekürrens olasılığını ortaya koyacak klinik araştırmalar yapılmaktadır. Sonuçta bu çalışmaların klinik olarak karar vermede kullanılabilir olması kolay çabuk ve ucuzca çalışılmasıyla ilikilidir. Örneğin yeni ortaya konulan moleküler belirteçler içinde mikrosatellit instabilitenin gösterilmesi oldukça önem arz etmektedir. Fakat tüm laboratuvarlarda bu imkan olmayabilir. Bunun yerine tümörün metastazlarının agresifitesinin ve rekürrens olasılığının doğru bir şekilde ortaya konulması için daha kolay çalışılabilen ve ucuzca mal edilecek parametreler bulmak gerekli olmuştur. Biz göreceli olarak kolay çalışılan ve ucuzca temin edilebilen yukarıda bildirilen parametrelerden p53, nm23, bcl-2 ve c erb B2 onkoproteinlerinin prognoza etkisini kendi hasta serimizde araştırdık.

P53: İnsan kanser tiplerinde değişik mutasyon tipleriyle p53 ensik olarak karşımıza çıkan onkoproteindir. Kalıtsal olarak Li-Fraumeni sendromunda (meme kanser-yumuşak doku sarkomu-beyin tümörü-osteosarkoma-lösemi ve adrenokortikal sendrom) germ line olarak katılmaktadır. P53 17 p kromozomun 13. kodonunda yerleşmiştir. Mutasyon olmamış(wild tip) p53; transkripsiyonu ve hasara uğramış hücrelerin sentezinin G1 fazında durdurulmasını düzenler. Fearon ve arkadaşları kolorektal kanserlerin %75inde 17. kromozomun p kolunda LOH (Loss of heterozygoc) tipi kanserogenezis tespit etmişlerdir. Vogelstein 17p kaybının neoplastik progresyonda oldukça geç fazda karşılaştığını belirtmektedir. Klas 2 adenomalarda %6 görülürken ; klas 3 adenomalarda %75 oranında bu kaybın varlığından söz

etmektedir. 17 p kromozomunda kullanılan 20 belirteçlerden 17p 12, 17p13.3 lokalizasyonundaki kodonların kolorektal kanserlerde hep kaybolduğu bildirilmiştir. Daha öncedende yapılan haritalamada p53 geninin 17 p 13de yerleşmiş olduğu bilinmekteydi. KRK gelişimi üzerine yapılan çeşitli araştırmalarda; p53 genindeki değişikliğin sıklıkla geç evrede karşımıza çıktığı muhtemelen bu değişikliklerin kromozomal bir kayıp nedeniyle olduğuda bildirilmiştir. Mutant p53 proteini wild tip p53 fonksiyonunu inaktive etmektedir, böylece bir klondan gelişen hücreler kontrolsüz olarak büyümektedir. Bir allel üzerinde nokta mutasyonu görüldüğü zaman diğer allel çabucak kaybolur ve buda kromozomal kayıpla beraber p53 mutasyonunun sıklıkla beraber görülmesine neden olur. İlk çalışmalardan birinde 17. kromozomda delesyon olmayan kolorektal kanserli hastaların %17sinde metastaza bağlı ölüm görülmesine karşın bu kromozomun delesyon tipi mutasyonu görülen hastaların %49unda metastaz ve buna bağlı ölüm gösterilememiştir(30).

Laurent- Puig çalışmasında 17p delesyonu olmayan KRKlerde (%72) olanlara nazaran (%35) 5 yıllık survi oranının daha iyi olduğunu bulmuştur. Yapılan çok yönlü bir analizde survi üzerine etkili belirgin bağımsız predüktörün 17 p allelinin kaybı ve tümörün evresi olduğu ortaya konulmuştur. Priolo 70 hastalık Evre3 KRKli rezeksiyon ameliyatı geçirmiş hastalarında %61inin p53 mutasyonu gösterdiğini ortaya koymuştur. P53 mutasyonu tek başına azalmış survi ve 2,4 kat artmış ölüm riski ile beraber bildirilmiştir(30).

Nükleer p53 proteininin KRKlerde İmmünohistokimyasal olarak gösterilmesi hem (+) lenf nodu olan hastalarda hemde metastatik karaciğer lezyonu olan hastalarda azalmış survi ile beraberdir. Bu çalışmalar p53 değişikliklerinin KRK progresyonunda geç safhada olduğunu ve bağımsız olarak survi üzerine azaltıcı etki yaptığını ortaya koymaktadır.

Vogelstein'in kolorektalkarsinogenezi açıklamasını takiben aynı zamanda bir çok mutasyonun da bu progresyon içerisinde yer aldığı ortaya konulmuştur(158). Bu mutasyonlardan en çok rastlanılanı p53'ün kidir. P53 proteininin gösterilmesi p53 gen mutasyonu ile yakından alakalıdır. Orta dereceli displazilerde %7 civarında displazi kanser dönüşümünde ise yaklaşık %60 civarında hücrel belirginliği bulunmuştur.

Diez ve arkadaşlarının çalışmasında invazif KRKlerin distal bölümde yerleşenlerinde p53 belirginliğinin daha fazla olduğu bildirilmiştir.(%58 e karşı %41) aynı zamanda hastalısız yaşam p53 belirginliği olan vakalarda daha kısa olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmacılar p53 protein ekspresyonu olan ve distal yerleşimli, tümörlerde nüksün sık olduğunda ortaya koymuşlardır. Fakat Sauter yaptığı çalışmada tam tersini savunmuş ve p53(+) olan hastalarda sağ kalım süresinin uzun olduğunu bildirmiştir. (28-29)

Terry ve arkadaşlarının çalışmasında p53 belirginliği gösteren distal kolon poliplerinde sigara ve içki ile alakalı olarak kanser gelişiminde göreceli artış bildirmişlerdir. (103)

98 vakalık bizim serimizde p53 protein ekspresyonunu 23 vakada (%24) tespit ettik. Bu proteinin immünohistokimyasal olarak belirlenmesinde hastalar arasında yaş ve cinsiyete göre istatistiki olarak önemli bir fark tespit etmedik. İleri evre(Astler – Coller C1- C2-D) ve kötü diferansiye, müsinöz komponenti olan adenokanserlerde p53 immünohistokimyasal ekspresyonunu belirgin artmış olarak tespit ettik (z=4,228; p<0,0001; z=3,663; p=0,0002). Rektumda yerleşen adenokanserlerin p53 protein ekspresyonu kolonda yerleşenlere göre istatistiki olarak anlamlı yüksekti. (z=5,400, p<0,0001) Literatüre uygun olarak distal kolon(rektum) yerleşimli adenokanseri olan hastaların %65,2sinde p53 ekspresyonunu bulduk ve bunların çoğu ileri evre tümördü.

NM23: Zonghua çalışmasında 209 KRK.lu hastada nm23 ekspresyonunun ER ile korelasyon gösterdiğini ortaya koydu. Bunlar hasta yaşı, cinsi, tümör yerleşimi, patolojik ve histolojik tipiyle alakalı değildi. Nm23 ve/veya ER ile yüksek oranda ekspresyonun prognozu iyi yönde etkilediğini ortaya koydu. (179)

Çoğu yazar-araştırmacı (Martinez, Tannapfel, Yamaguchi, Wang) çalışmalarında nm23 H1 geni varlığının Metastatik tümörlerde az eksprese edildiğini bildirmişlerdir. Buna karşılık Hant ve arkadaşları Metastatik potansiyel ile nm23 ekspresyonu arasında bir ilişki bulamamışlardır. (38-128-173-168)

Heide 22 adet karaciğer metastazlı KRKli hastada yaptığı çalışmasında nm23H1'de bir mutasyon tespit etmediklerini bildirmişlerdir.(60)

Lindmark 202 vakalık bir çalışmasında nm23H1' in IHK boyması ile tümör stage'i arasında bir ilişki bulamadı.(91)

Lee'nin 146 hastalık çalışmasında nm23H1 protein ekspresyonunun, klinikopatolojik parametrelerle alakalı olmadığı, metastatik ve nonmetastatik KRK'lar arasındada nm23H1 ekspresyonunun farklı olmadığını ortaya kondu.(84)

Dursun ve arkadaşlarının çalışmasında iyi diferansiye adenoCA'lar belirgin kuvvetli nm23H1 ekspresyonu gösterirken; kötü orta diferansiye adenoCA'larda bu durum daha zayıf olarak bildirildi. Anjiolenfatik invazyon, nodal metastaz ve karaciğer metastazı arasında ters etki bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada nm23H1 protein ekspresyonu zayıf olan hastalarda tüm ve hastaliksız sağkalım süresinin kısa olduğunu ;zayıf nm23 H1 ekspresyonunda kötü prognozu gösterdiğini ortaya koydular, ve bu özellik ile tedavi planlanmasında da kullanışlı bir belirteç olabileceğini bildirdiler(34).

