

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**SPORADİK KOLOREKTAL KANSER VE PREKÜRSÖR
LEZYONLARDA RAS ARAYOLUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Elçin KADAN

**TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Arzu ENSARİ**

**ANKARA
2012**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**SPORADİK KOLOREKTAL KANSER VE PREKÜRSÖR
LEZYONLARDA RAS ARAYOLUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Elçin KADAN

**TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Arzu ENSARİ**

“Bu tez, Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu tarafından
10B3330013 Proje numarası ile desteklenmiştir.”

**ANKARA
2012**

KABUL VE ONAY

T.C.

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Tıpta Uzmanlık eğitimi çerçevesinde yürütülmüş olan “Sporadik Kolorektal kanser ve prekürsör lezyonlarında RAS arayolunun değerlendirilmesi” başlıklı, Dr.Elçin KADAN’a ait bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 07.05.2012



Prof.Dr. Işın KUZU
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı
Jüri Başkanı



Prof.Dr.Arzu ENSARİ
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı



Doç.Dr.Berna SAVAŞ
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı
Üye

ÖNSÖZ

Tezimin tüm aşamalarında desteğini ve yardımlarını hiç esirgemeyen çok değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Arzu ENSARİ'ye, tezime değerli yardımlarından ötürü Doç. Dr. Berna SAVAŞ ve Doç. Dr. Sibel PERÇİNEL'e, öğrencilik ve uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde katkıları olan A.Ü.T.F. Patoloji Anabilim Dalında görevli tüm değerli hocalarıma, çalıştığım tüm uzman arkadaşlarıma ve asistanlığım boyunca hep yanımda olan arkadaşlarım; Cevriye CANSIZ, Hatice GERMEN ÜNVERDİ, Ayşe ÖZGÜN, Eda AKPINAR, Yasemin YUYUCU KARABULUT, Pınar CELEPLİ, Banu İNCE ALKAN, Seher YÜKSEL, Ayşegül ŞAŞMAZ, Hilal NALBANT ve Seda PİLATİN'e teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmamın hazırlık aşamasındaki yardımlarından ötürü, Alahattin ALPTEKİN ve Yusuf ASLAN'a, H&E ve immünohistokimyasal kesitlerin hazırlanmasındaki emekleri için AÜTF Patoloji ve İmmünohistokimya laboratuvarının değerli çalışanlarına ve yardımları için Patoloji Anabilim Dalı sekreteri Fatma KARATAŞ ve Patoloji Anabilim Dalı görevlisi Dursun DAĞCI'ya teşekkür ederim.

Tezimin sonuçlarının değerlendirilmesinde değerli katkıları için AÜTF Biyoistatistik Anabilim Dalı görevlisi Nazmiye KURŞUN'a teşekkür ederim.

Asistanlığım ve tez dönemim süresince her zaman yanımda olan, beni bugünlere sayısız özveri ile getiren aileme, sonsuz sabır ve özverileri ile manevi desteklerim sevgili eşim Murat, canım kızım Kayra ve kardeşim Emir'e çok teşekkür ederim.

Dr. Elçin KADAN

Ankara - 2012

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	vi
TABLOLAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KOLOREKTAL KARSİNOMA.....	3
2.1.1. Epidemiyoloji.....	3
2.1.2. Etyoloji.....	4
2.2. KOLOREKTAL KARSİNOMADA ÖNCÜ LEZYONLAR	9
2.2.1. Aberan Kript Odağı.....	9
2.2.2. Adenomatöz Polipler.....	10
2.2.2.1. Tübüler Adenom	10
2.2.2.2. Villöz Adenom	10
2.2.2.3. Tübülovillöz Adenom	11
2.2.2.4. Adenomatöz Poliplerde Displazi.....	11
2.2.3. “Serrated” Polipler	11
2.2.3.1. Hiperplastik Polip (HP).....	12
2.2.3.2. Sesil “serrated” Adenom/polip (SSA/P)	13
2.2.3.3. Klasik (Traditional) “Serrated” Adenom (KSA).....	13
2.2.3.4. Serrated Poliplerde Displazi.....	14
2.3. KOLOREKTAL KARSİNOMANIN MOLEKÜLER TEMELİ	14
2.3.1. Kromozomal İnstabilite.....	16
2.3.2. Mikrosatellit İnstabilite (MSI)	18
2.3.3. “CpG” Ada Metilatör Fenotip (“CpG island methylator phenotype” - CIMP)	21

2.4. KOLOREKTAL KARSİNOMADA HÜCRE İÇİ SİNYAL İLETİM MEKANİZMALARI.....	22
2.4.1. EGFR	25
2.4.2. RAS/RAF/MAPK Arayolu	26
2.4.2.1. RAS	26
2.4.2.2. RAF	29
2.4.2.3. MEK	30
2.4.2.4. ERK 1,2.....	30
2.4.3. PI3K/AKT/mTOR Arayolu.....	30
2.4.3.1. PI3K	31
2.4.3.2. PTEN.....	32
2.4.3.3. AKT	32
2.4.3.4. mTOR.....	33
3. MATERYAL-METOD	37
3.1. OLGU SEÇİMİ.....	37
3.2. DOKU “ARRAY” YÖNTEMİ	39
3.3. İMMUNHİSTOKİMYASAL İNCELEME	41
3.3.1 Antikorlar	41
3.3.1.1. İmmunhistokimyasal Boyama Yöntemi.....	41
3.3.2. İmmunhistokimyasal İncelemenin Değerlendirilmesi	44
3.3.2.1. Kontrol Dokuları	44
3.3.2.2. İmmunhistokimyasal Değerlendirme	44
3.3.2.3. PI3K Ekspresyonunun Değerlendirilmesi.....	45
3.3.2.4. PTEN Ekspresyonunun Değerlendirilmesi	45
3.3.2.5. pAKT Ekspresyonunun Değerlendirilmesi	45
3.3.2.6. mTOR Ekspresyonunun Değerlendirilmesi	45
3.3.2.7. MEK-1 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi	45
3.3.2.8. ERK-1 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi.....	46
3.3.2.9. ERK-2 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi.....	46
3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	46
4. BULGULAR.....	47
4.1. OLGULAR.....	47

4.2. İMMÜNHİSTOKİMYASAL İNCELEME SONUÇLARI.....	58
4.2.1. RAS-RAF-MAPK Arayolunda Yer Alan Moleküller.....	58
4.2.1.1. MEK1 Ekspresyonu	58
4.2.1.2. ERK1 Ekspresyonu	65
4.2.1.3. ERK2 Ekspresyonu	71
4.2.2. PI3K-AKT-mTOR Arayolu	77
4.2.2.1. PI3K Ekspresyonu.....	77
4.2.2.2. PTEN.....	83
4.2.2.3. pAKT Ekspresyonu	90
4.2.2.4. mTOR Ekspresyonu	97
4.2.3. Adenomatöz ve Serrated Neoplazi Sekanslarının İmmünhistokimyasal Belirteçler Açısından Değerlendirilmesi	103
5. TARTIŞMA	107
6. SONUÇLAR	126
ÖZET.....	129
SUMMARY	131
7. KAYNAKLAR	132

KISALTMALAR

AKT	: Murine thymoma viral oncogene homolog
AP	: Adenomatöz polip
CA	: Karsinoma
CIMP	: CpG island methylator phenotype
CIN	: Kromozomal instabilite
EGFR	: Epidermal growth factor reseptor
ERK	: Extracellular signal regulated kinase
GSK	: Glikojen sentetaz kinaz
HP	: Hiperplastik polip
KonCA	: Konvansiyonel adenokarsinoma
KSA	: Klasik “serrated” polip
LVI	: Lenfovasküler invazyon
M	: Membranöz ekspresyon
MAPK (MEK)	: Mitogen-activated protein kinase
MMR	: Mismatch repair
MSI	: Microsatellite instability
mTOR	: Mammalian target of Rapamycin
MüsCA	: Müsinöz adenokarsinoma
N	: Nükleer ekspresyon
N+S	: Nükleer+sitoplazmik ekspresyon
PI3K	: Phosphatidyl inositole-3 kinase
PTEN	: Phosphatase and tensin homologue
RAS	: Murine sarcoma virus oncogene
RAF	: Murine sarcoma viral oncogene
S	: Sitoplazmik ekspresyon
S+M	: Sitoplazmik+membranöz ekspresyon
SP	: “Serrated” polip
SSA	: Sesil “serrated” polip
TA	: Tübüler adenoma
TVA	: Tübülovillöz adenoma
VA	: Villöz adenoma

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 3.1.	Olgu Grupları	37
Tablo 3.2.	Deparafinizasyon Basamakları	43
Tablo 3.3.	Streptavidin Biotin Peroksidaz Yöntemi.....	42
Tablo 3.4.	Kullanılan Antikorların Özellikleri.....	43
Tablo 4.1.	Çalışmada incelenen olgu grupları.....	47
Tablo 4.2.	Polip ve karsinoma alt tiplerine göre yaş dağılımı aralıkları ve ortalama değerleri	51
Tablo 4.3.	Polip ve karsinoma alt tiplerinin sağ ve sol kolon lokalizasyonuna göre dağılımı	53
Tablo 4.4.	Polip ve karsinoma alt tiplerine göre çap (mm.).....	54
Tablo 4.5.	Polip alt tiplerinde displazi	55
Tablo 4.6.	Polip ve karsinoma gruplarında MEK1 ekspresyonu	59
Tablo 4.7.	Polip ve karsinoma alt tiplerinde MEK1 ekspresyon şiddeti oranları	61
Tablo 4.8.	Polip ve karsinoma alt tiplerinde MEK1 ekspresyon şiddetinin ortalamaları.....	61
Tablo 4.9.	Polip ve karsinoma alt tiplerinde MEK1 ekspresyonunun hücre içi lokalizasyonları	62
Tablo 4.10.	Polip ve karsinoma gruplarında ERK1 ekspresyonu	65
Tablo 4.11.	Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK1 ekspresyon şiddeti oranları	67
Tablo 4.12.	Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK1 ekspresyon şiddetinin ortalamaları.....	67
Tablo 4.13.	Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK1 ekspresyonunun hücre içi lokalizasyonları	68
Tablo 4.14.	Polip ve karsinoma gruplarında ERK2 ekspresyonu	71
Tablo 4.15.	Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK2 ekspresyon şiddeti oranları	73

Tablo 4.16.	Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK2 ekspresyon şiddetinin ortalamaları	73
Tablo 4.17.	Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK2 ekspresyonunun hücre içi lokalizasyonları	74
Tablo 4.18.	Polip ve karsinoma gruplarında PI3K ekspresyonu	77
Tablo 4.19.	Olgu alt tiplerinde PI3K ekspresyon şiddeti oranları	79
Tablo 4.20.	Polip ve CA tiplerinde PI3K ekspresyon şiddetinin ortalamaları	79
Tablo 4.21.	Polip ve karsinoma alt tiplerinde PI3K ekspresyonunun hücre içi lokalizasyonları	80
Tablo 4.22.	Polip ve karsinoma gruplarında PTEN ekspresyonu	83
Tablo 4.23.	Olgu alt tiplerinde PTEN ekspresyon şiddeti oranları	85
Tablo 4.24.	Polip ve CA tiplerinde PTEN ekspresyon şiddetinin ortalamaları	86
Tablo 4.25.	Polip ve karsinoma alt tiplerinde PTEN ekspresyonunun hücre içi lokalizasyonları	87
Tablo 4.26.	Polip ve karsinoma gruplarında pAKT ekspresyonu	90
Tablo 4.27.	Olgu alt tiplerinde pAKT ekspresyon şiddeti oranları	92
Tablo 4.28.	Polip ve CA tiplerinde pAKT ekspresyon şiddetinin ortalamaları	93
Tablo 4.29.	Polip ve karsinoma gruplarında pAKT ekspresyonunun hücre içi lokalizasyonları	94
Tablo 4.30.	Polip ve karsinoma gruplarında mTOR ekspresyonu	97
Tablo 4.31.	Olgu alt tiplerinde mTOR ekspresyon şiddeti oranları	100
Tablo 4.32.	Polip ve CA tiplerinde mTOR ekspresyon şiddetinin ortalamaları	100

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	APC geni.....	18
Şekil 2.2.	APC- β Catenin Sinyal Arayolu	18
Şekil 2.3.	MSI-H fenotip gelişimi.....	20
Şekil 2.4.	CpG Adalarının Metilasyonu.....	21
Şekil 2.5.	Kolorektal karsinogenez modelleri.....	22
Şekil 2.6.	RAS sinyal iletiminde yer alan “down stream” moleküller ve rolleri	24
Şekil 2.7.	EGFR Sinyal Yolağı.....	26
Şekil 2.8.	RAS/RAF/MAPK Arayolu ve PI3K/AKT/mTOR Arayolu	27
Şekil 2.9.	RAS aracılı sinyal iletimi	28
Şekil 2.10.	PI3K/AKT/mTOR Arayolu	31
Şekil 2.11.	EGFR Sinyal Yolağında Kolorektal Kanser Tedavisi İçin Potansiyel Hedefler	35
Şekil 3.1.	RAS aracılı sinyal iletim yolları	41
Şekil 4.1.	Polip ve karsinoma gruplarına göre cinsiyet dağılımı	48
Şekil 4.2.	Polip ve karsinoma alt tiplerine göre cinsiyet dağılımı	49
Şekil 4.3.	Olgu gruplarına göre yaş ortalama değerleri	49
Şekil 4.4.	Polip ve karsinoma alt gruplarına göre yaş ortalama değerleri	50
Şekil 4.5.	Polip ve karsinoma alt tiplerine göre yaş ortalama değerleri	51
Şekil 4.6.	Polip ve karsinoma alt gruplarına göre lokalizasyon.....	52
Şekil 4.7.	Polip gruplarında displazi oranları	54
Şekil 4.8.	Polip alt tiplerinde displazi oranları.....	55
Şekil 4.9.	Karsinoma gruplarında grade dağılımı	56
Şekil 4.10.	Karsinoma gruplarında tümör invazyon derinliği oranları	57
Şekil 4.11.	Karsinoma gruplarında lenf nodu metastaz dağılımı.....	57
Şekil 4.12.	Karsinoma gruplarında uzak organ metastaz dağılımı	58
Şekil 4.15.	Polip ve karsinoma gruplarında ERK1 ekspresyonu	66
Şekil 4.16.	Polip ve karsinoma gruplarında ERK1 ekspresyonunun hücre içi dağılımı.....	69

Şekil 4.17 .	Polip ve karsinoma gruplarında ERK2 ekspresyonu	72
Şekil 4.18.	Polip ve karsinoma gruplarında ERK2 ekspresyonunun hücre içi dağılımı	75
Şekil 4.19.	Polip ve karsinoma gruplarında PI3K ekspresyonu	78
Şekil 4.20.	Polip ve karsinoma gruplarında PI3K ekspresyonunun hücre içi dağılımı	81
Şekil 4.21.	Polip ve karsinoma gruplarında PTEN ekspresyonu	84
Şekil 4.23.	Polip ve karsinoma gruplarında pAKT ekspresyonu.....	91
Şekil 4.26.	PI3K Ekspresyon Oranları.....	103
Şekil 4.27.	PTEN Ekspresyon Oranları	103
Şekil 4.28.	pAKT Ekspresyon Oranları	104
Şekil 4.29.	mTOR Ekspresyon Oranları	104
Şekil 4.30.	MEK1 Ekspresyon Oranları	105
Şekil 4.31.	ERK1 Ekspresyon Oranları	105
Şekil 4.32.	ERK2 Ekspresyon Oranları	106

RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1.	Olgu Tipleri.....	38
Resim 3.2.	Doku “Array” Yöntemi	40
Resim 4.1.	Olgu Tiplerinde MEK1 Ekspresyonu	64
Resim 4.2.	Olgu Tiplerinde ERK1 ekspresyonu	70
Resim 4.3.	Olgu Tiplerinde ERK2 Ekspresyonu	76
Resim 4.4.	Olgu Tiplerinde PI3K Ekspresyonu	82
Resim 4.5.	Olgu Tiplerinde PTEN Ekspresyonu	89
Resim 4.6.	Olgu Tiplerinde pAKT Ekspresyonu	96
Resim 4.7.	Olgu Tiplerinde mTOR Ekspresyonu	102

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal karsinomalar, Batı’da, akciğer ve meme karsinomalarından sonra en sık ölüme neden olan malignite grubunu oluşturmakta ve son yıllarda insidansı, ülkemiz dahil olmak üzere, birçok ülkede artış göstermektedir. Kolorektal karsinoma tedavisinde başarı sağlanabilmesi için, erken tanınması ve risk altındaki popülasyonun belirlenmesine gereksinim vardır. Bu nedenle, kolorektal karsinomanın prekürsör lezyonlarının tanınması, bu lezyonların kolorektal karsinogenezdeki yerlerinin bilinmesi ve kolorektal karsinogenezde etkili moleküler mekanizmaların anlaşılması gerekmektedir.