Bremer çalışmasında, lenfnodu / karaciğer Metastazları sırasıyla (-/-) / (+/-) / (-/+) / (+/+) olan 4 farklı grupta, nm23 H2 ekspresyonunun survi ile ilgili olmadığını fakat -/+ olan grupta nm23H2 ekspresyonunun en düşük olduğunu, ++ grubunda diğer gruplara oranla nm23H1 ekspresyonu daha fazla olduğunu ortaya koydular. Ve nm23 H1'in düşük ekspresyonunda surviyi orta derecelerde arttırdığını bildirdiler(14).

Martinezin çalışmasında TNM sınıflaması ile Stage 0-2 arası tümörlerde nm23H1ve H2 over ekspresyonu %89-81 iken, stage 3-4 tümörlerde bu oran %47-38 olarak ortaya kondu. Benzer oranlar nm23 H1 mRNA içinde bildirilmiştir. Sonuçta spesifik nm23H1 determinasyonunun prognostik faktör olarak KRK larda kullanılabilceği bildirdiler(128).

Tannapfel'in çalışmasında stage 2-3 100KRK'li hastada nm23H1 immünreaktivitesinin , %41inde zayıf, %24ünde orta, ve %35indedede kuvvetli pozitif olduğunu buldu. İleri evre tümörlerde (Stage2-3) (monoklonal ab.nin) nm23-H1 'e karşı pozitifliği , oldukça düşüktü. Nm23 H1 immünreaktivitesi düşük veya zayıf tümörlerde,

lenf nodu metastaz sıklığı oldukça yüksek olarak bulundu. Sonuçta tümörün ilk cerrahi tedavisinde nm23H1'in İHK olarak evaluasyonu, LN metastaz varlığını ve tümörün evresinin değerlendirilmesinde iyi bir predüktör olduğu bildirildi(38).

Mesinetti ve arkadaşları tarafından 41 nonmetastatik KRK çalışmaya alındı ve monoklonal ab. İle işaretlenmiş nm23H1 ve CD44V6 ya bakıldı. Nm23H1 %73 oranında ve CD44V6 ise %37 oranında tüm kolorektak kanserlilerde tespit edildi. Bu sonuç tümör evreleme farklılığı açısından anlamlıydı. Fakat nm23 H1 ve CD44V6 ile Duke's evresi, lokalizasyon, peritümöral lenfatik infiltrasyon, ve venöz infiltrasyon , perinöral infiltrasyon, tümör agresifitesi ve invazyonu ile arasında bir alaka tespit edilmedi.(109)

Dusonchet ise 160 hastalık çalışmasında klinikopatolojik parametreleri ve surviyi nm23H1 ekspresyonu ile karşılaştırdı. Nm23 H1 protein ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler arasında (S-faz fraksiyonu ve DNA ploidi) bir ilişki ortaya konamadı. Nm23 H1 ekspresyonu ve survi arasındada bir ilişki bulunamadı. Buna karşılık survi ve relaps üzerine non küratif rezeksiyon (tam olmayan rezeksiyon) ve lenfohemotik invazyon birer bağımsız değişken olarak bildirildi. Sonuçta nm23 H1 aktivitesinin dokuya spesifik olduğunu ve KRK'lerde ekspresyonunun tümör progresyonunu ve hasta prognozunu etkilemeyen bir bulgu olduğunu , fakat ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu bildirdiler.(33)

Nm23 H1 proteininin İHK olarak ekspresyonunu yine aynı serimizde araştırdık. Hastalarımızın yaş ve cinsiyeti ile ilişki tespit etmedik. 98 vakanın 21 inde (%21inde) nm23 H1 ekspresyonu tespit edebildik. Lokalizasyon itibariyle rektumda yerleşen tümörlerde nm23 H1 ekspresyonunu (%56) kolonda yerleşenlere oranla (%11) anlamlı yüksek olarak tespit ettik.(z= 4,689; p=<0,0001) Yine geç evre tümörlerde (z=4,231, p=<0,0001) ve kötü diferansiye, müsinöz tümörlerde nm23 ekspresyonunu istatistiki olarak anlamlı bulduk.(z=5,577; p=<0,0001) Literatürde bilgilerin tersi olarak özellikle rektumda yerleşmiş olan tümörlerin kötü diferansiye olanların hemen hepsinde ve geç evre adenokanserlerde ortaya çıkan bu sonucu, nm23 H1 aktivitesinin dokuya spesifik olarak ortaya çıktığı bilindiğinden ekspresyonunun tümör progresyonu açısından ortaya konulmasının ileri çalışmalarla

olacağını değerlendiriyoruz.

Bcl-2 :Berney ve arkadaşları çalışmalarında; bcl-2 proteininin adenoma – Karsinoma dönüşümünde tamamen yok olarak tespit etmelerine rağmen bcl-2 mRNA sellüler ekspresyonunu displazi/adenoma-karsinoma dönüşümünde artmış olarak bildirmişlerdir.(12)

Hauge ve arkadaşları yaptığı çalışmalarda bcl-2'nin benign ve malign KR tümörlerde hücre surviyini artırıcı etkilerini bildirmişlerdir. bcl-2 deregülasyonun kolorektal karsinogenezde göreceli olarak erken ortaya çıkan bir bulgu olabileceğini bildirdiler. Lenfnodu metastazı bulunan adenokanserli KRKlilerde bcl2 ekspresyonu bunların kemoterapiye dirençli olduklarını göstermektedir. (53)

Ofner ve arkadaşları 104 vakalık çalışmalarında , bcl-2 ekspresyonunun vakaların 55'inde olmadığını gösterdiler, 25 vakada bcl 2(+)'liği %5den az , 17 vakada %5-50 arasında , 5vakada ise %50'den fazlaydı. Bcl-2'nin ekspresyonunun fazla olması tümör hacmini küçültmekteydi aynı zamanda kötü klinik gidişle ilgili bulundu. ama Duke's evresinin kötüleşmesiyle ilgisi bulunamadı. (122)

Pereira ve arkadaşlarınca yapılan 80 hastalık çalışmada bcl-2 ve p53ün ekspresyonunu, KRK in evre, grade, vasküler invazyon gibi bilinen faktörleriyle arasında bir korelasyon ortaya konulamadı. (130)

Sinicrope ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada, bcl-2 proteinini İHKB ile bazal epitelde ve hiperplastik mukozada tespit ederlerken; karsinomalarda ve displastik poliplerde bu tespiti yüzeyel ve parabazal hücrelerde göstermişlerdir. Bcl-2 yüksek oranda bulunan karsinomalarda spontan apoptozisin az olduğu histolojik olarak gösterilmiştir. Anormal bcl-2 gen aktivasyonunun erken evre kolorektal karsinogeneziste var olduğu ve apoptozisi inhibe ederek tümör progresyonunu artırdığını bu çalışma sonunda ortaya koymuşlardı. (149)

Flohil ve arkadaşları bcl-2 ekspresyonunu, tubuler, villöz ve tubulovillöz adenomlarda sık olarak görmüş fakat 10 karsinom vakasının yalnız 3ünde ve 10 hiperplastik polip vakasının yalnız 2sinde bcl-2 protein ekspresyonunu tespit

etmişlerdir. Sonuç olarak hiperplastik polip patogenezinde esas olan artmış kript hücre proliferasyonu iken bazı lezyonlarda azalmış apoptoziste rol alabilmektedir. Bcl-2 nin adenomlarda karsinomlara oranla daha çok görülmesi ise azalan apoptozisin karsinom patogenezinde normal olarak etkin bir rol oynadığını yada kolonrektum epitelinde apoptozis regülasyonunun ekstra regülatuar faktörler tarafından yapıldığını açıklamaktadır(16).