Hedefe yönelik tedavide kullanılabilecek kısıtlı sayıda terapötik ajana karşı tümör direncinin gelişmesi ve bu ajanlarla uygulanan tedavi maliyetinin yüksek oluşu, tedavi için yeni moleküler hedeflerin bulunmasını zorunlu kılmaktadır. Son yıllarda, özellikle kolorektal karsinomlarda, metastatik hastalıkta KRAS mutasyonu göstermeyen olgularda anti-EGFR tedavi yaklaşımının giderek yaygınlaştığı görülmektedir. Kolorektal karsinomaların %30-40 kadarında izlenen aktive edici KRAS mutasyonlarının ise, anti-EGFR tedavilerine olumsuz yanıt ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Anti-EGFR tedavisi KRAS mutasyonu bulunmayan olgulara verilmekle birlikte, “wild type” KRAS, tedavi sensitivitesini öngörmeye yeterli değildir. Bu nedenle, KRAS aktivasyonunun hedefe yönelik kanser tedavisi seçimindeki rolü düşünüldüğünde, tümörlerdeki RAS aktivasyonun saptanmasında optimal yöntemlerin belirlenmesinin önemi açığa çıkmaktadır. Ancak, RAS arayol aktivasyonuna yol açan mekanizmaların karmaşıklığı, bu arayolun daha ayrıntılı çalışılması gereğini ortaya koymaktadır.

EGFR aktivasyonu ile ana sinyal iletim arayolu, RAS sinyal iletimi başlatılmaktadır. RAS proteinleri iki ayrı sinyal iletim arayolunu, RAF/MEK/ERK ve PI3K/AKT’ı değişen derecelerde aktive etme yeteneğine sahiptirler. KRAS birinci arayolda daha etkinken, HRAS ikinci arayolun daha potent aktivatörüdür. Bu iki arayol, ekstrasellüler sinyalleri, büyüme, proliferasyon, differansiasyon, migrasyon

ve apoptoz gibi temel hücrel olguları kontrol eden mekanizmaya bağlayan ve günümüze dek en iyi tanımlanmış olan kaskadlardır. Bu nedenle, bu arayollardaki moleküler aberasyonlar, kanser gelişimi ve progresyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Bu kaskadlarda birbiriyle uyum içinde çalışan, gen mutasyon ya da amplifikasyonu gibi çeşitli mekanizmalarla aktive olan bir dizi protein ve lipid kinaz yer almaktadır. Bu arayolların kanser biyolojisindeki rollerinin anlaşılması, EGFR ve benzeri reseptör tirozin kinazların amplifikasyonu ve PTEN, PI3K, AKT, RAS, RAF gibi moleküllerdeki genetik değişiklikler gibi arayolun temel moleküllerindeki anomalilerin ve kanserdeki fenotipik etkilerinin tanımlanmasını sağlamıştır. RAS ve PI3K arayollarının paralel ya da komplementer olarak çalıştıkları ve bu nedenle optimal tedavi yanıtının ancak her iki arayolun inhibisyonu ile sağlanabileceği düşünülmektedir.

Ayrıca, yalnız invaziv kanserlerde değil, tümör öncüsü kolorektal poliplerde de bu arayollarda rol oynayan moleküllerin aberasyonlarının ve karsinogenezdeki rollerinin ortaya konması, neoplastik progresyonu öngörmede potansiyel hedef mekanizmaları oluşturacaktır.

Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada kolorektal karsinom gelişiminde ve tedavi seçiminde rol oynayabilecek RAS sinyal iletim kaskadının iki arayolu; RAS-MAPK arayolunda yer alan MEK1, ERK1, ERK2 ile, komplementer arayol RAS/PI3K/AKT arayolunda yer alan PI3K, PTEN, pAKT, mTOR moleküllerinin geniş bir seride, öncü lezyonlar ve kolorektal karsinomaları içeren olgu gruplarında doku ekspresyonları açısından değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KOLOREKTAL KARSİNOMA

2.1.1. Epidemiyoloji

Kolorektal karsinomaların, erkeklerde akciğer, prostat ve mide; kadınlarda ise meme ve uterin serviks kanserinden sonra en sık görülen neoplazi olduğu bilinmektedir. Dünya genelinde tüm yeni tanı alan kanserler içinde kolorektal karsinomalar 9,7 oranına sahip olup, yılda yaklaşık 1,23 milyon yeni vaka bildirilmektedir (1,2).

Kolorektal karsinomaların gelişmiş ülkelerde 40-60/100 000 gibi yüksek oranlarda gözlenmesine karşın, diğer ülkelerde görece daha düşük oranlarda görülmesi, etyolojide yaşam ve beslenme biçimi ve diğer çevresel faktörlerin önemini göstermektedir (1). Bir ileri yaş hastalığı olarak kabul edilen ve insidansı yaşla birlikte artan kolorektal karsinomalar, genetik predispozisyon veya idiopatik inflamatuvar barsak hastalığı (İİBH) gibi predispozan durumlar dışında, 40 yaş öncesinde enderdir. Genç yaşta görülen kolorektal karsinomalarda, zeminde İİBH veya herediter kolorektal karsinoma sendromu varlığından şüphelenilmelidir.

Kolorektal karsinomalar sıklıkla sigmoid veya rektumda lokalizedir. Yaş ilerledikçe proksimal yerleşimli tümörlerin görülme sıklığı artar (3,4). Rektum yerleşimli tümörlerde, erkek ve kadınlarda görülme oranı 1,2:1 iken daha proksimalde izlenen tümörlerde erkek-kadın dağılımı arasında fark yoktur (5).

Kolorektal karsinomaya bağlı ölüm oranları, insidansının yaklaşık yarısı kadardır. Ancak, uygulanan tedavilere bağlı olarak ölüm oranlarında belirgin değişiklikler görülebilmektedir (1,2). Her ne kadar kanser insidansının yüksek olduğu gelişmiş ülkelerde ölüm oranlarının daha düşük olduğu bildirilse de, bazı ülkelerde kolorektal karsinoma, kansere bağlı ölümlerin hala en sık sebebidir.

2.1.2. Etyoloji

Kolorektal karsinoma gelişme riski, kişiye bağlı yapısal farklılıklar ve çevresel etkenlerden etkilenmektedir. Yaş, genetik temel ve uzun süren İİBH, etkisi kanıtlanmış, en sık görülen kişisel risk faktörleridir. Kolorektal karsinoma genel olarak orta ve ileri yaş hastalığıdır. Erkeklerde kadınlara oranla daha fazla görülmektedir ve bunun hormonal yapıya bağlı olabileceği düşünülmektedir (6).

Sporadik kolorektal karsinomaların çoğu batı tipi diyet ve sedanter yaşam birlikteliğinde gelişmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, obezite, kırmızı et tüketimi, sigara ve alkol tüketiminin en önemli bireysel risk faktörleri olduğunu ortaya koymuştur. Bunun yanında, sebze ve meyve tüketimi, tam tahılların kullanımı, kalsiyum, D vitamini ve uzun süreli non-steroid anti-inflamatuar (NSAID) kullanımı, kadınlarda östrojen replasman tedavisi ve fiziksel aktivitelerin riski azalttığı bildirilmektedir (1)

Hereditör Faktörler: Birinci ve ikinci derece akrabalarda izlenen kolorektal karsinomalar da göz önünde bulundurulduğunda, günümüzde kolorektal karsinomaların %15-30 kadarında baskın bir hereditör komponent bulunduğu tahmin edilmektedir. Bu vakaların yaklaşık dörtte birinde (tüm kolorektal karsinomaların %5'ten az bir kısmı) aile hikayesi ve/veya kansere yatkınlık oluşturduğu bilinen Mendelyan kanser sendromlarına ait klinik özellikler mevcuttur. Bu vakaların büyük bir kısmı hereditör non-polipozis kolorektal karsinoma (HNPCC) sendromu, diğerleri ise familyal adenomatöz polipozis (FAP) ve FAP ilişkili sendromlar ile diğer polipozis sendromları içinde yer almaktadır. Ailesel kolorektal karsinoma sendromları tüm kolorektal karsinoma vakalarının oldukça az bir kısmını oluştursa da, kalıtsal vakaların moleküler temellerini ortaya koymaya yönelik çalışmalar, sporadik kolorektal karsinoma gelişimine yol açan spesifik faktör ve mekanizmalara ait bilgilerin elde edilmesini sağlamıştır.

FAP, çok sayıda kolorektal adenomların varlığı ile karakterli otozomal dominant bir sendromdur. Adenomatöz polipozis coli (APC) geninde germline mutasyon sonucu ortaya çıkar. Klasik FAP tanısı için kolonda en az yüz polip bulunması gerekir, ancak çoğu kez binlerce polip izlenir. FAP vakalarında “flat”

veya deprese adenomlar yanı sıra normal mukozada bir veya iki displastik kriptten oluşan aberan kript odağı ya da mikroskopik adenomlar sık görülür. FAP olgularında sıklıkla 30 yaştan önce kolorektal karsinom gelişme ihtimali %100'dür ve bu hastalarda standart tedavi profilaktik kolektomidir. Ancak, adenomların gastrointestinal sistemde (GIS), kolon dışında da ortaya çıkabilecek olması (özellikle ampulla vateri çevresi ve mide) nedeniyle hastalar, kolektomi sonrası da malignite riski taşımaya devam ederler (5).

Spesifik APC mutasyonları sonucu Gardner ve Turcot Sendromları olarak tanımlanmış FAP varyantları ortaya çıkabilir. Gardner Sendromunda, gastrointestinal adenomlar yanı sıra, mandibula, kafatası ve uzun kemiklerde osteomlar, epidermoid kistler, tiroid tümörleri ve diş problemleri bulunur. Daha nadir olan Turcot Sendromunda ise, gastrointestinal adenomlara santral sinir sistemi tümörleri eşlik eder. Turcot Sendromlu hastaların 2/3'ünde APC gen mutasyonu bulunur ve hastalarda medulloblastoma gelişimi gözlenir. Diğer 1/3 hastada DNA tamirinden sorumlu çok sayıda gende mutasyon bulunur ve hastalarda glioblastom gelişir. Bazı APC mutasyonları, polip gelişiminin daha ileri yaşlarda meydana geldiği, polip sayısının yüzden az olduğu, kolorektal karsinoma gelişme yaşının da daha ileri (50 ve ileri) olduğu "atenüe" FAP sendromu ile ilişkili bulunmuştur (5).

Lynch Sendromu olarak da bilinen, hereditör non-polipozis kolorektal karsinoma (HNPCC) hastalarında, kolorektal kanserler dışında, endometriyum, mide, over, üreter, beyin, ince barsak, hepatobiliyer sistem ve deri tümörleri görülür. HNPCC hastalarında, sporadik olanlara göre daha genç yaşlarda ve sıklıkla sağ kolon yerleşimli kolorektal karsinoma gelişir (5). HNPCC, DNA replikasyonu sırasında ortaya çıkan hataların tespiti, çıkarılması ve tamirinden sorumlu proteinleri kodlayan genlerin ("mismatch repair gene" – MMR) "germline" mutasyonu sonucu ortaya çıkar. HNPCC hastaları, DNA tamir geni allellerinin biri normal biri mutant olarak doğarlar. İkinci allelde mutasyon veya fonksiyon bozukluğu sonucu meydana gelen kayıp, MMR defektine yol açar. Bu nedenle, özellikle mikrosatellit olarak adlandırılan kısa DNA tekrar dizilerini bulunduran bölgelerde normalden 1000 kat daha fazla oluşan mutasyonlar hızla birikir. İnsan genomu yaklaşık 50.000 – 100.000

kadar, DNA replikasyonu sırasında genişleme eğilimi gösteren ve en sık HNPCC’de rastlanan mutasyon bölgelerini oluşturan mikrosatellitler bulundurur (5).

Diğer gastrointestinal polipozis sendromlarında da GIS veya GIS dışı kanser riskinde artış gözlenmektedir. Bunlarda adenomlar değil, çoğunlukla hiperplastik, hamartomatöz ya da inflamatuvar tipte, daha çok reaktif proliferasyonlar olarak değerlendirilebilecek polipler görülür. Ancak bu poliplerde de displazi ve karsinom gelişimi görülebilmektedir.

Juvenil polipozis sendromunda (JPS), kolon ve mide başta olmak üzere, GIS boyunca çok sayıda hamartomatöz polip gelişir. Histolojik olarak juvenil polipler, içi mukus dolu kistik genişleme gösteren glandlar ve geniş, ödemli, inflamatuvar hücrelerin yer aldığı lamina propria ile karakterlidir. JPS’de genellikle 60 yaş sonrası kolorektal karsinoma gelişimi gözlenir. JPS hastalarında ayrıca mide kanseri ve daha az oranda intestinal ve pankreatik kanser insidansı da artmıştır. Bu hastalarda transforming growth factor β (TGF- β) sinyal ara yolunda fonksiyon gören proteinleri kodlayan SMAD4 ve BMPR1A gen mutasyonları bildirilmiştir(4).

Otozomal dominant geçişli bir hamartomatöz polipozis sendromu olan Cowden sendromu ise, meme, tiroid, deri, santral sinir sistemi (SSS) ve GIS’te hamartomatöz lezyonlarla karakterlidir. PTEN (phosphatase and tensin homolog) tümör supresör gen mutasyonu bu sendromdan sorumlu tutulmaktadır (4). Bir fosfolipid fosfataz gibi davranan PTEN proteini fosfatidil inozitol 3-kinaz (PI3K) ara yolunun önemli bir antagonistidir. Gastrointestinal polipler olguların %35’inde görülür. Cowden sendromunda görülen polipler malign potansiyel taşımazlar(4).

Cronkhite-Canada sendromu nonherediterdir. Gastrointestinal polipozisle birlikte alopesi, tırnak atrofisi ve deride hiperpigmentasyon bulunur. Diğer polipozis sendromları erken başlangıçlı olmasına rağmen, bu sendromda olguların %80’i 50 yaştan sonra görülmektedir. En karakteristik özellikleri, histolojik olarak juvenil poliplerden ayrımı yapılamayan mide, ince barsak, kolon ve rektum yerleşimli poliplerdir. Tırnak atrofileri, saç kaybı mukokutanöz hiperpigmentasyon veya hipopigmentasyon da görülebilir. Altta yatan moleküler patoloji henüz aydınlatılmamıştır (5).