Berney çalışmasında bcl-2 nin posttranskripsiyonel evrede regüle edildiğini bildirmektedir. Bcl-2nin 2 farklı aktifleyici bölgesi ve ilave olarak açık okunabilen bölgesi (ORF) ekson2 üzerinde yerleşmiştir. İşte bu ORF'lerdeki bazı nokta mutasyonlar , translasyonun başlamasını önleyecek ve posttranskripsiyonel down regülasyonun bir diğer nedeni olacaktır. Çalışma sonunda kesin olmasa da bcl-2nin posttranskripsiyonel olarak downregülasyonunun primer KRkarsinogenezis oluşumuna etkisi bulunmaktadır. Fakat karaciğer met.li hastalık için aynı şeyi söylemek zordur(12).

Watson ve arkadaşlarının 46 vakalılık çalışmasında karsinomlarda(%36,5), adenomlardan (%63,2) daha az oranda bcl-2 yi tespit ettiler. Oysa p53 için durum tamamen ters olarak bulundu. Toplam %20 oranında hem adenoma hemde karsinoma beraberce bcl-2 ve p53 eksprese ediyorlardı. Böylece bcl-2 nin tümör karsinogenezisinde kaybolduğunu ve fakat p53ün yer aldığını ortaya koymuşlardır. (169).

Carr'ın çalışmasında bcl-2 ve p53'ün Ki-67 ile beraber kolorektal adenomlarda karsinomlardan daha sık olarak görüldüğünü bildirdiler. Bunu villöz yapının daha yoğun olmasına bağlamışlardı(21).

Bossari çalışmasında; bcl-2 immünreaktivitesinin displazi derecesine bakılmaksızın tespit edileceğini, KRKlerde ya tespit edilemez veya tümörlerin %38'inde fokal (%50 oranında boyanma gösteren hücreler) olarak bildirdiler. KRKlerde bcl-2 ekspresyonunun klinikopatolojik verilerle alakalı olmadığını ve erken evrede tümörogenezisde rol aldığını ve ayrıca bcl-2 ekspresyonunun prognostik bir değeri olmadığını bildirdiler(17).

Kaklamaniş çalışmasında; 50 kolorektal adenoma , 10 hiperplastik polip ve 149 karsinomda bcl-2 ekspresyonuna baktı. Bcl-2 ekspresyonunu ençok adenomlarda (%82) tespit etti. P53 over ekspresyonu ve bcl-2 reaktivitesi arasında bir resiprokal ilişki tespit eden kaklamaniş bcl-2(+) ve p53(-) sub gruplarda Lenf nodu negativitesinin çok güçlü olduğunu bildirmiştir(69).

Bizim çalışmamızda 98 vakanın 16 sında(%16) bcl-2 ekspresyonu tespit ettik. Bcl-2 proteininin imüñhistokimyasal ekspresyonunun spesifik olarak herhangi bir parametreye doğru eğilimli olarak bulmadık. Hastalarımızın toplam 16 sında (%15) bcl-2 protein ekspresyonu tespit ettik Tespit edilen hastalar içinde KRKlerin özellikle evresi, diferansiasyonu ve lokalizasyonu ile ilgili olarak istatistiki bir fark bulmadık. Literatürde belirtilen erken evre KRKlerde bcl-2nin daha sık ekspresyonunu bizim çalışmamızda bulamadık. Bu bulgumuzun muhtemelen erken evre KRK vakalarımızın sayısının az olması ile alakalı olduğunu düşünüyöruz.

C erb B2: Young ve arkadaşları karaciğer metastazı ile beraber agressif olarak seyreden KRKlerde c erb B2nin gösterilebildiğini fakat metastaz göstermeyenlerde 8 yıllık izlem periyodunda c erb B2 nin ekspresyonunun belirgin olmadığını bildirmişlerdir. İleri bir çalışma sonunda c erb B2 (+) liğinin Dukes sınıflamasıyla ilgili olduğunu Osaka ve arkadaşları 1998de ortaya koymuşlardır. (63)

Berney ve arkadaşları ise1999da c erb B2 ekspresyonunun KRKlerde karaciğer metastazı gelişmesi için bir risk oluşturmadığını bildirdi. (13)

Mc Cay ve arkadaşlarının çalışmasında da c erb B2 protein ekspresyonunun hasta survisinde kuvvetli belirleyici bir faktör olarak bulunmamıştır ve diğer agressif özelliği belirgin KRKler içinde bir prediktör (tanı koydurucu) etkisi ortaya konulamamıştır. Fakat bu sonuçların ortaya çıkmasında çalışmaya alınan KRKli hastaların örnekleme hacminin küçük olması C erb B2 KRK ilişkisini ortaya koymada yetersiz olup Tip 2 istatistiki hatayı meydana getirmiş olabilir(63). Bununla ilgili başka çalışmalarda literatürde bildirilmiştir.

Sun ve arkadaşları c erbB2 protein ekspresyonu ile KRK ve lenf nodu metastazı arasında belirgin bir beraberlik bildirmişlerdir. Primer ve sekonder

tümörlerde c erb B2 proteini imünhistokimyasal olarak boyandığında %30 oranında aynı boyanma paternini göstermiştir. Bu nedenle c erb B2 protein varlığının gösterilmesinin KRKlerde metastatik lezyon oluşumunu tam olarak önleyebileceği net değildir. Bu çıkarımla ortaya atılan ant c erb B2 tedavisinde sonradan gelişecek sekonder tümörler üzerine bir etkisi olmayacağı bildirilmiştir(157).

Osako ve arkadaşlarının çalışmasında c erb B2 proteininin %68,5 unu sitoplazmik olarak belirlemişlerdir. C erb B2 over ekspresyonunu ise tümörün çapı, subserozal invazyon, karaciğer metastazı ve Dukes klasifikasyonu ile ilişkili olarak bildirmişlerdir. C erb B2 over ekspresyonu olan KRKli hastalarda tüm yaşam süresinin ve Duke's B KRKli hastalar içinse yine survinin kısaltıldığını bildirmişlerdir. Sitoplazma içinde boyanma paterni gösterenlerde , göstermeyenlere oranla survinin daha belirgin olarak azaldığı bildirilmiştir. Sonuçta KRK de sitoplazmik c erb B2 over ekspresyonunun bağımsız bir prognostik faktör olduğu sonucuna vardılar(125).

Kapitonovic benzer çalışmasında 155 vakada hem sitoplazmik hem membranoz c erb B2 protein ekspresyonun survi ile bağımsız olarak ilgili olduğunu bildirmiştir. (71)

Buna karşılık McCay'in bulgularıyla beraber Sun ve arkadaşları 293 vakada (1995) membranöz c erb B2 ekspresyonunun prognoz ile ilgili olmadığını rapor etmişlerdir.

Chamberlane (1999) 96 vakada survi ve sitoplazmik - membranöz c erb B2 (+)liğinin arasında bir ilişki tespit edememiştir(22).

C erb B grubu proteinlerin de içinde bulunduğu EGFR'nin (endotel growth factor receptor) KRKlerde belirginliği ; Yong'un serisinde %30, Nakai'nin serisinde %53,7 , Yasui'nin serisinde ise % 77,1 olarak farklı oranlarda bildirilmiştir. Oran %30-80 arasındadır. Fakat Mayer serisinde KRKli vakaların hepsinin EGFR(+)'liği gösterdiğini bildirmiştir. Bu çalışmada yalnız sitoplazmik c erb B2 boyanma yöntemi kullanılarak çalışılmıştır. Bu nedenle diğer müelliflerin serilerinden farklıdır. (63-106)

Bazı araştırmacılar da EGFR belirginliği olmadan KRKlerde yalnız C erb B2 protein ekspresyonunun varlığını göstermişlerdir. Bu serilerde Nakai %56,8 D, emilio

%89, Lee ise %75 oranında yalnızca cerb B2 protein ekspresyonunu göstermişlerdir.