Peutz-Jeghers sendromu (PJS), gastrointestinal hamartomatöz polipler ve mukokutanöz pigmentasyon ile karakterlidir. Pankreas, özofagus, akciğer, over, testis, uterin serviks ve endometriyum kanserleri gözlenebilir. Olguların büyük çoğunluğunda LKB1/STK11 tümör supresör geninde germ-line mutasyon bildirilmiştir (5).

Diyet: Yapılan çok sayıda çalışmaya rağmen “batı tipi” diyetin riski arttırdığı konusu hala tartışmalıdır. Riskin artmasında hangi diyet bileşenlerinin önemli olduğunu ortaya koymak oldukça güçtür. Yüksek kalorili, kırmızı et ve özellikle hayvansal yağdan zengin diyetler çok sayıda çalışmada değerlendirilmiştir (6). Heterosiklik aminlerin üretimi, yüksek safra asiti düzeyleri ve reaktif oksijen türevlerinin üretimi ile insülin düzeyindeki artış, bu etkinin olası mekanizmaları arasında yer almaktadır. Sebze ve lifli gıda tüketimi ile risk arasında ise ters ilişki bulunmaktadır. Bu etki, anti-karsinojenler, antioksidanlar, folat, luminal karsinojenlere bağlanan detoksifiye edici enzimlerin artışı, diyetteki liflerin fermantasyonu sonucu doymamış yağ asitlerinin üretimi veya luminal transit hızında artışa bağlı luminal epitel ile temas süresinin azalmasıyla ortaya çıkabilir (6). Epidemiyolojik risk faktörlerinin ortaya çıkardığı moleküler değişiklikler, gıdaların makro ve mikro bileşenleri, gıda hazırlama teknikleri, hormonal etkiler, genetik yapı ve diyetin genetik yapı üzerindeki etkilerinin bu değişiklikleri çok yüksek oranda etkilemesi nedeniyle henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Gizli kalmış etyolojik faktörleri ortaya koymada, mevcut araştırma yöntemleri yetersiz kalmaktadır. Kolorektal karsinoma öncüsü olan kolorektal adenom tanısı almış hastalar arasında, kansere ilerlemeyi önleyici stratejilerin belirlenmesi amacıyla çeşitli klinik deneyler yapılmıştır (7). Alkol alımı kolorektal karsinoma riskini arttırmaktadır. Oral yolla kullanılan terapötik ajanların sindirim kanalı mukozası üzerine direk etkileri de kolorektal karsinoma riskini etkilemektedir. NSAID kullanımı ve kolorektal karsinoma riski arasında ters ilişki bulunmaktadır (6).

Kronik inflamasyon: Ülseratif kolit, Crohn hastalığı ve Schistosoma mansoni enfeksiyonu gibi kronik inflamatuvar barsak hastalıkları kolorektal karsinoma için risk faktörleridir (4,8,9). Yapılan çok sayıda çalışma, İİBH ve karsinoma gelişimi arasında ilişki olduğunu ortaya koymuştur (6). Crohn

hastalığında izlenen risk, eşit oranda ve şiddette tutulum bulunan ülseratif kolitte gözlenen risk oranlarıyla benzerdir.

Ülseratif Kolit: Kronik kolit ilişkili kolorektal kanserlerin morfolojisi sporadik karsinomalardan farklıdır (10-12). Onbeş yaşından önce ülseratif kolit tanısı almış pankolit tablosu bulunan hastalarda, 30 yaşından sonra kolorektal karsinoma gelişme riski %30 oranında artar. Toplum tabanlı çalışmalarda kolorektal karsinoma bağlı ölümlerde 4,4 kat artış saptanırken (4,13-15), klinik çalışmalarda kanser insidansında 20 kat artış izlenmiştir (4,16,17). Kolonun yaygın olarak tutulduğu vakalarda kolorektal karsinoma gelişme riski, tutulumun sınırlı olduğu distal tip ülseratif kolitlere oranla üç kat fazla bulunmuştur (4,18,19). Ülseratif kolit ilişkili kolorektal karsinomalar genellikle birden fazla odakta gelişebilen, kolon mukozası ile aynı seviyede olup, infiltratif özellik gösteren, müsinoz karakterde veya taşlı yüzük hücrelerinden oluşan tümöral lezyonlardır (4). Karsinomalar, değişken makroskopik görünümlere sahip, histopatolojik olarak inflamasyona bağlı reaktif epitelyal değişikliklerden ayrımda güçlük yaratabilen, düşük ve yüksek dereceli displazi zemininde gelişirler (4,20). İnflamasyonlu alanlarda gelişen displastik lezyonlar (displazi-assosiyasyon lezyon veya kitle-DALM) polip, plak ya da güçlükle fark edilebilecek kadifemsi alanlar şeklinde izlenebilir. Tanı için çok sayıda biyopsi alınması gereklidir. DALM saptanan olgularda karsinoma riski oldukça yüksektir ve kolektomi endikasyonu bulunur. Ancak, bazı durumlarda kolit ilişkili displazi, polipektomi ile tamamen tedavi edilebilecek olan bir sporadik adenomdan ayırım çok zor olabilir. Bu durumda, komşu mukozadaki değişiklikler tanıda yardımcı olabilir (4,21-23).

Crohn Hastalığı: Crohn hastalığında hem ince barsak, hem de kolon karsinomalarında artmış risk söz konusudur. Kolorektal karsinoma gelişme riski, kronik inflamatuvar barsak hastalığı bulunmayan bireylere oranla üç kat fazladır (4,24,25). Erken başlangıç ve uzun süreli hastalık varlığı, ülseratif kolitte olduğu gibi, riski arttıran nedenler arasındadır. Gelişen tümöral lezyonun özellikleri, ülseratif kolit zemininde gelişen tümörlere benzemekle birlikte, Crohn hastalığında sık görülen perianal fistül içerisinde adenokarsinoma ve anal bölgede yassı hücreli karsinoma gelişimi de görülebilmektedir (4,26).

Diğer: Sigara kullanımı ve kolorektal karsinoma arasında izlenen ilişki, diğer tütün ilişkili kanserlere oranla daha zayıftır (6). Üreterosigmoidostomi ve pelvik radyoterapi, nadir olmalarına karşın kolorektal karsinogeneizde rol oynadığı bilinen risk faktörleri arasındadır (4,27,28).

2.2. KLOREKTAL KARSİNOMADA ÖNCÜ LEZYONLAR

Kolorektal karsinogeneiz çok basamaklı ve uzun bir süreçte meydana gelir. İlk olarak 1962 yılında Morson tarafından tanımlanan (29) adenoma-karsinoma sekansında rol alan moleküler değişiklikler, 1990'lı yılların başında Fearon ve Vogelstein tarafından ortaya konmuştur (30). Sporadik karsinomaların yaklaşık %60 kadarı adenoma-karsinoma sekansı üzerinden karsinoma ilerlemektedir. Bu süreçte yer alan prekürsör lezyonlar, değişen derecelerde intraepitelyal neoplazi potansiyeline sahip olan tübüler adenom, tübülovillöz adenom ve villöz adenomdur. Son yıllarda tanımlanan diğer bir karsinogenetik arayol "serrated" neoplazi sekansı olup, buradaki öncü lezyonlar "serrated" poliplerden oluşmaktadır. Daha önceleri "serrated" morfolojiye sahip tüm polipoid lezyonlar hiperplastik veya metaplastik polip olarak adlandırılırken, günümüzde bu lezyonların birbirlerinden gerek moleküler, gerekse morfolojik olarak ayrılabilen alt gruplardan oluştuğu bilinmekte (4,31,32) ve hiperplastik polip terimi bu arayolda yer alan en küçük öncü lezyonları tanımlamak için kullanılmaktadır. Her iki sekansta yer alan öncü lezyonların, normal mukozada, tek bir kript epitel hücreesindeki moleküler değişikliklerin ortaya çıkardığı morfolojik değişiklikler olarak olarak başladığı ve değişiklikleri gösteren kriptlerin aberan kript odağı olarak isimlendirildiği bilinmektedir.

2.2.1. Aberan Kript Odağı

Aberan kript odakları, kolorektal mukozanın metilen mavisi ile boyandığı rezeksiyon materyallerinde veya "magnifying" endoskop ya da kromoendoskopi makroskopik olarak görülebilen anormal kript ya da kript gruplarıdır. Kript çapı ve kripti döşeyen hücre sayısında meydana gelen artış sonucu epitelde girintili çıkıntılı, düzensiz görünüm de alabilen kriptlerin lokalize birlikteliği ile karakterlidir. Çok sayıda aberan kript odağının görülmesi neoplastik bir gelişimle ilişkili olsa da, sporadik aberan kript odaklarının klinik önemi henüz bilinmemektedir (33,34).

Mikroskopik özelliklerine göre iki ana gruba ayrılır:

1-Hiperplastik tip: Epitel hiperplastik-“serrated” özelliktedir.

2-Displastik tip (Mikroadenomlar): Epitel adenomatöz tiptedir.

2.2.2. Adenomatöz Polipler

Adenomlar intraepitelyal neoplazilerdir. Küçük, genellikle saplı veya büyük genellikle sesil olacak şekilde, geniş bir spektruma sahiptirler. Kolon adenomlarının sıklığı 40 yaş öncesi %20-30 civarında olup, 60 yaştan sonra sıklığı artarak %40-50'ye ulaşır (5). Kadın ve erkekte eşit oranda görülür. Sporadik adenom gelişiminde ailesel bir eğilim bulunduğu bilinmektedir. Adenomlu bireylerin birinci derece akrabalarında hem adenom gelişme riski, hem de kolorektal karsinom riski 4 kat daha fazladır (5). Bir adenomatöz polibin malignite riski, birbirinden bağımsız üç özellik ile korelasyon gösterir: polip çapı, histolojik yapı ve epitelyal displazi derecesi. Adenomlar yapısal özelliklerinde göre tübüler, tübülovillöz ve villöz adenomlar olarak sınıflandırılırlar.

2.2.2.1. Tübüler Adenom

Polibin %75'ten fazlası tübüler biçimde glandlardan oluşur. En sık görülen adenomlardır. Küçük tübüler adenomlar düzgün konturlu ve sesil özelliktedir. Büyük lezyonlar, lobüle konturlu olabilir ve sap bulundurabilir. Histolojik olarak sap, fibromusküler doku ve kan damarlarından oluşur ve genellikle normal kolon mukozası ile dökşenme gösterir.

2.2.2.2. Villöz Adenom

Polibin %50'den fazlası villöz uzantılardan oluşur. Yaşlı hastalarda ve en sık rektum ve rektosigmoidde görülürler. Genellikle sesil, çapları >2cm (bazen 10 cm.'i aşabilen), kadifemsi veya karnibahara benzeyen kitleler oluştururlar. Histolojik olarak mukozadan eğreltiotu yaprağı gibi viliform çıkıntılar şeklinde yükselirler. Displastik, bazen ileri derecede düzensiz kolumnar epitel ile örtülüdür (5).

2.2.2.3. Tübülovillöz Adenom

Tübüler ve villöz yapılar bir arada görülür. İn-situ veya invaziv karsinoma gelişme riski, lezyondaki villöz bölümün oranı ile korelasyon gösterir.

Çapı bir cm.'den büyük, daha yaygın villöz yapı bulunduran, yüksek dereceli displazi veya neoplazi bulunduran adenomlar “ilerlemiş (“advanced”) adenom” olarak adlandırılır (35).

2.2.2.4. Adenomatöz Poliplerde Displazi

Kural olarak adenomatöz epitel düşük dereceli displazi göstermektedir. Bu nedenle bu polip grubunda ancak ağır displazinin varlığı neoplastik progresyon açısından önem taşımaktadır.

2.2.3. “Serrated” Polipler

“Serrated” polip terimi, yüzeyinde ve kript epitelinde testere dişi benzeri girintileri bulunan polipleri tanımlamak için kullanılır. Bu görünüm, yüzey epitelinin apoptozla dökülmesinin inhibisyonu yanı sıra, proliferasyon zonunun kriptin orta veya üst kısımlarına doğru genişlemesinin de bir sonucudur (36). “Serrated” polip ailesi, sesil “serrated” polip olarak da isimlendirilen sesil “serrated” adenomlar (SSA/P), “traditional” (klasik) “serrated” adenomlar (KSA), hiperplastik polipler (HP) den oluşmaktadır. HP’lerin, SSA ve KSA’lardan ayrımında yapısal kriterler kullanılırken, KSA’ların ayrımında sitolojik özellikler dikkate alınmaktadır (32).

“Serrated” adenom terimi ilk olarak, 1990 yılında, Longacre ve Fenoglio Preiser tarafından, HP’ler ve adenomatöz poliplerin özelliklerini bir arada içeren lezyonları tanımlamak için kullanılmıştır (37). Daha sonraki yıllarda, Torlakoviç ve Snover, (38) hiperplastik polipozis sendromunda karakteristik olarak görülen polip tipini tanımlamış ve sesil “serrated” adenom terimini kullanmışlardır. Her ne kadar iki tanım birbirinden farklı lezyonları tanımlamak için kullanılsa da, 2003 yılına kadar yapılan bazı çalışma ve yayınlarda eşanlamlı terimler olarak işlev görmüştür (36,39). Sonraki çalışmalar (31,40-44) ve özellikle 2010 yılında yayınlanan Dünya

Sağlık Örgütü (DSÖ) klasifikasyonuna göre bu lezyonların farklı moleküler özelliklere sahip bir ailenin, birbirinden farklı üyeleri oldukları belirtilmiştir (32).

2.2.3.1. Hiperplastik Polip (HP)

“Serrated” polip ailesi içerisinde günlük rutinde en sık görülen lezyonlar HP’lerdir. Kullanılan terminoloji, bazı yazarlar tarafından doğru bulunmamaktadır, çünkü, bu terim gerçek “hiperplastik” veya “metaplastik” lezyonları tanımlamaktan çok, “serrated” lezyonların en yavaş ilerleyen ve en küçük lezyonlarını anlatmaktadır (32). Tüm “serrated” poliplerin yaklaşık olarak %80-90’ını oluşturan bu lezyonların asemptomatik bireylerde izlenme sıklığı %10-12,5 arasındadır. Son yıllara kadar non-neoplastik bir lezyon olduğu düşünülen HP’ler, genellikle 1-5 mm. çaplı, sesil veya mukozadan hafif kabarık, hemisferik poliplerdir. Sıklıkla distal kolon veya rektumda yerleşim gösterirler. Bir cm.’den daha büyük çapa sahip, multipl (10-20) ve/veya proksimal kolon yerleşimli HP’lerde kolorektal karsinoma gelişme riskinde artış söz konusudur (32,45-47).