Lee'nin çalışmasında c erb B2 over ekspresyonu KRKlerde histolojik diferansiasyon ile alakalı olarak bulunmuştur. Neodiferantiator (neu) faktör heterodimer c erb B2-3 ile bağlanan bir liganttır ve hücre diferansiasyonu üzerine etkilidir. Bulgular göstermektedir ki c erb B2 KRKlerde ve pankreas kanserlerinde tümör hücrelerinin tübüler yapılarının morfogenezine katkıda bulunmaktadır.(115)

C erb B2 ve EGFR'nin insan kanserlerinde birlikte bulunması kötü prognozla birlikte olarak bildirilse de ; prognoz üzerine etkisi hala tam olarak açık değildir. Literatürde yapılan çalışmalar arasında Steel'in ve Klustugler'in bildirdiğine göre tümör agresivitesi ve EGFR oranı arasında bir ilişki vardır. Aynı zamanda EGFR'yi bu iki çalışmada bağımsız değişken olarak tanımlamışlardır. (155-74)

Nakae S. Duke's D KRKlerde Dukes A-C evrelerine göre , c erb B2 protein ekspresyonunu artmış olarak bildirirken ; D'emilio ve arkadaşları tam tersi bulgu bildirmişlerdir. Lee'nin serisinde (125 hasta) EGFR veya c erbB2 ve prognoz arsında ilişki bulunamamıştır. Sonuçta Lee'nin serisinde c erb B3'ün erken KRKlerde sık olduğu ve fakat geç tümörlerde prevalansının düşük olduğu bildirilmiştir. Bunun c erb B2 ile koekspresyon yüzdesi erken evrelerde geç evrelere göre fazladır.C erb B2-B4 arası heterodimerizasyon ise geç evre karsinogenezinde rol almaktadır.(115)

Biz KRKli 98 olguda cerb B2 ekspresyonunun immünhistokimyasal boyama yöntemiyle çalıştık. Vakalarımızdan %19unda c erb B2 protein ekspresyonunu tespit ettik. Bu oran literatürde bildirilen oranların daha altındadır. c erb B2 protein ekspresyonu ile hastaların yaş, cinsiyet ve tümör lokalizasyonları arasında bir ilişki tespit etmedik. Fakat ileri evre KRKli hastalar arasında c erb B2 protein ekspresyonunun istatistiki anlamlı yüksek bulduk. (z=3,191, p=0,001). Diferansiasyon derecesi kötü ve müsinöz adenokanserlerde c erb B2 protein ekspresyonunu bizim serimizde istatistiki olarak anlamlı yüksek bulduk.(z=3,428, p=0,0006) Böylece Mayer'in serisinde bildirilenin tersine serimizdeki her KRKvakasında cerbB2 ekspresyonunu tespit edemedik. C erb B2 protein ekspresyonunu kötü diferansiye

ve geç evre KRKlerde belirgin olarak tespit edilmesi bu onkoproteinin prognostik bir faktör olarak kullanılabileceğini dűşündürmektedir. Fakat daha fazla hasta sayılı çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.



SONUÇ

Sonuç olarak nükleer p53, sitoplazmik nm23 ve bcl-2 , membranöz c erb B2 protein ekspresyonunun yaş ve cinsiyet ile ilişkisinin olmadığını tespit ettik.

P53 ve nm23 protein ekspresyonunu rektum lokalizasyonlu adenokanserlerde kolondakilere göre daha yüksek oranda bulduk. Fakat bcl-2 ve c erbB2 protein ekspresyonunu hem kolon hemde rektumda yerleşmiş tümörler için herhangi bir özellik göstermiyordu.

P53, nm23 ve c erb B2 protein ekspresyonunun Astler- Coller C1-C2 ve D evrelerinde(ileri evre), aynı zamanda kötü diferansiasyon özellikleri olan KRKlerde önemli ölçüde belirgin olarak tespit ettik. Burada nm23 protein ekspresyonu literatürdeki genel eğilimin tersine ileri evre kötü diferansiasyon özellikleri bulunan kanserlerde belirgin olarak yüksek bulundu.

Bu sonuçlar ile hasta serimizde Bcl-2 protein ekspresyonunu prognostik bir faktör olarak ortaya koyacak bir istatistiki eğilim tespit etmedik.

P53 ve nm23'ün özellikle rektumda yerleşmiş ileri evre ve kötü diferansiye adenokanserler için prognostik bir değer taşıyabileceği kanaatine vardık. Nm23 protein ekspresyonunun genel kabul gören eğilime uymayan dağılımının ise dokuya bağımlı olabileceğini düşünerek bu konuda daha kapsamlı çalışmalar yapılmasının gerekliliği kanısına vardık.

ÖZET

Bu çalışma, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Genel Cerrahi Servisi'nde Kasım 1997 ve Haziran 2003 tarihleri arasında KRK tanısı konulan ve cerrahi tedavi yapılan 98 hasta arasında retrospektif olarak planlanıp çalışıldı.

KRKlerde prognoz ve tedavinin seçimi hastalığın evresi ile çok yakından alakalıdır. Neyazıkkı; KRKlerde evreleme preoperatif dönemde tam doğru olarak yapılamamaktadır. Bu nedenle neoadjuvan ve adjuvan kemoterapinin düzenlenebilmesi için hastalık progresyonunu gösteren ilave belirteçlerin ortaya konulması daima çalışma gündeminde kalmaktadır.

P53 geni 17. kromozomun kısa kolu üzerinde 17p13-1 pozisyonunda bulunan bir tümör supressör gendir. 16.20 kb. uzunluğunda olan bu gen 11 eksondan oluşmaktadır. **C-erb B2** tirozin kinaz reseptör ailesinin bir alt grubudur. 17.q 21. kodonda bulunur. Normalde hücre proliferasyonu sırasında işlev almaktadır. **Bcl-2** Apoptozisi inhibe eden bir gendir. Bcl-2 1984 yılında B-hücreli lenfoma (Bcl) ve non hodgkin follüküler lenfomalarda ilk kez saptanmış olup t(14:18)(q32-q31) translokasyonu olarak izlenir. **Nm23** H, Steeg ve ark. Tarafından fare K-1735 melanoma hücrelerinde bulunan (1988) bir gendir. Kromozom 17q21.3'de lokalize bu gen, nukleozid difosfat kinaz A ve B (NDPK-A, NDPK-B) proteinlerini kodlayan Nm23-H1 ve Nm23-H2 adında iki homolog genden oluşur.

Biz çalışmamızda; p53, nm23 ve c erb B2 protein ekspresyonunun Duke's C1-C2 ve D evrelerinde (ileri evre), aynı zamanda kötü diferansiasyon özellikleri olan KRKlerde önemli ölçüde belirgin olarak tespit ettik. Bu bulgularımız arasında nm23 protein ekspresyonunu literatürdeki genel eğilimin tersine ileri evre kötü diferansiasyon özellikleri bulunan kanserlerde belirgin olarak yüksek bulmamız dikkat çekiciydi

Bu sonuçlar ile p53 ve nm23'ün özellikle rektumda yerleşmiş ileri evre ve kötü diferansiye adenokanserler için prognostik bir değer taşıyabileceği kanaatine vardık. Nm23 protein ekspresyonunun genel kabul gören eğilime uymayan dağılımının ise dokuya bağımlı olabileceğini düşünerek üstünde çalışılmasının gerekliliği kanısına vardık. Hasta serimizde Bcl-2 protein ekspresyonunu prognostik bir faktör olarak ortaya koyacak bir istatistiki eğilim tespit etmedik.