Mikroskopik olarak bu lezyonlar, epitelde değişen derecelerde “serration” bulunduran, birbirine paralel yerleşimli, uzamış kriptlerin varlığı ile karakterlidir (44) (32). Kriptler yüzeyden tabana doğru giderek daralır ve bu, kriptte, tepe noktası aşağı bakan bir üçgene benzeyen görünüm verir (dekresendo patern) (36). Epitelyal “serration” luminal yüzeyde ve kriptlerin 1/3 üst kısmında belirgindir. Normal mukozaya benzer şekilde, proliferatif aktivite, kriptin bazal 1/3’ünde izlenir (32). HP’lerde, genellikle, yüzey epitelinin altında kalın bir bazal membran bulunur. HP’ler müsin içeriklerine göre üç alt tipe ayrılırlar (31):

- Goblet hücrelerinden zengin tip: Genel olarak distal kolorektumda yerleşimlidir. Epitel goblet hücrelerinden zengindir ve epitelyal “serration” belirsizdir. Sitolojik displazi bulundurmazlar. KRAS mutasyonlarını en sık bulunduran HP’lerdir.
- Mikroveziküler tip: En sık görülen HP tipidir. Tüm kolonda dağınık olarak yerleşirler. Epitelyal hücrelerde küçük sitoplazmik müsin vakuolleri bulunur ve arada dağınık şekilde goblet hücreleri izlenir. Epitelyal

“serration” belirgindir. Sitolojik displazi bulundurmazlar. BRAF mutasyonu bu tipte daha sık görülür.

- Müsin fakir tip: Epitelde müsin içermedikleri için rejeneratif görünümündedirler. En nadir görülen HP tipidir ve moleküler özellikleri net olarak bilinmemektedir.

2.2.3.2. Sesil “Serrated” Adenom/Polip (SSA/P)

SSA/P’ler tüm “serrated” poliplerin %8-20’sini oluşturmaktadır. Daha çok sağ kolonda bulunma eğilimindedirler. SSA/P’ler, HP’lerden daha büyük olup, vakaların %50’sinde çapları 5mm.’den, %15-20’sinde ise 10 mm.’den büyüktür (32,48). Sesil özellikte lezyonlardır. Histolojik olarak kriptlerde uzama, dilatasyon, T veya L şeklinde kript görünümü, muskularis mukozayı aşarak submukozaya geçen (“inverted”) kriptlerin varlığıyla karakterli yapısal değişiklikler SSA/P’leri belirleyen en temel bulguları oluşturmaktadır. Epitelyal “serration” ve dilatasyon, kriptlerde tepe noktası yukarı bakan bir üçgene benzer görünüm (kreşendo patern) oluşturacak şekilde bazal kısımlarda belirgindir. (36). Proliferasyon zonu genellikle asimettiktir ve kriptlerin üst kısımlarına doğru yer değiştirmiştir. Bunun sonucu olarak kript tabanlarında normal mukoza ve HP’lerde görülen andiferansiye kript epitel hücreleri yerine, goblet hücre ve/veya gastrik foveolar hücre diferansiyasyonu görülebilir (36). SSA/P’lerde MUC5AC ve MUC6’yı içeren gastrik tip müsin ekspresyonunda artış bulunmaktadır. Sitolojik atipi tanı için gerekli bir kriter değildir.

SSA/P’lerin mikrosatellit instabil (MSI) sporadik kanserlerin veya “CpG island” metilasyonu (CIMP) bulunduran mikrosatellit stabil kanserlerin öncüsü olduğu düşünülmektedir. Çoğunda BRAF mutasyonu izlenir. Progresyon gösteren poliplerde promotor hipermetilasyonuna bağlı MLH1 ekspresyon kaybı ve β -catenin’in nükleer translokasyonu ile karakterli moleküler değişiklikler izlenir.

2.2.3.3. Klasik (Traditional) “Serrated” Adenom (KSA)

KSA’lar, SSA/P’ler ve HP’lere oranla çok daha az görülen lezyonlardır ve genellikle sol kolon yerleşimlidirler. KSA’lar kompleks viliform bir yapıya sahip, konvansiyonel adenomlara benzer şekilde protrüzyon gösteren ekzofitik lezyonlardır.

Epitel, eozinofilik sitoplazmalı, daha çok santral yerleşimli, kalemsi nükleuslu kolumnar hücreler ile döşelidir. Psödostratifikasyon bulunabilir (44,49-51). Haramis ve arkadaşları tarafından tanımlanan ve “ektopik kript” olarak adlandırılan, muskularis mukozaya göre normal vertikal oryantasyonunu gerçekleştirememiş, horizontal oryantasyon gösteren prematür kriptler, KSA’lar için tipik bir bulgudur (52). Konvansiyonel adenomların aksine, KSA’larda villusları döşeyen kolumnar hücrelerde mitoz çok az görülür veya bulunmaz. Mitotik aktivite genel olarak ektopik kript alanlarında sınırlıdır.

KSA’ların moleküler özellikleri henüz tam olarak ortaya konamamış olsa da, bu lezyonlarda KRAS mutasyonu yanı sıra, MGMT ve EphB2 promotor bölgelerinde hipermetilasyon bulunduğu bilinmektedir (53,54). KSA’lar da, diğer “serrated” lezyonlar gibi “serrated” kolorektal karsinoma öncüsü olabilirler.

2.2.3.4. Serrated Poliplerde Displazi

Sitolojik displazi, SSA/P’lerde beklenen bir özellik olmamasına karşın, MLH1 metilasyonu ve MSI gelişimi ile genellikle birliktelik gösteren, karsinoma progresyon sürecinde ortaya çıkar (4,55,56). Konvansiyonel adenomları telkin eden uzamış hiperkromatik nükleuslu, bazofilik sitoplazmalı hücrelerle karakterli adenomatöz displazi yanı sıra, belirgin nükleol bulundurabilen, daha veziküler nükleuslu, eozinofilik sitoplazmalı küboidal hücrelerle karakterli “serrated” displazi de görülebilir. Bu lezyonlar, geçmişte “mikst SSA/P-tübüler adenom (veya mikst HP-TA)” olarak adlandırılmış olsa da, APC gen mutasyonu göstermemeleri, bu lezyonların konvansiyonel adenomlardan farklı displastik karaktere sahip olduklarını ortaya koymaktadır. Bu nedenle MLH1 metilasyonu sonucu MSI gösteren bu lezyonlar için günümüzde, “sitolojik displazi bulunduran SSA/P” terimi önerilmektedir (4). Bu lezyonların klinik davranışları, konvansiyonel adenomalara kıyasla daha agresiftir (4).

2.3. KOLOREKTAL KARSİNOMANIN MOLEKÜLER TEMELİ

Diğer organ malign tümörlerinde olduğu gibi, kolorektal karsinoma gelişiminde de öldürücü olmayan genetik hasar anahtar rol oynar. İnvaziv tümör,

genetik olarak hasarlanmış tek bir öncü hücrenin klonal olarak çoğalması ve bu çoğalma esnasında birden fazla basamakta ortaya çıkan çok sayıda mutasyonun birikimi ile meydana gelmektedir (57). Genetik hasar gelişiminde başlıca hedefler, hücre büyümesini düzenleyen proto-onkogenler, hücre büyümesini inhibe eden tümör supresör genler, apoptozu düzenleyen genler ve DNA tamir genleridir. Proto-onkogenlerin mutant alelleri dominanttır ve diğer alel normal olsa bile hücre büyümesini indükler. Bunun aksine, tümör supresör (baskılayıcı) genlerde meydana gelen bir hasarın etki gösterebilmesi için her iki alelin de mutasyona uğramış olması gerekmektedir. Bazen, tümör supresör genlerin tek alelinde değişiklik meydana geldiğinde, ilgili genin protein aktivitesinde düşüş gözlemlenebilir. Apoptozu düzenleyen genler, tümör supresör gen veya proto-onkogen gibi davranabilirler. DNA tamir genlerinde meydana gelen mutasyonlar doğrudan bir etki oluşturmak yerine, proto-onkogenler, tümör supresör genler ve apoptozu düzenleyen genler gibi gen gruplarında meydana gelen genetik hasarın tamirinde duraklama oluşması ile kendilerini gösterirler. DNA tamir genlerinde ortaya çıkan bozukluk, genomda neoplastik dönüşüme yol açabilecek bir dizi mutasyonun oluşmasına zemin hazırlar.

Malign tümörlerin, aşırı ve hızlı büyüme, lokal invazyon ve uzak metastaz yapabilme özellikleri vardır. Ayrıca, kontrolsüz çoğalma esnasında ortaya çıkan çok sayıda yeni mutasyonlar sonucu bir süre sonra, çoğu tümör daha agresif hale gelir ve malignite potansiyeli artar. Bu fenomen, tümör progresyonu olarak bilinir (5). Moleküler düzeyde tümör progresyonu ve tümöral heterojenitenin sorumlusu, farklı hücrelerde birbirinden bağımsız olarak gelişen mutasyonların yol açtığı büyüme, invazyon, metastaz yeteneği ve tedaviye direnci farklı olan alt klonların gelişimidir.

Kolorektal karsinogenezde bugün için temel olarak üç farklı moleküler temele dayanan mekanizmaların rol oynadığı kabul edilmektedir. Bunların ilki, Vogelstein tarafından kromozomal instabilite (CIN) olarak tanımlanan (58) ve APC tümör supresör genin anahtar rol oynadığı, TP53, DCC gibi tümör supresör genlerde veya KRAS gibi protoonkogenlerde meydana gelen mutasyonlarla karakterli ara yoldur. Sporadik kolorektal karsinomaların %75'i ve çoğu sendromik kolorektal karsinomalar bu arayoldan gelişirler (4,59).

İkinci arayolda ise, DNA “mismatch” tamir genlerinin inaktivasyonu nedeniyle oluşan mikrosatellit instabilitesi (60) sonucu karsinoma gelişimi söz konusudur. Mikrosatellit instabil kanserler de adenomlar üzerinden gelişebilirler. Daha çok sağ kolon yerleşimlidirler ve prognozları daha iyidir (61). Gelişmiş ülkelerde, sporadik kolorektal karsinomaların %15’i ve herediter non-polipozis kolorektal karsinoma (HNPCC) vakalarının hemen tamamı bu yol üzerinden gelişim gösterirler (62,63). Üçüncü arayol ise, genomda meydana gelen çok sayıda metilasyon sonucu, bazı gen ya da gen gruplarında baskılanmaya yol açarak gelişen karsinogenezdır. Bu arayol “CpG Island Methylator Phenotype” (CIMP) olarak bilinir. Bu arayolun olası öncü lezyonlarının “serrated” polipler olduğu düşünülmektedir (61,64). Bu ara yol üzerinden gelişen kanserler ise, daha çok sol kolon yerleşimli ve daha kötü prognozludurlar (61).

Kolorektal karsinomalar, yukarıda tanımlanan üç ara yoldan biri üzerinden gelişebileceği gibi, bir tümörün birden fazla ara yolu takip ederek daha karışık bir moleküler mekanizma ile ortaya çıkabilmesi de söz konusudur.

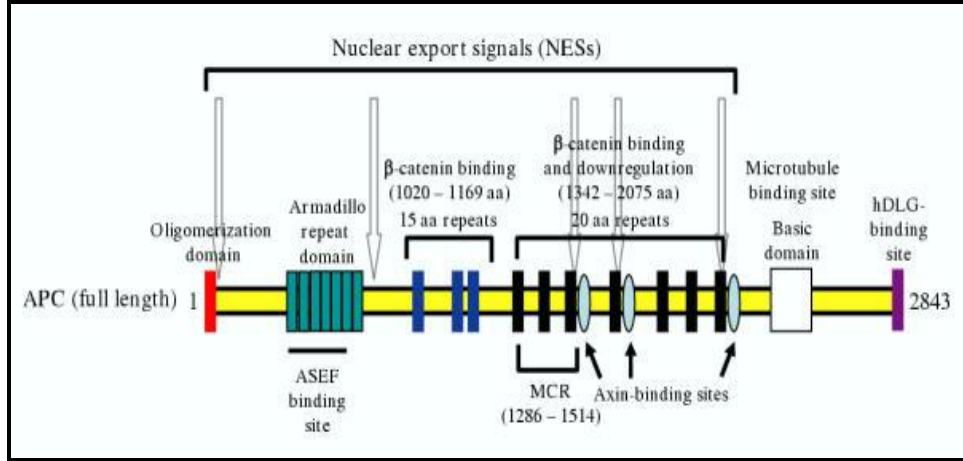
2.3.1. Kromozomal İnstabilite

Sporadik kolorektal karsinomaların yaklaşık %75’i ve Lynch Sendromu dışında kalan herediter geçişli kolorektal karsinomaların büyük çoğunluğu bu ara yol üzerinden gelişir. APC/ β catenin yolağı veya adenom-karsinoma sekansı olarak da bilinen, Wnt ile ilişkili bu arayol üzerinden gelişen kanserlerde anöploid karyotip, geniş kromozom segment delesyon veya duplikasyonları, artmış nükleer DNA içeriği gibi büyük kromozomal anormallikler izlenir (58). Oluşan tümörlerde hemen daima APC mutasyonu (>%90), %50 oranında KRAS mutasyonu, %70 oranında TP53 mutasyonu, %80 oranında 18q allelik kayıp mevcuttur (4). Çeşitli onkogen ve tümör süpresör genlerde görülen seri mutasyonların kümülasyonu, yaygın metilasyon kaybı, tümör supresör genlerde meydana gelen heterozigosite kaybı nedeniyle, kolonda fokal epitel proliferasyonu ile ortaya çıkan süreç başlar. Epitel proliferasyonunu, küçük adenomların gelişimi izler, adenom zamanla büyür, displazi derecesi artar ve sonuçta invaziv kanser gelişir (5). Vogelstein’in ortaya koyduğu modelde, kolonun bekçi geni APC tümör supresör geninde meydana gelen fonksiyon

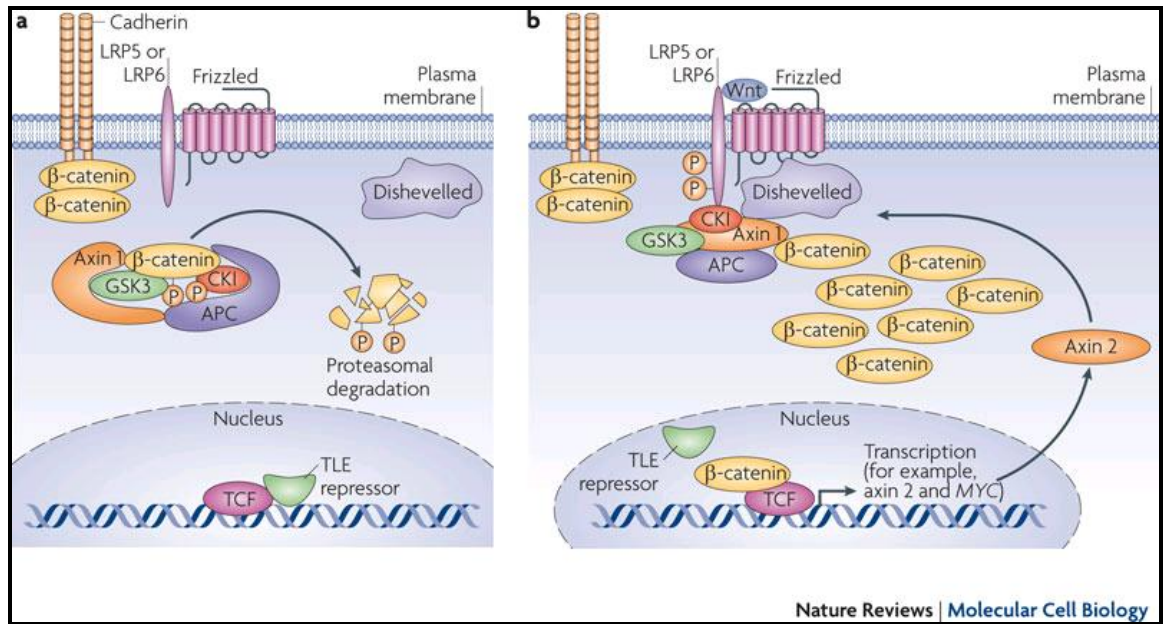
kaybı, bu arayolda karsinogenezi başlatan ana olaydır. (65) APC’de meydana gelen bi-allellik inaktivasyonu, KRAS, DCC ve TP53 genlerinde meydana gelen mutasyonlar izler.