SUMMARY

Lymphatic nodal status and staging of the colorectal cancer has related with prognosis of the patient with adenocancer. Unfortunately preoperative staging of the CRC has not been exactly managed by using physical examination and out come of the Computerized tomography and Magneting Resonance Imaging (MRI). The sensitive of both CT and MRI are about 70% and 85-92% respectively several reports declared that the treatment approaches of the CRC could be change according to its stages. The surgical procedures have not been as first step treatments. For instance neoadjuvant chemotherapy and-or chemoradiotherapy could be replaced as a first step treatment approach instead a surgical procedure. Furthermore lymphatic status from tumoral basin is another important factor influencing the staging of CRC. Histopathology differentiation makes conceder able effect on CRC either. Several studies showed that additional biomarkers this paling progression of the cancer accept lymphatic involvement and staging in CRC has been needed to determine how to give neoadjuvant or adjuvant and surgical treatment approaches to the patients.

Since Vogelstein's study was appeared in the literature onchoproteins and tumor suppressor genes has been instructed to study more. P53, nm23 c erb B2. bcl 2, are the tumor suppressor genes on wich many study have been in last decade. In our study we focused on the changes of these onchoproteins what this played both colon and rectum adenocancers. Classified Astler–Coller(A-C) classification pre and postoperatively. This study had been performed the department of General Surgery, Gülhane Military Medical Academy, İstanbul, Türkiye. From nowember 1997 to Nowember 2002. Ninety- eight patients with CRC were admitted their files from database of the department of surgery and paraffin unbaded tissue block had been examined retrospectively.

In the syudy p53, nm23,c erb 2 protein expressions in the patients with (A-C) C1-C22 and D stage consisting with poor differentiation characteristics were statistically significant increased. In does outcomes it was really surprising that the nm23 protein expression was found increased level in advanced stage cancers on the contrary that showed in the literature.

As a result particularly in the advance stage CRC located in the rectum p53 and nm23 could be a marker making an effect on the prognosis of advanced staged CRC. But nm23 expression was found in the contrary manner probably due to different tissue characteristics. Thus new studies with more individuals are needed. In our study the expression of the bcl-2 protein couldn't be a prognostic factor in those CRC because no statistically significant trend had been established.



KAYNAKLAR

- 1) Alberts B., Bray D., Lewis J., Rafi M., Roberts K., Watson J.D.: Molecular Biology of the Cell 3rd E.D. Garland Publishing, New York 865-901,1994.
- 2) Alberts B., Bray D., Lewis J., Rafi M., Roberts K., Watson J.D.: Molecular Biology of the Cell 3rd E.D. Garland Publishing, New York 1255-1295: 1994.
- 3) Allred D., Gory M., Molina R.: Original Contributions: Over Expression of HER-2 New and it's Relationship with other Prognostic Factors Change During the Progression of in Situ to Invasive Breast Cancer. Human Pathology, 23:974-979, 1992
- 4) Anderjon T.J.: C-ERB-B2 Oncogene in Breast Cancer. Human Pathology 23:971-974, 1992
- 5) Ando and F. Jpn J.Cancer Receptor ; 82-245-249, 1991.
- 6) Aohill C.C.: Expression of Bcl-2 Protein in Hyperplasticpolyps Adenomas and Carcinomas of the Colon J.Pathology; 178(4): 393-397, 1996.
- 7) Augusto L., Dennis A.: Cancer Progression and P 53 ,346:1009-1112, 1995
- 8) Augusto L., Denis A.: Cancer Progression and p 53 ; 346:1009-1112, 1995.
- 9) Attkins W.S., NESM, 326:658-665, 1992.
- 10) Baer R.: Bcl-2 Breathes Life Into Embryogenesis. Am. J. Pathology 145, 1: 7-11, 1990
11. Baker S., Faeron E.R., Nigro .J.M., Hamilton S.M., Peisinger C., Jessup J.M.Van Tumen P., Ledbetter D.H., Banker D., Nakamura Y., Vogelstein B.: Chromosome 17 Deletions and P 53 Gene Mutations in Colorectal Carcinomas Science 244:217-220, 1989.
- 12.Barres M., Meyer J.S., Gonzales J.: Relationship Between C-ERB-B2 Immunoreactivity and Thymidine Labeling Index Inbreeds Carcinoma Incitu. Breast Cancer Research and Treatment 18:11-17, 1991
- 11)Berney C.R.; Evidence for Post Transcriptional Down Regulation of the Apoptosis Related Gene Bcl-2 in Human Colorectal Cancers, J.Pathology ; 191(1): 15-20, 2000.
- 12)Berney C.R.: Protein Markers in Colorectal Cancers Predictors of Liver Metastasis ; Annals of Surgery Vol 230(2):179-189, 1999.
- 13)Brenner A.S.: Analysis of Both nm23 H 1 and nm H 2 Expression Indemnifies "at risk Patients with Colorectal Cancers"
- 14)Bilir N. : Cancer Frequently in Turkey: Kanser, 11 :93, 1981.
- 15)Bissonnette R., Echeverri F.: Apopitoticell Death Induced by C-myc is Inhibited by Bcl-2. Nature Vol 359-552, 1992
- 16)Bosari S.: Bcl-2 Oncoprotein in Colorectal Hyperplasticpolyps, Adenomas and Aden carcinomas. Human Pathology ; 26(5):534-540, 1995.
- 17)Brun L., Roger W.: Expression of Bcl-2 in Fetal Tissues Suggests a Role in Morphogenesis. Am. J. Pathology 142: 742-753, 1993
- 18)Bumin, O : Kolon , Sindirimi Sistemi Cerrahisi, 3. Basım, Cilt 2, Ankara, 1986.
- 19)Cahil D.P., Nature 392:300-303, 1998.
- 20) Carr Norman J. ; Epithelial Neoplasm's of the Appendix and Colorectal Bun Analysis of Cell Proliferation, Apoptosis and Expression of p 53, CD44 and Bcl-2 ; Arch Pathology. Lab. Med. Vol 126:837-841, 2002.
23. Chamberlain N.L.: Clinic pathological Significance of erb B-2 Expression in

- Colorectal Cancers, *Oncol Rep.* 6:527-531, 1999.
24. Cotran R.S., Kumar V., Collins T.: Robbins Pathologic Basis of Disease 6 th Ed. 1999
 25. Cotran R.S. , Kumor V.: Robbins Pathologic Basis of Disease 6. Edit. Philedelphia 1999.
 26. Coussens L., Young F., Teresa L., Liao C.: Tyrosine Kinase, Receptor with, Extensive Homology to EGF Receptor Shares Chromosomal Location with New Oncogene. *Science* 230:1132, 1985
 27. Cunningham J.M.; *Semin Colon Rectum Surgery*, 9:38-48, 1998.
 28. Değerli, Ü. :Kolon Hastalıkları, Cerrahi Gastroenteroloji, .Baskı, İstanbul, 209-237, 1990.
 29. Diez M., Medrano M.: Influence of tumor localization on the prognostic value of p53 protein colorectal adenocarcinoma; *AntiCancer Res.* 20(5c); 3907-12, 2000.
 30. Diez M., Medrano M.: p53 protein ekspresyon in gastrik adenocarcinoma. Negative predictör survival after postoperative adjuvan chemotherapy *AntiCancer Res.* 20(5c); 3929-33, 2000.
 31. Dowel P.S., Hall A.P. : The P 53 Tumor Suppressor and Tumor Prognosis's there a relationship. *Journal Of Pathology* 177:221-224, 1995
 32. Dowkins H.J.S., Robins P.D., Smith K.L.:Whols New in Breast Cancer? *Path. Res. Proct*, 189: 1233-1252, 1983
 31. Dukes C.E.: The Spread of Cancer of the Rectum *Br.J.Surgery*; 17:643-648, 1930
 32. Dusonchet L. Nm23 H 1 Expression does not Predict Clinical Survival in Colorectal Cancers Patients *Oncology Rep.*; 10(5):Ç1257-1263, 2003.
 33. Dursun A.; Prognostic Implication of nm23 H 1 Expression in Colorectal Cancers *Pathology* ; 34(5):427-432, 2002.
 34. Duval A., Gayet J., Zhou X P., Locopetta B., Thomas G., Hamelin R.:Frequent Frameshift Mutations of the TCF-4 Gene in Colorectal Cancers with Micro satellite Instability *Cancer Res*, 59:4213-4215, 1999.
 35. Edelstein 2000 Protocols in a General Surgery Colon and Rectal Cancers.
 36. Engin A. : Genel Cerrahi Tanı ve Tedavi İlkeleri Cilt 2 Atlas Kitapçılık Ankara 565-590, 2000.
 37. Expression to Sulindac- Induced Regression of Intestinal Tumors in Min Mice *Carcinogenesis*, 20:635-640, 1999.
 38. Eyüboğlu E. : Rektum Kanserlerinin Tedavisinde Anterior Rezeksiyonun Yeri, Uzmanlık Tezi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, 1986.
 39. Faeron E.R. Vogelstein B.; *Cell* 61:759-767, 1990.
 40. Faeron E.R., Vogelstein B.: A Genetic Model for Colorectal Tumorigenesis *Cell* , 61:759-767, 1990.
 41. Fernandez S., Maria S., Bischoff R.: Bcl-2 Associates with the Ras Related Protein R-ras P 23. *Nature* Vol 274-336, 1993
 42. Finch C.E., Iant: RE, *Gewneting of Aging Science*, 278: 407-412, 1997.
 43. Fozzella Tse.:Condell: Expression of the Bcl-2 Oncogene Protein is not Specific for the 14:18 Chromosomal Locus location. *Am. J. Of Pathology* 137: 225-232, 1990