APC geni: Adenomatöz polipozis coli (APC) geni 5q21-22’de yerleşimli bir tümör süpressör gen olup, 120 kb büyüklüğünde, en az 21 ekzondan oluşan bir bölgeyi kaplamaktadır. Esas fonksiyonu hücre büyümesini tetikleyen sinyalleri baskılamak olan APC geni, mikrotübül demetlerini bağlayan ve hücre göçü ile adezyonunu kontrol eden 2843 aminoasitlik bir proteini kodlar (Şekil 2.1). APC, aynı zamanda, Wnt/ β -katenin sinyal arayolunda önemli bir medyatör olan β -katenin düzeyini kontrol eden bir bekçi (“gate-keeper”) proteini olarak rol oynar (5). Bu sinyal arayolu, normal barsak epitelinin gelişmesinde oldukça kritik bir role sahip olmanın yanı sıra, kolorektal karsinomaların gelişmesinde de etkilidir. Kolorektal karsinomaların %80’inden fazlasında inaktif APC, APC mutasyonunun olmadığı kanserlerin de %50’sinde β -katenin mutasyonları vardır (5). APC geninde tanımlanan mutasyonlar ise “missense” mutasyonları ve delesyonlar olup, kısaltmış APC proteininin üretimi ile sonuçlanır (5). β -katenin, kadherin temelli hücre adezyon kompleksinin bir üyesi olup, hücre içi düzeyi arttığında nükleusa geçer ve bu durumda da transkripsiyon faktörü olarak rol oynar. E-kadherine bağlanmadığı durumlarda hücre-hücre adezyonuna katılır. Hücre-hücre adezyonunda rol aldığı APC, aksin, GSK-3 β ve β -kateninden oluşan sitoplazmik bir degradasyon kompleksi β -katenin’in fosforilasyonuna ve degradasyonuna yol açar. APC’de meydana gelen mutasyon sonucu fonksiyon kaybı geliştiğinde, sitoplazmada β -katenin birikir ve nükleusa geçerek T-hücre faktörü (TCF) veya lenfosit çoğaltıcı faktör (LEF) proteinleri olarak bilinen bir transkripsiyon faktör kompleksine bağlanır. TCF, DNA bağlayan bölgeye, β -katenin de bir transaktivasyon bölgesine katılır. β -katenin-TCF kompleksi, c-MYC ve siklin D1 gibi hücre proliferasyonunu ve apoptozu düzenleyen bir grup geni aktive eder. Özetle, normal APC fonksiyonu hücre adezyonunu yönlendirir ve hücre proliferasyonunu düzenler. APC fonksiyonunun olmayışı hücre adezyonunu azaltır ve hücre proliferasyonu artırır. β -katenin’de mutasyon olduğunda ise, normal hücrelerde β -katenin’i fosforile eden ve degrade eden bir kinaz olan GSK-3 β ’ya bağlanma affinitesini kaybeder ve β -katenin sitoplazmada birikerek nükleusa geçer ve TCF-LEF kompleksi ile bağlanarak nükleer

transkripsiyon faktörlerini aktive eder ve böylece aşırı proliferasyona yol açar (Şekil 2.2).



Şekil 2.1. APC geni

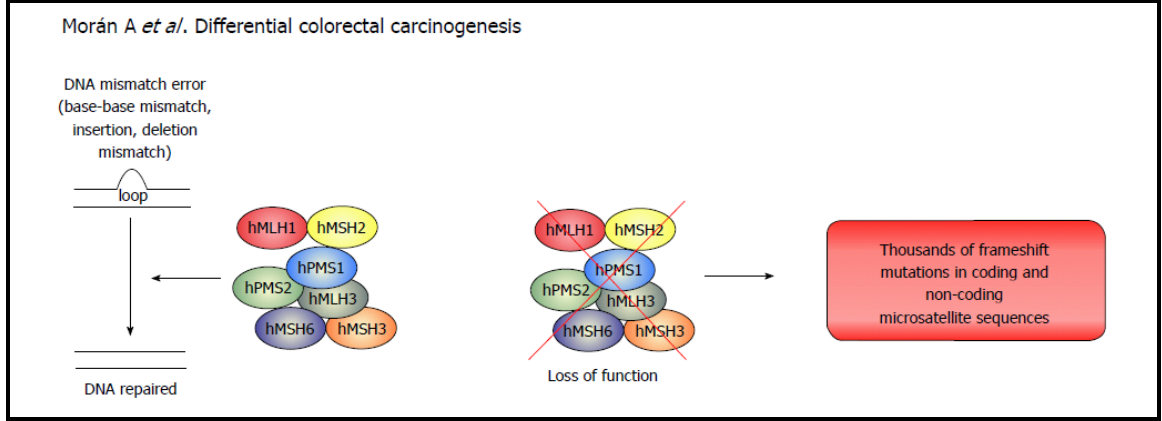


Şekil 2.2. APC-β Catenin Sinyal Arayolu

2.3.2. Mikrosatellit İnstabilite (MSI)

Gelişmiş ülkelerde, sporadik kolorektal kanserlerin yaklaşık olarak %15'i ve Lynch Sendromlu hastalarda gelişen kolon kanserlerinin tamamı mikrosatellit instabilite arayolu üzerinden gelişmektedir (4,62,63). Etkilenen genler farklı olmakla birlikte, APC/β-katenin arayolunda olduğu gibi mutasyonların üst üste birikimi söz

konusudur, ancak adenom-karsinom sekansından farklı olarak açıkça saptanabilen morfolojik bir korelasyon yoktur. DNA “mismatch” (yanlış eşleşme) onarım genlerindeki inaktivasyon sonucu ortaya çıkan DNA onarımındaki bozukluklar, temel özelliktir ve muhtemelen kolorektal kanser oluşma sürecini başlatan olaydır. İnsandaki “mismatch” onarım genleri olan MSH2 (kromozom 2p22), MLH1 (kromozom 3p21), MSH6 (kromozom 2p21), PMS1 (kromozom 2q31-33) ve PMS2 (kromozom 7p22) genlerinden birinde meydana gelen kalıtsal (germ-line) mutasyonlar DNA onarımını etkiler ve Lynch sendromunun gelişmesine neden olur (66). Mutasyonların büyük çoğunluğu (%90) MLH1 ve MSH2’de görülür. Mikrosatellitler, DNA replikasyonu esnasında insersiyon veya delesyon nedeniyle yanlış dizilme oluşturmaya eğilimli nükleotid tekrarlarıdır. “Mismatch” onarımı, genellikle bu yanlış dizilmeleri düzeltir ve mikrosatellitlerin ilk uzunluklarında kalmalarını sağlar. Tamir mekanizması bozulduğunda, insersiyon veya delesyon dizileri bozuk olarak replikasyon devam eder ve çok sayıda replikasyon sonrası, değişen uzunluklarda bir çok sayıda allelin varlığı ile karakterli mikrosatellit instabilitesi gelişir (66). İnsan genomu, yaklaşık 50.000-100.000 mikrosatellit içerir. Mikrosatellit dizilerinin çoğu genlerin kodlanmayan bölgelerinde (intron) bulunur ve bu nedenle bu genlerdeki mutasyonlar çoğunlukla zararsızdır (66). Bununla birlikte, bazı mikrosatellit dizileri genlerin kodlanmış bölümlerinde veya hücre çoğalmasını düzenleyen genlerin promotor bölgelerinde bulunur. Tip II TGF- β reseptörü ve BAX bu genlere örnektir. TGF- β sinyali kolon epitel hücrelerinin çoğalmasını inhibe eder, BAX geni de apoptoza yol açar. “Mismatch” onarımı bozulduğunda, hem bu genlerde, hem de çoğalmayı düzenleyen diğer genlerde mutasyon birikir ve tümü birlikte kolorektal karsinoma gelişimine neden olur (66). Daha önceleri genel somatik mutasyon (USM) ve DNA replikasyon hataları (RER) olarak adlandırılan bu durum, günümüzde MSI-H olarak adlandırılmaktadır (4,67,68).



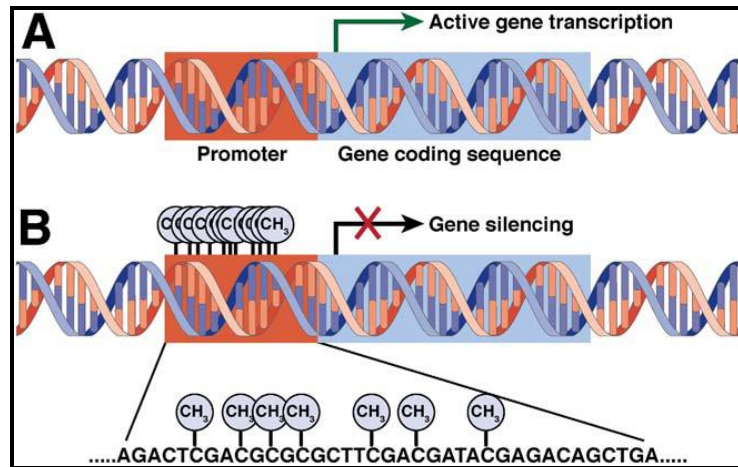
Şekil 2.3 MSI-H fenotip gelişimi

MSI durumunun sınıflaması Bethesda paneli olarak da bilinen değişik büyüklükteki çeşitli mononükleotid ve dinükleotid tekrar dizilerinin (BAT25, BAT26, D5S346, D2S123, D17S250) varlığına göre yapılır (4,60,69). MSI-H bu beş mikrosatellit belirtecinden en az ikisinde meydana gelen değişikliği tanımlar. Sporadik MSI-H kolorektal kanserler Lynch sendromunda izlenenlere oranla daha geniş mikrosatellit değişiklikleri içerirler. MSI-H kanserlerin çoğu diploid veya diploide yakındır ve heterozigosite kaybı (LOH) oranı düşüktür. Mikrosatellit stabil tümörlerde Bethesda panelinde instabilite izlenmemektedir. Bu paneldeki belirteçlerden birinde veya %40'ını geçmeyecek şekilde birden fazlasında bozukluk bulunduran tümörler MSI-L olarak adlandırılır (Şekil 2.3).

Sporadik veya Lynch sendromu ilişkili MSI-H tümörler, kromozomal instabilite arayolu üzerinden gelişen tümörlerden morfolojik farklılıklar içerirler. Bu tümörler, daha çok sağ kolon yerleşimli, müsinöz veya bazen medüller tipte, peritümöral ve intramural, Crohn hastalığı benzeri lenfositik infiltrasyon bulunduran, kirli nekroz içermeyen, ekspansif büyüme gösteren, daha düşük evreli ve prognozu daha iyi olan tümörlerdir (4,70,71). MSI-H tümörler 5-florourasil gibi belirli bazı kemoteraplere daha zayıf yanıt gösterirken (72,73), irinotekan tedavisine daha iyi yanıt verirler (4,74).

2.3.3. “CpG” Ada Metilatör Fenotip (“CpG island methylator phenotype” - CIMP)

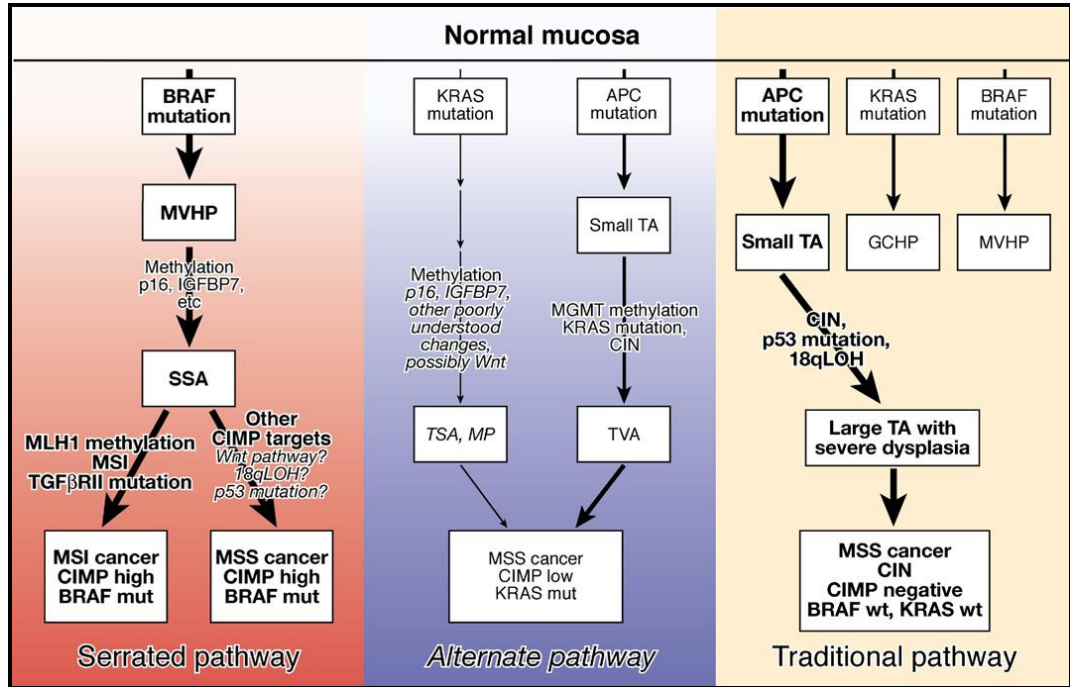
Çoğu gen, promotor bölgelerinde, sitozin ve guanin dinükleotidlerinden zengin alanlar içerir ve bunlar “CpG” adaları olarak adlandırılır. “CpG” adalarında bulunan sitozin kalıntılarının metilasyonu, tümör supresör genleri de içeren genlerde kromozomal yapıyı değiştirir ve gen ekspresyonunu baskılayarak mutasyon olmaksızın fonksiyon kaybına yol açar (Şekil 2.4). Çeşitli genlerin promotor bölgelerinde meydana gelen metilasyon, kolorektal kanserlerin yaklaşık olarak %35’inde izlenmektedir (4). CIMP üzerinden gelişen tümörlerin %50’den fazlası mikrosatellit stabil tümörler olmakla birlikte, MMR genlerinde metilasyon olduğunda, MSI tümörler de gelişebilir. CIMP üzerinden gelişen tümörlerde, aynı anda MSI yanı sıra, KRAS, BRAF ve TP53 mutasyonları da izlenebilir. Sık MSI-H ve BRAF mutasyonu içeren tümörler CIMP 1 olarak adlandırılırken, yüksek oranda KRAS mutasyonu içeren, mikrosatellit stabil CIMP tümörler, CIMP 2 olarak adlandırılır. CIMP negatif tümörler sık TP53 mutasyonu içerirler ve mikrosatellit stabildirler (Şekil 2.5).