44. Fonidi Abdallah , Harrington Elizabeth A., Evan Gerard I., Cooperative Interaction between C-myc and Bcl-2 proto oncogenes Nature Vol.359,8, 1992.
45. Fujimore T., Nagasako K., Satanaka K.: Expression of Oncogene Product and Point Mutation of K-Ras Codon 12 in Superficial Early Colorectal Cancer (in Japans) Stomach Intest 27:111-117, 1992.
46. Geard M. : The Washington Manual of Surgery, 2. Edition, St Lois, Missouri, 1999.
47. Geisler J.P., Geisler h.E., Viemon V.C. : Lock of Bcl-2 Persistence an Independent Prognostic Indicator of Poor Prognosis in Endometrial Carcinoma Gynecology Oncology ; 71:305-307, 1998.
48. Gompel A., Saburin J., Martin A.: Bcl-2 Expression in Normal Endometrial During the Menstrual Cycle. Am. J. Pathology 145:1195-1202, 1994
49. Green boot M.S., Bennet W.P., Holstein M., Harris C.C.: Mutations in the P 53 Tumor Suppressor Gene clues to Cancer Etiology and Molecular Patogenesis. Cancer Res. 54:4855-4877 : 1994
50. Greenlee, R.T., Murray, T., Hill – Harman, M.B. , Thun, M. Cancer Statistics Cancer J. Clin, 51, 15-36, 2001.
51. Greenlee, G.T., Murray, T., Bolden S. Cancer Statistics Cancer J. Clin, 50(1)7-34, 2000.
52. Guyton, A.L. : Textbook of Medical Physiology Çeviri, Gökhan N., Çavuşoğlu H., 1. Basım, 2. Cilt, Bölüm 11, Ankara, 1086-1106,v 1987.
53. Hague A. ; Bcl-2 Expression in Human Colorectal Adenoma and Carcinoma Oncogene ; 9(11):3367-3370, 1994.
54. Hall P.A., Lane D.P.: P 53 in Tumor Pathology can we Thrust Immunohosto Chemistry Journal of Pathology 172:1-4, 1994
55. Harada N., Tamai Y., Isikawa T., Saver B. : Intestinal Polyp sis in Mice with a Dominant Stable Mutation of the Beta – Catherin Gene Embo J. 18: 5931-5942, 1999.
56. Harris C.C. : Structure and Function of the P 53 Tumor Suppressor Gene : Clues for Rational Cancer the Rape tic Strategies ;Journal of the National Cancer Institute. 88 : 1442-1546 : 1996
57. Haupt Y., Maya R., Kazas A., Oren M.:Mdm2 Promotes the Rapid Degradation of P 53 Letters to Nature. 387: 295-298, 1997
58. He T.C. Cell,1999,99:335-345; HE TC. Cell,1998,281:1509-1512 J.Clin Invest, 2000.
59. Heide I. ; Expression and Mutational Analysis of nm 23 H 1 in Liver Metastasis of Colorectal Cancers Br.J.Cancer ; 70:1267-1271, 1994.
60. Huang J.; Proc Natural Acad Science USA ; 93:904-909, 1996
61. James Howe, Jose G.Guillem: Contraversial issues in the menagement of colorectal diseases; The genetics of CRC 120; 22-26, 1999.
62. J.A.Mc Cay Br.J.Cancer 86, 568-573, 2002.
63. J.C.Lee, EUR.J.Cancer, 38, 1065-1071, 2002.
64. Junis J., Frizzera G., Oken M.: Multiple Recurrent Genomic Defects in Follicular Lymphoma. The New England J. Of Medicine 316:79-84, 1987
65. Junis J., Mayer M.: Bcl-2 and Other Genomic Alterations in the Prognosis of Large Cell Lymphoma. New England Journal Medicine 320:1047-1054, 1989

66. Kaelin W.G.: The Emerging p 53 Gene Family J. Of the National Cancer Institute. 91: 594-598 , 1999
67. Kaklamani L.: Bcl-2 Protein Expression; Association with p 53 and Prognosis in Colorectal Cancers; Br.J.Cancer: 77:1864-1869, 1998.
68. Kallionremi P., Hall K., Visakorpi T.: Association of c-erb B2 Over Expression with High Rate of Cell Proliferation Increased Risk of Visceral Metastasis and Poor Long Term, Survival in Breast Cancer. Intj. Cancer. 69:650-655, 1991
69. Kaptinovic S.: The Expression of p 185(her-2/nev) Correlates with the Stage of Disease and Survival in Colorectal Cancers, Gastroenterology 112:1103-1113, 1997.
70. Kawasaki Y., Science, 289, 1194-1197, 2000.
71. Klinzer K.W.; Cell 87:9, 1996.
72. Klufftinger A.M.: Surgical Oncology (Correlation of EEFR and c-erb B-2 Oncogene Product to Known Prognostic Indicators of Colorectal Cancers). 1:97-105, 1992.
73. Kraus M.H.: Proc Nati Acad Science USA 86:91-93, 1989
74. Koh T.J., Bullitta C.J., Fleming J.U., Dockray G.J., Varro A., Wang T.C.: Gostrin is a Member of the Beta Catenin TCF-4 Growth-Signaling Pathway in a Model of Intestinal Polyps J. Clin Invest, 106:533, 2000.
75. Kosmayer Stanley J., Review Article, Bcl-2 Initiates a new Category of Oncogenes Regulators of cell Death Blood Vol :80,879-886, 1992.
76. Kosmayer Stanley J., Trends :Bcl-2 a Repressor of Lymphocyte Death Immunology Today Vol :1992,13.No:8,1992.
77. Kudo and F. Stomach Intest, 24:317-329, 1988.
77. Kuzu A.: Rektum Kanserlerinin Tedavisinde Neden Anal Sfinkteri korumalıyız 78. Ulusal Cerrahi Dergisi :143-153, 1995.
79. Lane D.P.: p 53 a Dieth in the Life of p 53 Nature, 358: 15-16, 1993
80. Laurent -Puig P., Blons H. and Cugnenc P.H.: Sequence of molecular genetics events in colorectal tumorigenesis; Eur. J.Cancer Prev. 9:39-47. 1999
81. Lee j.c.: Prognostic Value of Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Colorectal Cancers Patients; Eur.J. Cancer; 36:748-753, 2000.
82. Lee C.S.: nm 23 H1 Protein Immunoreactivity in Laryngeal Carcinoma Cancer 77:2246-2250, 1996.
83. Leek R., kaklamani R, Pezzella F.: Bcl-2 in Normal Human Breast and Carcinoma Association with Estrogen Receptor-positive Epidermal Growth Factor Receptor- negative Tumors and Insitu Cancer Br.J. Cancer 69:135-139, 1994.
83. Lemoine N.R.: Br. J. Cancer 66:11-16, 1992
84. Leurero M., Laurenzi V.D., Costanza A., Sabatini S., Gong J., Wang J.Y.J., Melino G.: The p 53/63/73 Family of Transcription Factors Overlapping and Distinct Functions, Journal of Cell Science 113:1661-1670, 2000
85. Levine J.A., Momand J., Finlay C.A.: The p53 Suppressor Gene Nature, 351:435-455, 1991.
86. Levine J.A., p 53 the Cellular Gatekeeper for Growth and Division, Cell, 88:323-331, 1997.
87. Leyrero M. The p 53, p 63, p 73 Family of Transcription Factors Overlapping and Distinct Functions, Journal of Cell Science , 113:1661-1670, 2000.

- 88.Lindmark G.: Nm 23 H1 Immunohistochemistry is not Useful as Predictor of Metastatic Potential of Colorectal Cancers Br.J.Cancer ;74:1413-1418, 1996.
- 89.Lishi and F.: Cancer, 69:2406-2410, 1992.
- 90.Liu W., Dong x., Mai M., Seelan R.S., Taniguchi K., Krishnadat K.K., Halling K.C., Cunningham J.M., Boardman L.A., Qian C., Christiansen E., Schmitt S.S., Roche R.C., Smith D.I., Thibodeau S.N.,: Mutations in Axin-2 Cause Colorectal Cancer with Defective Mis Match Repair by Activating Beta-Catenin TCF Signalling Nat Greet, 26:146-147, 2000.
- 91.Locheat-Mummary, Lancet 427-429, 1925.
92. Loeb ; Cancer Receptors, 51:3075-3079, 1991.
93. Loeb ; Cancer Receptors, 34:2311-2315, 1974.
- 94.Liu B., Nature Genetics ,9:48-55, 1995.
- 95.Lu P., Abel P., Goster C.: Bcl-2 Rale in Epithelial Differentiation and Oncogenezis. Human Pathology 27:102-110, 1996
- 96.Madoff R.D., Semin , Colo Rectal Surgery 9:30-37, 1998.
- 97.Makin C.A.. Bobrow L.G., Nicholls R.J. : Can Immunohistology Improve Detection of Lymph node Metastasis in Large-Bowel Cancer. Dis Colon Rectum,32:99-102, 1989.
- 98.Maningot R., Abdominal Operasyonlar, Çeviri Editörü Adıçan A.,:2. Cilt, Bölüm 8-9-10, İstanbul, 1990.
- 99.Mann B. : Proc Nat Acad, Science USA,96:1603-1608, 1999.
100. Mary Beth Tery, A.I.Neugut: Tobacco, Alcohol and p53 overekspression in early colorectal neoplasny. BMC Cancer: 3(29); 1-9, 2003.
101. Mari N., Wada M., Yokota J., Terede M., Okada M., Teramura M., Mosuda M.,Matoji J.: Mutations of the P 53 Tumor Suppressor Gene in Hematological Neoplasm's Br. J. Of Hematology. 81: 235-240 , 1992
- 102.Marin M.C., Kaelin W.G.: P 63 and P 73 old Members of a New Family, Biochimiaand Biophysical Acta 1470:93-100, 2000
- 102.Mayer A.: The Prognostic Significance of Proliferation Cell Nucleerantigen, EGFR and MDR gene Expression in Colorectal Cancers ; Cancer ,71:2454-2460, 1993.
- 103.Mc Cay J.A.: c-erb B-2 is not a Major Factor in Development of Colorectal Cancers Br.J.Cancer: 86:568-573, 2002.
- 104.Menko F.H. : Genetics of Colorectal Cancer for Clinical Practice 3: Edition, Washington, 1993.
- 105.Messinetti S. at All. ; CD44V6 ve nm 23 H 1 Prt. Expression Related to Clinico pathologic Parameters in Colorectal Cancers Ann. İtaly Chine ; 74(1):45-51, 2003.
- 106.Michael H.G., Kubbulat G., Jones S., Karen H.:Regulation of P 53 Stability by Mdm2 Letters to Nature. 387:299-390, 1997
- 107.Muto T., Disease Colon and Rectum ; 28:847-851, 1985.
- 108.Muto: Distal Colon and Rectum: 40(10):80-85, 1997.
- 109.Muto and F. :Disease Colon and Rectum ; 34:696-698, 1991.
- 110.Myosi N.Hum, Mol. Genetic, 1:229-233, 1992.
- 111.Nakae S.: Study of c erb B-2 Protein and EEFr expression and DNA Ploidy patern in Colorectal Cancers ; Cancer ,71: 246-251, 1993.

112. NEJM, 328:1313-1326, 1993
113. NEJM, 339:1277-1284, 1998.
114. Netter, F.H.: Atlas of Surgical Operations the Ciba Collection of Medical Illustration, 6. Edition, Cleveland 199, 1948.
115. Nigro M.J., Baker S.J., Preisinger AC, Jessup JM, Hostetter R, Cleary K, Bigner SH, Davidson N, Baylin Mutations P 53 Gene Occur In diverse Human Tumor Types Nature, 340:705-707, 1989.
116. Nowell, Brodmer Bishop. Nature Genetics, 6:217-219, 1994.
117. Nowell, Science 194:23-27, 1976.
118. Ofner D. Immunohistochemically Detectable Bcl-2 Expression in Colorectal Cancers; Correlation with Tumors Stage and Patient Surgical Br.J.Cancer: 72(4): 981-985, 1995.
119. Oren M.: Regulation of the P 53 Tumour Suppressor Protein. The Journal of Biological Chemistry 51: 36031-36034, 1999.
120. Osadom M., Obba M., Kawahara C., Ishioka C., Kanamaru R., Katoh I., Ikavay Clanning and Functional Analysis of Human P 51, Witch Structurally and Functionally Resembles P 53 Ature Medicine.:4: 839-843, 1998
121. Osako T.: Immunohistochemical Study of c-erb b-2 protein in Colorectal Cancers and the Correlation with Patient Surgical; oncology 55:548-555, 1998.
122. Oval E.: Apoptozis. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Ktb., Ankara, 1998
123. Özdemir N., Akalın T. : Meme karsinomlarında C-erb, B-2 ve P 53' ün önemi, Türk Patoloji Dergisi, 15(1-2):12-15, 1999.
124. Overexpression of nm23 H1 and nm 23 H2 Genes in CRC and Loss of nm 23 H1 Expression in Advanced Tumor Stages Gut Val 37: 712-720, 1995.
125. Pal M., Wetzler M., Josefberg Z.: Sporadic Amplification of the HER 2/nev Proto-oncogene in Adonocorcinomas of Various Tissues Cancer Research 48:1517-1520, 1998
126. Perraira Herminia M.D.: Prognostic Markers for Colorectal Cancers; Expression of p 53 and Bcl-2 World Journal of Surgery 21:210-213, 1997.
127. Plottenberg A., Ballaunc C., Pammer J.: Human Melonocytes and Melanoma Cells Constitutively Express the Bel-2 Protooncogene Insnsitu and in Cell Culture. Am. J. Pathology 146:651-659, 1995
128. Plowmon G.D.: Proc Nati Acad Science USA 90:1746, 1993
129. Pogliani C., Tos A., Lourino L.; "The Prevalance of Bcl-2 Immunoreoctivyl in Breast Carcinomas and its Clinic pathological Correlates, with Particular Reference to Estrogen Receptor Status" Virchows Archive 424:47-51, 1994.
130. Porter P.C.: Widespread p 53 Over expression in Human Malignant Tumors, American Journals of pathology, 140:145-153, 1992.
131. Potter R., Beghin C., Makar P.: The Nev Oncogene Protein as a Predictive Factor for Hacmategoneus, Metastasizing in Breast Cancer Patients Int. Journal Cancer 45:55-58, 1990
132. Prives C, Hall P.A., An Overview of P 53 Scructure and Function; Journal of