Şekil 2.4. CpG Adalarının Metilasyonu

Kolorektal karsinogenezin “serrated” arayolu olarak da bilinen, CIMP arayolunda, invaziv tümör, prekürsör bir “serrated” lezyon üzerinden gelişir ve klasik adenoma-karsinoma sekasında izlenen standart mekanizmaları içermez. Bu tip tümörlerde, tanıya ilişkin çeşitli özellikler bulunmaktadır: sıklıkla kadın hastalarda görülen tümörler, proksimal yerleşimli ve az diferansiye olup, BRAF mutasyonu sık

olarak izlenirken, TP53 mutasyonları daha düşük orandadır (4). Bu arayol üzerinden gelişen çoğu tümörde, karsinogenezi başlatan olay, BRAF genini aktive eden bir mutasyondur ve bu durum kolon epitel hücrelerinde fizyolojik apoptozun inhibisyonu ile sonuçlanır. Bu olay sonucunda, hiperplastik veya “serrated” polipler gelişebilir. Bu lezyonlarda, çoğu gende, promotor metilasyonu bulunur ve bu herhangi bir gende indirek inaktivasyonu (“epigenetic silencing”) indükleyebilir. Bu vakalarda, MSI sporadik karsinoma gelişimi ile sonuçlanan, MLH1 promotor metilasyonu sıktır. Bunun sonucunda, Lynch sendromunda olduğu gibi, hızlı gelişen çok sayıda ek mutasyon, hızlı tümör progresyonuna neden olur (75)



Şekil 2.5. Kolorektal karsinogenez modelleri (Leggett & Whitehall, 2010)

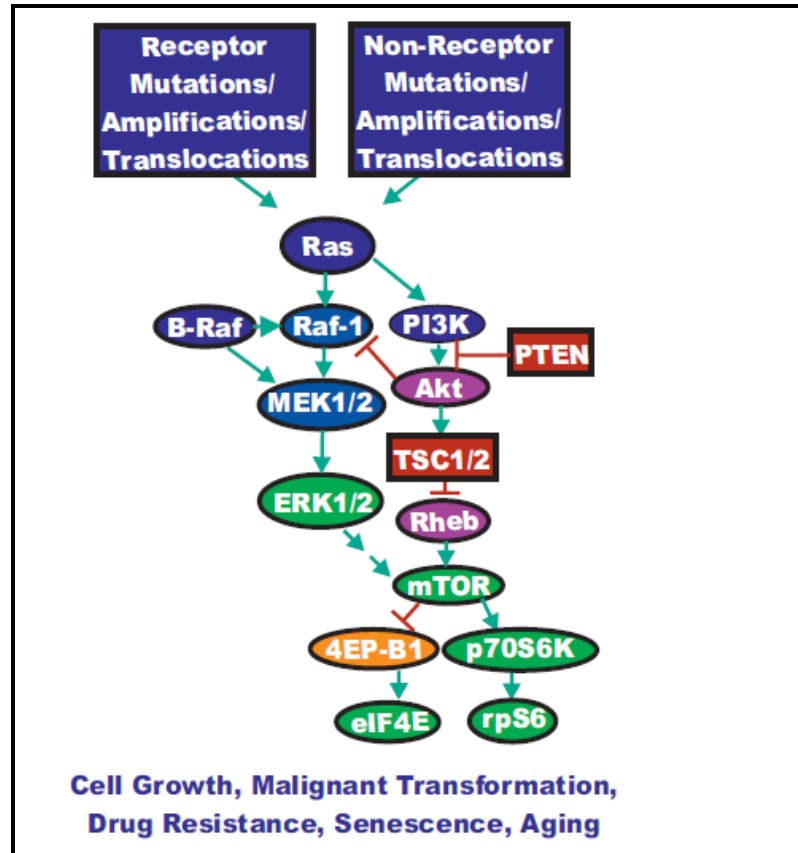
2.4. KOLOREKTAL KARSİNOMADA HÜCRE İÇİ SİNYAL İLETİM MEKANİZMALARI

İnsan genomundaki yaklaşık 32.000 genin %20'si sinyal iletiminde görev alan proteinleri kodlamaktadır (76). Bu proteinler arasında hücre membranında yerleşen reseptörler, G-proteinler ve sinyal ileten enzimler yer almaktadır. Protein kinazlar, sinyal iletimi sırasında protein fosforilasyonunu/aktivasyonunu sağlarlar. Protein kinazlar, membran yerleşimli olanlar ve sitoplazmik tirozin kinazlar olarak

iki ana gruba ayrılır. Bu proteinler, katalitik özelliklerine göre (fosforilasyona uğrayan aminoasit türü) tirozin ve serin/treonin kinazlar olarak da sınıflandırılır (77). Membranda yerleşim gösteren proteinlere, reseptör tirozin kinazlar (RTK) denilmektedir. RTK süperailesinde 58 transmembran protein bulunmaktadır. Bu reseptörler arasında, insülin reseptörü, büyüme faktörleri (EGF, VEGF, PDGF, FGF, NGF) reseptörleri ve efrin reseptörleri (EphA, EphB) yer almaktadır (77). RTK'lar, sitoplazmik kısımlarında aktivasyondan sorumlu bir bölge (tirozin kinaz bölgesi) içerirler. İstirahat halindeki hücrelerde, RTK'nın inaktif ve aktif formları denge halindedir. Bu reseptörler, büyüme faktörleri ile bağlandıktan sonra aktif hale geçerler ve sitoplazmadaki hedef proteinleri ile etkileşerek sinyal iletimini gerçekleştirirler. RTK aktivasyonu, reseptörün kendi kendini fosforile etmesiyle başlar. İkinci aşamada ise, bu fosforile olan bölgelere çeşitli adaptör proteinler bağlanır ve uyarının hücre içine iletimini sağlar. Adaptör proteinlerin ortak yapısal özelliği, SH2 (Src-homology-2) bölgeleri içermeleridir. Bu proteinler, SH2 bölgeleri aracılığıyla reseptöre bağlanarak, RTK ile sitoplazmadaki efektör proteinleri arasında köprü görevi yapmaktadır. RTK aktivasyonunun sonlandırılmasından fosfataz grubu proteinler sorumludur. Böylece, fizyolojik koşullarda RTK aracılı sinyal iletimi kontrol altında tutulur. Karsinogenez sürecinde ise, sürekli ve kontrolsüz RTK aktivitesi söz konusudur (76).

Karsinogenezde ortaya çıkan moleküler değişiklikler tanımlandıkça, hedefe yönelik tedavi yaklaşımları da hızla ilerlemektedir. Son yıllarda, hedefe yönelik tedavinin tümör tedavisinde ve prognostik değerlendirmelerde giderek yaygınlaştığı düşünüldüğünde, kolorektal karsinomalarda da, tedavi seçimini belirleyecek moleküler belirteçlerin kullanımı ve olguların buna göre klasifikasyonu son derece önemli ve gereklidir. Gerçekten de, son yıllarda yapılan çalışmalarda kolorektal karsinomaların %30-40 kadarında izlenen aktive edici KRAS mutasyonlarının anti-EGFR tedavilerine olumsuz yanıt ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. RTK ailesinin bir üyesi olan EGFR aktivasyonu ile, RAS sinyal iletim arayolu başlatılmaktadır. RAS proteinleri ile de, iki ayrı sinyal iletim arayolu başlatılmaktadır: bunlardan ilki, RAS ve bununla birlikte aktive olan protein kinaz RAF ve onun aktive ettiği MAPK arayolu, ikincisi ise, lipid kinaz fosfotidil inozitol 3 kinaz (PI3K) ve bunun aktive ettiği PDK1-AKT sinyal arayoludur (Şekil 2.6). RAS proteinlerinden, KRAS birinci

arayolda daha etkinken, HRAS ikinci arayolun potent aktivatörüdür. Bu iki arayol, ekstrasellüler sinyalleri, büyüme, proliferasyon, differansiasyon, migrasyon ve apoptoz gibi temel hücresel olguları kontrol eden mekanizmaya bağlayan ve günümüze dek en iyi tanımlanmış olan kaskadlardır. Bu nedenle, bu arayollardaki moleküler aberasyonlar, kanser gelişimi ve progresyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Bu kaskadlarda, birbiriyle uyum içinde çalışan, gen mutasyon ya da amplifikasyonu gibi çeşitli mekanizmalarla aktive olan, bir dizi protein ve lipid kinaz yer almaktadır. Bu arayolların kanser biyolojisindeki rollerinin anlaşılması, EGFR ve benzeri reseptör tirozin kinazların amplifikasyonu ve PTEN, PI3K, AKT, RAS, RAF gibi moleküllerdeki genetik değişiklikler gibi, arayolun temel moleküllerindeki anomalilerin ve kanserdeki fenotipik etkilerinin tanımlanmasını sağlamıştır. RAS ve PI3K arayollarının paralel ya da komplementer olarak çalıştıkları ve bu nedenle optimal tedavi yanıtının ancak her iki arayolun inhibisyonu ile sağlanabileceği düşünülmektedir.



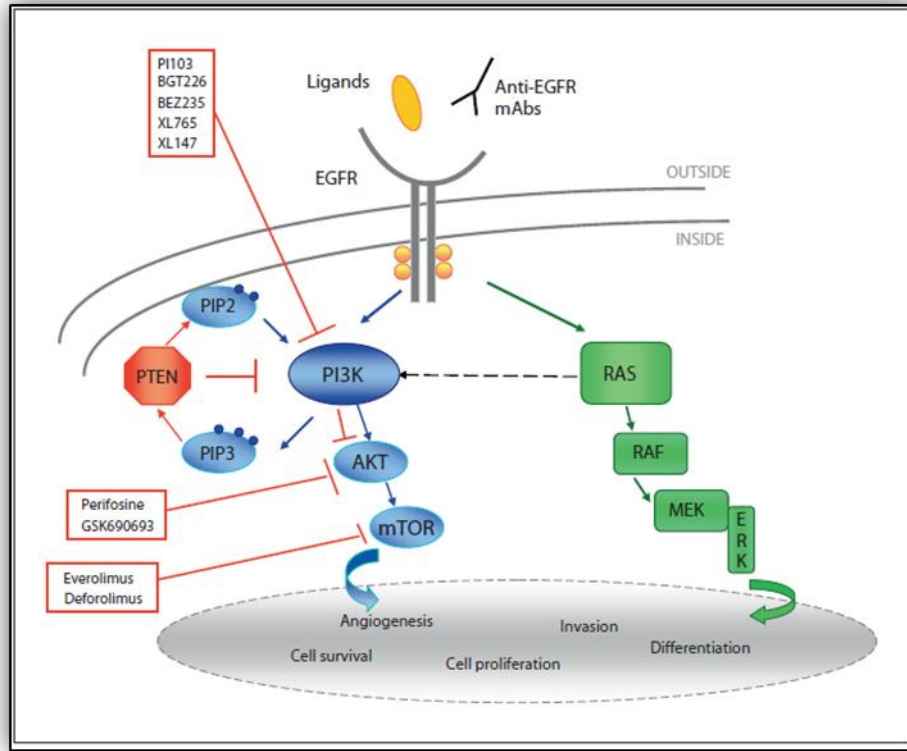
Şekil 2.6. RAS sinyal iletiminde yer alan “down stream” moleküller ve rolleri (78)

Bu bölümde EGFR aktivasyonu ile büyüme sinyalinin nükleusa iletiminde ana rol oynayan RAS sinyal iletimi, RAS/RAF/MAPK ve RAS/PI3K/AKT/mTOR arayolları hakkında bilgi verilecektir.

2.4.1. EGFR

EGFR (ERBB1/HER1), ERBB ailesi içinde yer alan bir RTK'dır. Hücre yüzeyinde lokalize olan epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)/Akt ve RAS/Raf/mitogen-activated protein kinase (MAPK) gibi proliferatif ve anti-apoptotik sinyal arayollarını aktive ederek (79) hücre yüzeyine gelen büyüme sinyalinin nükleusa iletilmesini sağlar (Şekil 2.7). Ras-MAPK yolunun EGF aracılı aktivasyonu, nükleusta, CDK4 ve CDK6 gibi siklin bağımlı kinazları aktive eden, siklin D birikimiyle sonuçlanır. Bunu izleyerek, retinoblastoma proteini fosforile olur ve hücre G1 fazından S fazına geçer (80). PI3-K-Akt yolu aracılığıyla, hücre siklus inhibitörü, p27 düzeyi azaltılarak hücre bölünmesi uyarılır (81). Aktive olmuş ve fosforile olmuş Akt, p27 transkripsiyonunu azaltır. Böylece CDK-siklin kompleksine bağlanıp, G1 fazında hücre bölünmesini durduran p27 seviyesi azalır.

Kolorektal karsinogeneizde ortaya çıkan anormal EGFR aktivasyonu, EGFR overekspresyonu veya EGFR yolağındaki diğer moleküllerde mutasyon aktivasyonuna bağlı olarak gelişebilir (82). KRAS alt yolağında meydana gelen mutasyon, yapısal aktivasyona yol açar ve tümörlerin anti-EGFR tedavisine yanıtız olmasına neden olur (4). Küçük moleküllu tirozin kinaz inhibitörleri kolorektal karsinoma tedavisinde faydasızken, anti-EGFR monoklonal antikorları, cetuximab ve panitumumab, sinyal – ligand birleşmesini bloke eder ve bazı kolorektal karsinoma vakalarında dramatik cevap oluşturur. EGFR, ayrıca PI3K üzerinden de etki gösterir ve bu gende meydana gelen mutasyon ve PTEN ekspresyonunda meydana gelen kayıp, kötü prognostik faktörler olarak kabul edilebilir (4).

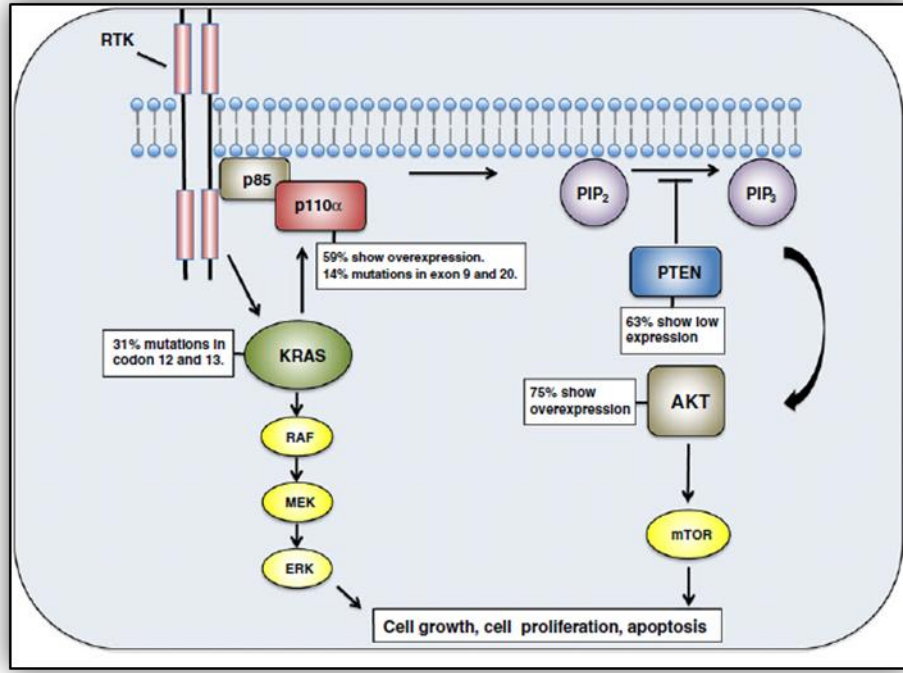


Şekil 2.7. EGFR Sinyal Yolağı (83)

2.4.2. RAS/RAF/MAPK Arayolu

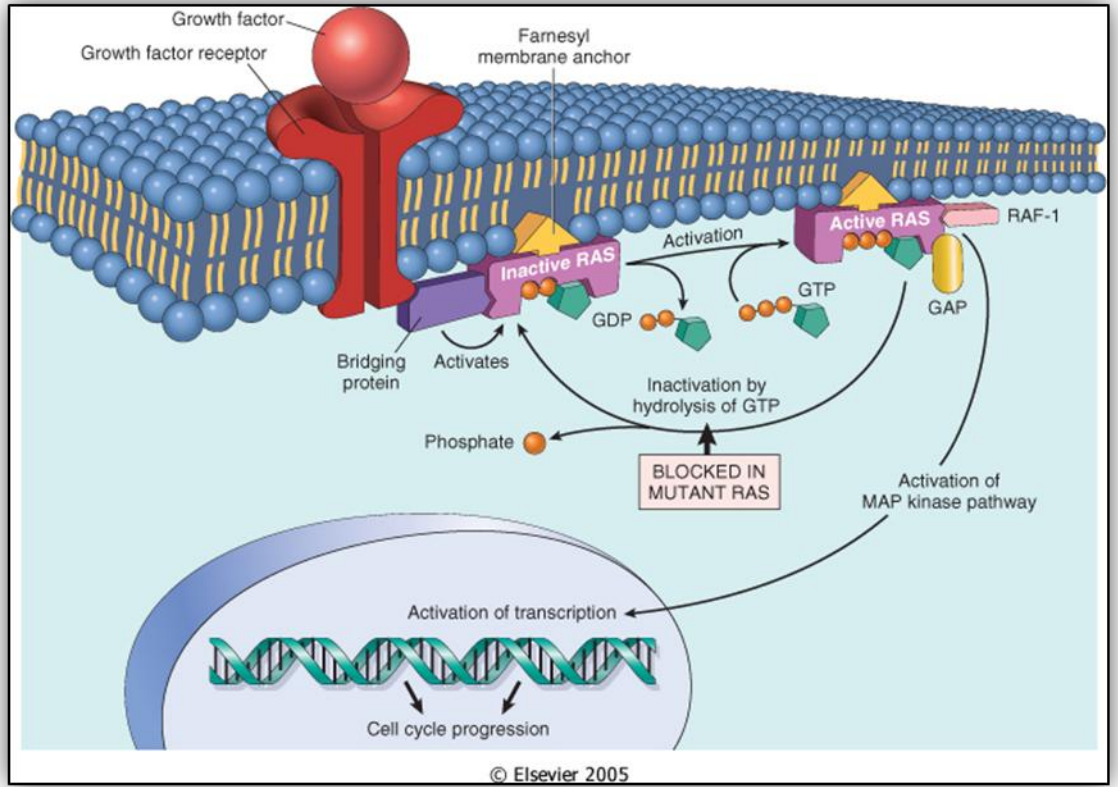
2.4.2.1. RAS

RAS, hücre membranının iç yüzünde lokalize, monomerik, küçük G protein ailesine ait bir proteindir. RAS ailesi, HRAS, KRAS ve NRAS proteinlerini içerir. RAS ailesine ait proteinler, EGFR gibi büyüme faktörlerinin hücre yüzeyinde spesifik serin/treonin kinaz reseptörlerine bağlanmasını takiben, hücre içi sinyal iletiminde görev alır. İnaktif durumda RAS, GDP (guanozin difosfat) ile bağlı durumdadır. Büyüme faktörü veya diğer reseptör ligandları ile etkileşim sonucu fosforile olup, GTP (guanozin trifosfat) ile bağlı duruma geçerek aktive olur. Aktive olan RAS, MAP kinaz ara yolunu aktive eder ve nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ile mitoz kolaylaşır. RAS proteinleri RAF/MEK/ERK sinyal kaskadını aktive ederek, hücre büyümesi ve bölünmesine aracılık etmenin yanı sıra, PI3K/AKT/mTOR yolağını da aktive eder (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. RAS/RAF/MAPK Arayolu ve PI3K/AKT/mTOR Arayolu (84)

Normal hücrede, RAS proteininin sinyal iletim aktivasyonu geçicidir. Çünkü, intrinsek GTPaz aktivitesi ile, GTP GDP'ye hidrolize olur ve RAS yeniden inaktif hale gelir. GTPaz aktive edici proteinler, RAS-GAP-p120 ve nörofibromindir. RAS proteininin normal siklusta aktive durumda, GDP - GTP değişimi ve inaktif durumda GTP hidrolizi ile GDP bağlı duruma gelmesi önemlidir. Her iki süreç de enzimatik olarak regüle edilir. Mutasyon olduğunda ise, RAS inaktif duruma geçemez ve sinyal iletimi sürekli hale gelir. RAS gen ailesinin bir üyesi olan KRAS, 12p12.1'de lokalizedir ve 21 kD ağırlığında bir küçük GTP bağlı proteini kodlar. Bu protein hücreye gelen sinyalleri aktive olmuş yüzey reseptörlerinden nükleusa taşır (Şekil 2.9). Kolorektal kanserlerin yaklaşık %30 – 40 ında izlenen yapısal KRAS aktivasyonu ekzon 2'ye ait kodon 12 ve 13'te meydana gelen nokta mutasyonları sonucunda ortaya çıkar ve bu mutasyonlar EGFR yolağının aktive olmasının önemli bir nedenidir (82).



Şekil 2.9. RAS aracılı sinyal iletimi

KRAS mutasyonları, sıklıkla aberan kript odaklarında ve HP'lerin büyük bir kısmında gözlenir (85,86). Adenomatöz poliplerde, KRAS mutasyon sıklığı, lezyonun büyüklüğü ve displazi derecesine bağlıdır; 1 cm. den küçük adenomlarda KRAS mutasyon oranı yaklaşık %10 iken, 1 cm. den büyük adenomlarda KRAS mutasyonu %40-50 oranında görülür (30). Son yıllarda mutant KRAS'ın kolon epitel hücre proliferasyonunu (MEK sinyali üzerinden) uyardığı gösterilmiştir. Mikrosatellit stabil kolon kanserleri arasında, KRAS mutasyonu bulunduranların az diferansiye olma eğilimi gösterdikleri bildirilmiştir (87). KRAS, aynı zamanda, epitelyal hücre polaritesini de düzenler. KRAS'ta meydana gelen bir mutasyonun hücreler arası bağlantıyı bozduğu gösterilmiştir (88).

EGFR sinyallerinin, hücre içi taşınmasında önemli bir yere sahip olan KRAS geninin mutasyon analizi önemlidir, çünkü KRAS mutasyonları, EGFR inhibitör tedavisine yanıtızsızlık durumu ile belirgin bir ilişki göstermektedir.

RAS proteinleri, EGFR ailesi yanı sıra, tirozin kinaz reseptörü (RTK) özelliğindeki çeşitli büyüme faktör reseptörlerine de aracılık eder ve mitogen-activated protein kinase (MAPK) ve PI3K arayollarını içeren çok sayıda sinyal kaskadı üzerinden etki gösterir. Bu yüzden, kolorektal kanserde bu arayolların bazı bileşenlerinde mutasyon izlenmesi beklenen bir durumdur. RAS proteinleri üzerinden MEK1 ve MEK2 gibi MAPK efektörlerini aktive eden bir protein kinazı kodlayan BRAF genine ait mutasyonlar, kolorektal karsinomaların yaklaşık olarak %5-10 unda gözlenir (89).

2.4.2.2. RAF

RAF gen ailesi, A-Raf, B-Raf ve C-Raf (Raf-1) dan oluşmaktadır. BRAF geni, MAPK arayolunda rol alan serin/treonin kinaz aktivitesine sahip, 94 kDa ağırlığında bir proteini kodlar. BRAF, 7. kromozomun uzun kolu (7q34) üzerinde yer alır ve 18 ekzondan oluşur. Hücre içi sinyal iletimi, hücre bölünmesi ve sekresyonu sırasında önemli role sahiptir. Konjenital BRAF mutasyonları, kardiyo-fasiyo-kutanöz sendromların gelişimi ile sonuçlanır. Kazanılmış mutasyonlar ise, kolorektal karsinomalar, tiroid karsinomaları ve melanoma gelişiminde gözlenir (90). Mutasyonlar, sıklıkla ekzon 15'de kodon 600 bölgesinde (V600A, V600D, V600E ve V600KRM) ve 11. ekzonda gözlenir ve kötü prognoz ile ilişkilidir. BRAF, etkisini KRAS üzerinden gerçekleştirerek hücre bölünmesini kontrol eder. Melanomalarda %60-80, kolorektal kanserlerde (CRC) %15, papiller tiroid kanserlerinde %45 ve akciğer kanserlerinde %1-5 oranında somatik BRAF gen mutasyonları saptanmıştır. Hastalarda en sık V600E mutasyonu gözlenir. V600E mutasyonlarına bağlı gelişen sinyal değişiklikleri, henüz açık bir şekilde anlaşılabilmiş değildir. Basit modelde; BRAF, KRAS yolağında MAPK aktivasyonu oluşturur. BRAF mutasyonu bulunduran tümörler KRAS mutasyonu bulunduran tümörlerden histolojik ve klinik seyir açısından farklıdır (91).

Somatik BRAF geni mutasyonlarına sahip, metastatik kolorektal kanserli hastalarda monoklonal antikorlar olan, cetuximab ve panitumumab tedavilerine karşı direnç gelişimi gözlenir. Bu hastalarda, spesifik küçük molekül V600E inhibitörleri ve MEK inhibitörleri kullanılması önerilmektedir (91).

2.4.2.3. MEK

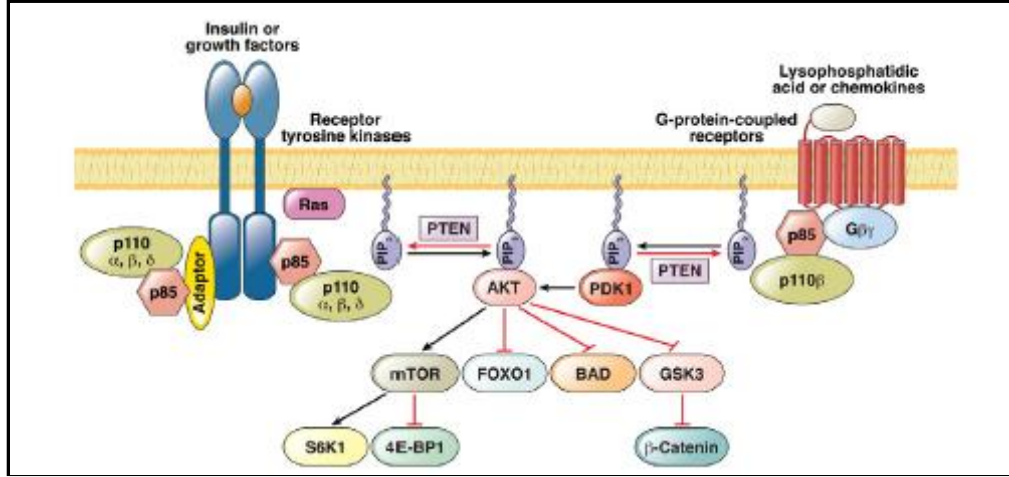
Mitogen activated protein kinase/ERK Kinase (MEK1), tirozin ve S/T-dual protein kinazdır. Aktivitesi, RAF katalitik bölgesinde bulunan S rezidülerinin fosforilasyonu ile düzenlenir. Biyokimyasal etki güçleri birbirinden farklı olsa da, RAF protein ailesine ait her üç protein de (B-RAF>C-RAF>>A-RAF), MEK'i fosforile ve aktive edebilir. MEK1in ana hedefi ERK'tir. Bu molekülün tersine ERK'in çok sayıda hedefi vardır (92).

2.4.2.4. ERK 1,2

Ekstrasellüler sinyal düzenleyen kinazlar 1,2 (ERK 1,2) S/T kinazlardır ve aktiviteleri MEK1 ve MEK2'nin aracılık ettiği fosforilasyon ile düzenlenir. ERKler Ets-1, c-Jun ve c-Myc'i de içine alan çok sayıda transkripsiyon faktörünü aktive edebilir. ERK ayrıca, transkripsiyon faktörü olan CREB aktivasyonunu sağlayan 90kDa büyüklüğündeki ribozomal S6 kinazı fosforile ederek, aktive eder (93). ERK, çok sayıda transkripsiyon faktörünü fosforile etmek amacıyla nükleusa geçebilir (93) ve hücre siklus regülasyonuna katılan çok sayıda proteini fosforile edebilir. ERK2 proliferasyonu pozitif olarak düzenlerken, ERK1 bazı hücrelerde ERK2 etkilerini inhibe edebilir (94).

2.4.3. PI3K/AKT/mTOR Arayolu

Fosfatidilinozitol 3-kinazlar-AKT-mammalian target of rapamycin (PI3K/AKT/mTOR) yolağının anahtar molekülleri (Şekil 2.10), solid tümörlerde izlenen abartılı sinyallerin ana hedefleridir (95). Bu arayolda meydana gelen bozukluklar, migrasyon ve invazyonu etkilediğinden, arayoldaki anahtar moleküller, potansiyel tedavi hedeflerini oluşturur ve RAS-RAF yolağı ile etkileşim içinde olduklarından EGFR tedavisine cevabı önceden belirlemeye yardımcı olabilirler (96).



Şekil 2.10. PI3K/AKT/mTOR Arayolu (97)

2.4.3.1. PI3K

PI3K proteinleri, fosfoinozotidlerin 3'hidroksil grubunu fosforile ederek, fosfatidilinozitol-4,5-bifosfattan (PIP2) fosfatidilinozitol-3,4,5-trifosfata (PIP3) dönüşümünü sağlayan, lipid kinaz ailesinin bir üyesidir (98). Fosfatidil inozitol-3,4,5-trifosfat (PIP3), hücre büyümesi, çoğalması, yaşamı ve diğer süreçler üzerinde etki gösteren, anahtar role sahip olan ve protein kinaz B olarak da bilinen AKT'ı, fosforilasyon yoluyla aktive eden bir sekonder habercidir. Hücre membranında, fosfatidil inozitol 4,5 bifosfattan (PIP2), PIP1 oluşumu, RTK lar tarafından fizyolojik olarak aktive edilen class I PI3Kların aktivitesine bağlıdır (99). Bugüne kadar, kanser ilişkili mutasyonların dört class I PI3K'dan yalnızca PIK3CA geni tarafından kodlanan P110α alt ünitesi ve çok sayıda düzenleyici alt üiteden biri olan P85α içeren PI3K'yı etkilediği bulunmuştur. Kolorektal karsinomaların %15-25'inde PI3KCA geninde somatik mutasyonlar izlenir (100,101). Yapılan çalışmalar, bu mutasyonların PI3KCA kinaz aktivitesini arttırdığı ve bu şekilde etkilenmiş hücrelerde PIP3 oluşumunu arttırdığını göstermiştir (102). Özellikle PI3K her ne kadar etkisini KRAS proteinine ait alt arayol üzerinden gösterse de, KRAS mutasyonlarının, bir ölçüde PIK3CA mutasyonları ile birliktelik gösterdiği gözlenmiştir (101,103).