- Pathology 187:112-126, 1996.
133. Ree Jahn C., Mini Review Cellular Mechanism of Disease Series Bcl-2 and the Regulation of Programmed Cell Death The Journal of Cell Biology, ,124, 1-6, 1994.
 134. Romangnolo B., Berrebi D., Saadi-Veddovcci S., Portev U., Pichond A., Peuchmaur M., Vandewalle A., Kahn A., Perret C.: Intestinal Displays and Adenoma in Transgenic Mice After Overexpression of an Activated Beta Catenin. Cancer Res, 59,3875-3879, 1999.
 135. Rosai J. Ackermans Surgical Pathology 8. Edition new York 1996.
 136. Rosen P., Lesser L., Arroga C.: Immuno Histochemical Detection of HER 2 nev in Patients with Axillary Lymph Node Negative Breast Corcinona Cancer 75: 1320-1326, 1995
 137. Sabiston, D.C. : Textbook of Surgery, 12. Edition, Vol. 1 USA, 983-1053, 1986.
 138. Saburin Y.C., Montin A., Baruch J.: Bcl-2 Expressing in Normal Breast Tissue During the Menstrual Cycle. Int. J. Cancer 59:1-6, 1994
 139. Saeed M., J. Albert, Jr. Fornace: Role of P 53 Family Members in a Poptosis Journal of Cellular Physiology. 182: 171-181, 2000
 140. Sayek, İ. Kolorektal Karsinomlar, Temel Cerrahi, 2. Baskı, 1. Cilt, Bölüm 8, Ankara, 1169-1200, 1996.
 141. Schwatz, S.I. :Colon, Rektum and Anus Principles of Surgery, 7. Edition, Vol. 2, 1191-1306, New York, 1999.
 142. Senba S. Cancer 82.279-285, 1998.
 143. Shimodo T.; Cancer, 64Ç:1138-1146, 1989.
 144. Shoemaker A.R., Gould K.A., Luongo C., Moser A.R. Dove W.F.: Study of the Neoplasm in the Min Mouse Biochim Biopsy Acta 1997, 1332: f25-f48 Cyclins D1 and E in Human Colon Adenocarcinoma, J. Med, 28:285-309, 1997.
 145. Sinicrope F.A.: Bcl-2 and p 53 Oncoprotein Expression During Colorectal Tumor Genesis Cancer Receptors ; 15;55(2):237-241, 1995.
 146. Slamon J., Go dolphin W., Jones L.: Studies of the HER 2/ nev Proto-oncogene in Human Breast and Ovarian Cancer Science Vol: 244, 1993
 147. Slamon D.J.: Science 244: 707-712, 1989
 148. Slamon Dennis J., Clark Groy M., Wong Steven G., Human Breast Cancer Correlation of Relapse and Survival with Amplification of the HER – 2/nev Oncogene Science 1987,235,177, 1987.
 149. Slamon Dennis J., Clark M., Worg.: Human Breast Cancer Correlation of Relapse and Survival with Amplification of the HER-2 New Oncogene Science, 177-235, 1987
 150. Sliwowski M.X.:J. Biology Chemistry 269: 14661-14665, 1994
 151. Smith K., Bui T.D., Poulosom R., Kaklamanis L, Williams G., Harris A.L.: Up Regulation of macrophage Wnt Gene Expression in Adenoma –Carcinoma Progression of Human Colorectal Cancer Br. J. Cancer; 81:496-502 1999.
 152. Steel R.J.C.: EEFr Expression in Colorectal Cancers; Br.J.Cancer:77:1352, 1990.

153. Strayker S.J., *Gastroenterology* ; 93:1009-1015, 1987.
154. Sun X-F.: c-erb B-2 and p 53 Oncoproteins in Primary Colorectal Adenocarcinomas and Their Lymph node Metastases ; *Diagnostic Oncology* , 4:161-164, 1994.
155. Tannapfel A.: Expression of nm 23 Protein and estrogen receptor and Prognosis of Colorectal Cancers. 38(8): 802, 1995
156. Timothy F., Burns S., Wafik S.: The P 53 Pathway and Apoptosis. *Journal of Cellular Physiology*. 181: 231-239, 1999
157. Tron, Klojevski, Klein: Immunohistochemical Analysis of Bcl-2 Protein Regulation in Cutaneous Melanoma. *Am. J. Pathology* 146: 643, 1995
158. Vogelstein B., Fearan E., Hamilton S.: Genetic Alterations During Colorectal Tumors Development *New England J. Med.* 319:525-532, 1988.
159. Vogelstein B.; *Science* 244:207-211, 1989.
160. Van Den Berg M., Tiggies A.E., Schipper M.E., Hartoy-Jager E.C.A., Kroes V.G.M., Walboomers J.M.M.; Expression of the Nuclear Oncogene P 53 in Colon Tumors *Journals of Pathology*, 157:193-199, 1989. (51 Vaux L., Cary S.: Bcl-2 Gene promotes Haemopoietic Cell Survival and Cooperates with C-Myc to Immortality Pre B Cells *Nature* Vol: 329-335, 1988
161. Vider B.Z., Zimber A., Chostre E., Prevot S., Gespoch C., Estlein D., Wolloch Y., Tronich S.R., Gazit A., Yaxiv A.: Evidence for the Involvement of the Wnt. L Gene in Human Colorectal Cancer *Oncogene*, 12:153-158, 1996.
162. Wada T.: *Cell* 61:1339, 1990
163. Walker R.A.: *Br. J. Cancer* 60:426-429, 1989
164. Wang L. : Mutation in the nm 23 Gene is Associated with Metastasis in Colorectal Cancers, *Cancer Receptors*; 58:717-720, 1993.
165. Watson A.J.; Evidence of Reciprocity of Bcl-2 and p 53 Expression in Human Colorectal Adenoma and Carcinoma *Br.J.Cancer* ; 73(8):889-895, 1996
166. Webster M.T., Rozyka M., Sara E., Davis E., Smalley M., Young N., Dale T.C.; Wooster R.: Sequence Variants of the Axin Gene in Breast, Colon and Other Cancers; An Analysis of Mutations that Interfere with 63 kD Binding Gene *Chromosome Cancer*, 28:443-445, 2000.
167. Wong C.H., Pignatelli M., Chiang N.A.: Beta-Catenin Involvement in Colorectal Carcinogenesis *Am.J.Path.* 160:389-401, 2002.
168. Wright C.: *Cancer* 49:2087-2090, 1989
169. Yamaguchi A. : Inverse Association of nm 23 h 1 Expression by Colorectal Cancers with Liver Metastasis *Br.J.Cancer* ;68:1020-1024, 1993.
170. Yang J-I. : Over expression of c-erb B 2 mRNA and /or c-nev Oncoprotein is a Predictor for Metastases from Colorectal Cancers. *Anticancer Receptors* 17:1023- 1026, 1997.
171. Yin Y., Tainsky M.A., Bischoff F.T., Strong L.C., Nhal G.M. : Wild Type P 53 Restores Cell Cycle Control and Inhibits Gene Amplification in Cells with Mutant P 53 Alleles. *Cell* , 70 : 923-935 : 1992
172. Yonemura Y.: *Cancer Res.* 51:1034, 1991
173. Zamzami N., Brenner C., Marzo I., Susin S.A., Kroemer G.: Subcellular and

Submitochondrial Mode of Action of Bcl-2-Like Onchoproteins Oncogene,
16: 2265-2282, 1998

174. Zengawer C. ; Nature ;386:623-627, 1997.

175. Zonghua Wai Ke Za Zhi; Expression of nm 23 Protein and estrogen
receptor and Prognosis of Colorectal Cancers. Articles in Chinese
38(7):514-516, 2000.