2.4.3.2. PTEN

PTEN proteini, PIP3'ten PIP2 defosforilasyonunu yöneten, hücre siklusu, apoptoz, hücre polaritesi, hücre göçü ve genomik stabilite üzerinde rolü bulunan, tümör supresör etkiye sahip bir fosfolipit fosfatazdır (4,104-107). Herediter polipozis sendromları arasında yer alan benign gastrointestinal tümör riskinin artmış olduğu Cowden sendromu hastalarında, germline PTEN mutasyonları bulunmaktadır (108). PTEN inaktivasyonuna yol açan somatik mutasyonlar, kolorektal karsinomaların yalnızca %10 kadarında bulunsa da (101,107,109) bazı çalışmalar PTEN protein ekspresyonunun kolorektal karsinomaların %15-20 sinde kayıp olabileceğini öne sürmektedir (110). PTEN ekspresyon kaybı, hem KRAS mutasyonu bulunan, hem de bulunmayan vakalarda gözlenmektedir. PI3K, onkogenik mutasyonlarına benzer şekilde, PTEN inaktivasyonu muhtemelen PIP3 tarafından aktive edilen AKT aracılığı ile etki gösteren KRAS protein yolağı aktivitesini arttırmaktadır. PTEN, ayrıca AKT alt arayolundaki antiapoptotik faktörler ve hücre büyümesi esnasında hücre içine besin alımını sağlayan mTOR yolağı üzerinde de etkilidir (107).

2.4.3.3. AKT

Protein kinaz B olarak da bilinen AKT proteini, murine retrovirus AKT-8 onkogen proteininin selüler homologudur (111). AKT 1, apoptotik arayolları inhibe eder ve protein sentez arayollarını indükler. AKT 1, çoğu kanser tipinde temel faktör olarak suçlanmaktadır (112, 113). AKT 2, insülin sinyal yolağında yer alan önemli bir moleküldür. Yapılan çalışmalar AKT 1'in büyüme üzerine pozitif etkisinin bulunduğunu, AKT 2'nin ise, temel etkisinin glukoz homeostazı üzerine olduğunu göstermiştir (114). Esas olarak, beyin dokusunda ekspresyon gösteren AKT 3'ün rolü henüz kesinlik kazanmamıştır. AKT aktivasyonu çok basamaklı bir süreçtir. Bu süreç, PDGF, insülin, EGF, bFGF ve insülin benzeri büyüme faktörü-1 gibi aynı kökene sahip proteinlerin hücre yüzeyinde bulunan reseptörlerine bağlanması sonucunda, fizyolojik olarak başlatılır ve reseptör bağımlı tirozin kinazların fosforilasyon yoluyla aktive olmaları sağlanır. Çok sayıda tirozin kinaz büyüme faktörü reseptörü ile aktive olarak işlev gören proteinlerden biri, fosfatidilinozitol-3 kinaz (PIP3K) dır. AKT in aktivasyonu için PIP3'ün bulunması gereklidir. Fosforile

olarak aktive olmuş AKT, membrandan ayrılarak sitozol ve nükleusta bulunan hedeflerini fosforile eder. AKT substratı olan 50 den fazla protein tanımlanmıştır. AKT, hücre metabolizmasını insülin uyarısına cevap olarak glikojen sentetaz kinaz (GSK3) fosforilasyonu yoluyla etkiler (115) ve 6-fosfofrukto-2-kinazın fosforilasyon yoluyla aktivasyonunu sağlayarak glikolizi sürdürür. AKT, ribozom sentezi, protein sentezi regülasyonu ve mRNA translasyonunu kontrol eden ürünler üzerinden hücre boyutunu düzenleyen mammalian target of rapamycin'i (mTOR) fosforile ederek aktive eder (116,117). Nitrik oksit üretiminden sorumlu major bir vazodilatör olan eNOS, AKT tarafından fosforilasyonla aktive olur. AKT bağımlı NO birikimi, tümör anjiyogenezi gibi NO aracılı yanıtlara, AKT'nın katıldığını ortaya koyar. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ekspresyonu, IGF-1 ve AKT tarafından düzenlenir (118). AKT, endotelial hücre göçü için gerekli olan sfingolipid G-protein reseptörü 1 (EDG-1)'i fosforile eder. AKT, kanser hücrelerinin, telomerlerini koruyarak sürekli replikasyona girmelerini sağlayan, tümörlerde sık olarak bulunan ve telomeraz aktivitesini arttıran telomeraz revers transkriptazı (TERT) fosforile eder (116) ve bu şekilde kanser hücrelerinin immortalizasyonuna katkıda bulunur. AKT sinyal yolağında meydana gelen aktivasyon ve değişimler insan kanserlerinde sık olarak görülen değişikliklerdir. Epitelyal mezanşimal değişim (EMT) olarak adlandırılan bu süreç, epitelyal hücrelerin fibroblast benzeri özellikler kazanmayla karakterizedir. Aktive olmuş AKT, hücreler arası adezyonda azalma, artmış motilite ve invaziv özellikte artış meydana getirir. AKT, invazyonu, hücre motilitesi ve matriks metalloproteinaz 9 (MMP-9) üretimini arttırarak indükler. Bu bulgular, kanser hücrelerinin invazyon yeteneğinin, AKT bağımlı olduğunu göstermektedir (119). Son yıllarda, akciğer kanseri tedavisinde kullanmak üzere birçok AKT inhibitörü geliştirilmiştir (120).

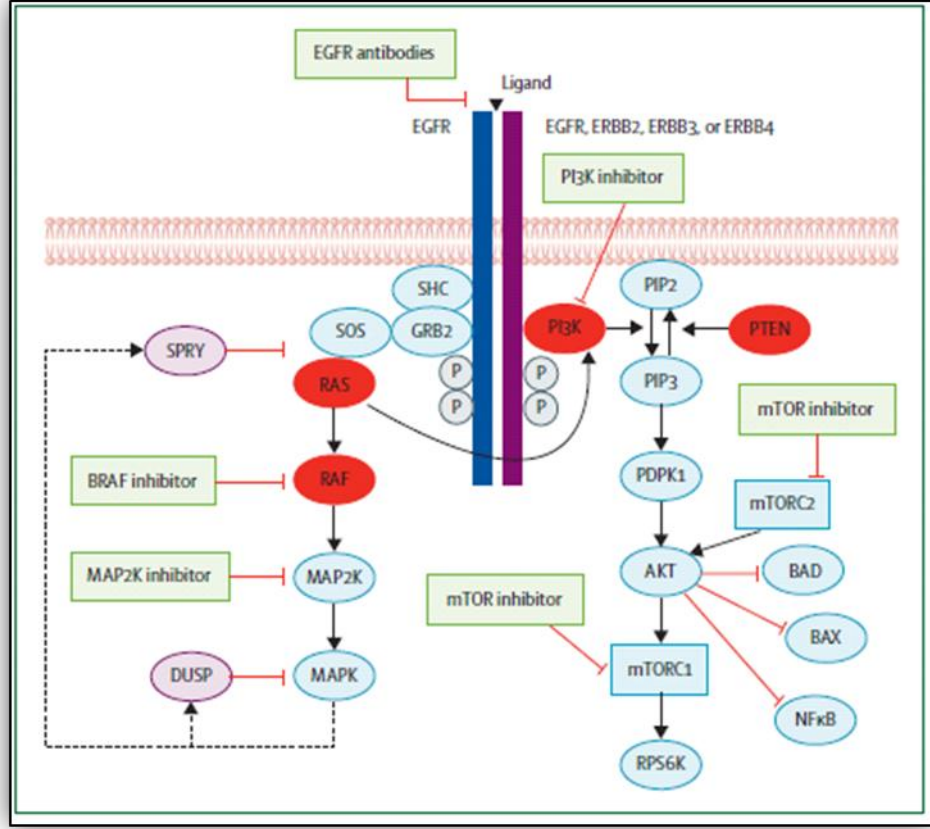
2.4.3.4. mTOR

mTOR, PI3K sinyal arayolunda rol oynayan bir serin/treonin alt yol elemanıdır. Fizyolojik koşullarda, mTOR, ökaryotik hücre büyümesi ve proliferasyonunun temel kontrol noktasıdır ve hücre büyümesi ve proliferasyon sırasında, mRNA translasyonu, transkripsiyon ve lipid sentezini de içine alan çok sayıda süreçte ve ayrıca hayatta kalma ve anjiyogenezi de içine alan önemli hücresel

fonksiyonlarda kritik role sahiptir (121). mTOR arayolu aktivasyonu ve mTOR overekspresyonu, hepatosellüler, renal hücreli, prostat ve meme kansinonlarını da içine alan birçok kanserde gösterilmiştir (122). mTOR iki multiprotein kompleksten oluşur: mTOR kompleks 1 (mTORC1) ve mTOR kompleks 2 (mTORC2). mTORC1 mitojenlere cevap olarak, S6K1 ve 4E-BP1'i doğrudan fosforile ederek translasyonu başlatır. mTORC2 ise bir PI3K arayol molekülü olan AKT ve protein kinaz C yi aktive edebilir (123). Bu nedenle mTOR inhibitörleri kanser hücrelerinde ortaya çıkan abartılı PI3K sinyali azaltabilirler. mTORun ATP-kompetitif inhibitörleri, mTORC1 ve mTORC2 aktivitesini baskılar. mTORC2, AKT'ı S473 bölgesinden fosforile ettiği için, mTOR kompetitif inhibitörleri, mTORC1 inhibisyonu sonucu, AKT'ın feedback uyarımını önleyerek, kanser tedavisinde rapamisine üstünlük sağlayabilir. Bununla birlikte, AKT'tan bağımsız olarak PI3K sinyali, feedback inhibisyon kaybına bağı olarak arttırabilirler (Şekil 2.11).

Kolorektal karsinomaların büyük çoğunluğunun kromozomal instabilite ve çok sayıda genetik mutasyonun (APC/ β -Catenin, KRAS, p53) birbirini takip etmesi sonucu ortaya çıkan klasik adenoma-karsinoma sekansı üzerinden geliştiği bilinmektedir (30). Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda kolorektal karsinomaların %20'ye yakın bir kısmının "serrated" arayol olarak adlandırılan başka bir arayoldan ve "serrated" poliplerden geliştiği gösterilmiştir. Bu tümörlerin gelişiminde, BRAF mutasyonları, DNA hipermetilasyonu ve mikrosatellit instabilitesinin sorumlu olabileceği düşünülmektedir (40,124,125). "Serrated" polipler, daha önce de anlatıldığı gibi histolojik olarak üç ayrı grup lezyondan oluşmaktadır: HP, SSA ve TSA. Özellikle SSA'lar ile MSI-H kanserler arasında, sağ kolon ağırlıklı yerleşim, sık BRAF mutasyonu ve daha az KRAS mutasyonu görülme oranının da içinde bulunduğu çok sayıda klinikopatolojik benzerlik bulunmaktadır (126,127). Progresyon gösteren poliplerde promotor hipermetilasyonuna bağı MLH1 ekspresyon kaybı ve β -catenin nükleer translokasyonu ile karakterli moleküler değişikliklerin de izlenmesi, SSA'ların proksimal kolon yerleşimli bazı MSI-H kanserlerin prekürsör lezyonu olduğu tezini desteklemekte ise de, tümöre ilerlemede, yer alan bütün moleküler detaylar henüz aydınlatılabilmiş değildir. Erken neoplastik transformasyon gösteren SSA'lar üzerinde yapılacak çalışmalar "serrated" neoplazi

arayolunun daha iyi anlaşılması, bu arayol üzerinden gelişen kanserlerin önlenmesini sağlayabilecektir (100,128).



Şekil 2.11. EGFR Sinyal Yolağında Kolorektal Kanser Tedavisi İçin Potansiyel Hedefler (91)

Sporadik kolorektal karsinoma gelişim sürecinde yer alan adenomatöz ve “serrated” poliplerin moleküler özellikleri ve bu özelliklerin karsinogenezdeki öneminin bilinmesi gelecek yıllarda kolorektal karsinoma erken tanı ve tedavisinde sağlanacak ilerlemelerde rol oynayabilecektir. Moleküler değişiklikler aydınlatıldıkça, öncü lezyonların karsinoma gelişim sürecindeki yerleri ve invaziv karsinomaya yol açma potansiyelleri de daha iyi anlaşılacaktır.

Tüm bu bilgiler ışığında, bu tez çalışmasında sporadik kolorektal karsinoma olguları ve öncü lezyonları arasında bulunan adenomatöz ve “serrated” poliplerde EGFR-RAS sinyal iletiminde rol oynayan iki temel arayol olan, RAS/MAPK ve

RAS/PI3K/AKT arayollarında yer alan moleküllerin dokudaki immünohistokimyasal ekspresyonlarının değerlendirilmesi ve literatür bilgileri eşliğinde, kolorektal karsinomların tanı ve tedavisinde rol oynayabilecek moleküllerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL-METOD

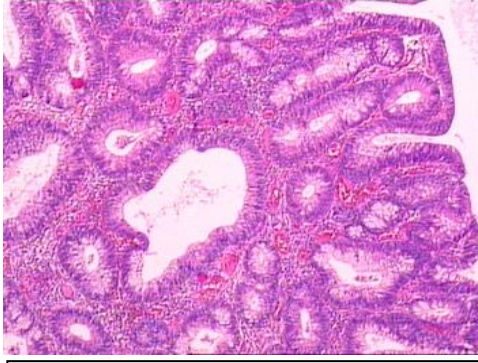
3.1. OLGU SEÇİMİ

A.Ü. Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış sporadik kolorektal karsinoma ve karsinoma öncüsü polip (TA, TVA, VA, HP, SSA ve KSA) olgularından, istatistiksel analize olanak verecek sayıda olgu, arşiv materyali arasından rastgele seçilerek çalışmaya dahil edilmiştir. Arşiv taraması sonuçlarına göre, elde edilen adenokarsinoma olgularının yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri, tümör tipi, lokalizasyonu, boyutu, lenfovasküler invazyon durumu, diferansiyasyon dereceleri ve tümör T, N, M durumu; polip olgularının yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri, lokalizasyonu, boyutu, polip tipi ve displazi durumları bilgisayar kayıtları ve patoloji istem formlarından tespit edilerek kaydedilmiştir.

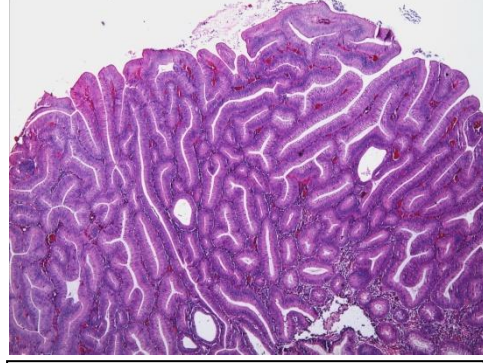
Çalışmamızda incelenecek olgu gruplarının oluşturulmasında, özellikle kolorektal karsinoma ve öncü lezyonları arasında karşılaştırma yapabilmeye olanak verecek olgu seçimine özen gösterilmiştir. Buna göre, öncü lezyonlar için “serrated” polip ana grubunda, hiperplastik polip (HP), sesil “serrated” adenoma/polip (SSA/P), klasik “serrated” adenoma (KSA) alt grupları; adenomatöz polip ana grubunda ise, tübüler adenoma (TA), tübülovillöz adenoma (TVA), villöz adenoma (VA) yer almıştır. Karsinoma ana grubu, konvansiyonel kolorektal adenokarsinoma (KonCA) ve müsinöz karsinomadan (MüsCA) oluşan alt grupları içermektedir (Resim 3.1). Çalışmamıza dahil edilen olgu grupları Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Olgu Grupları

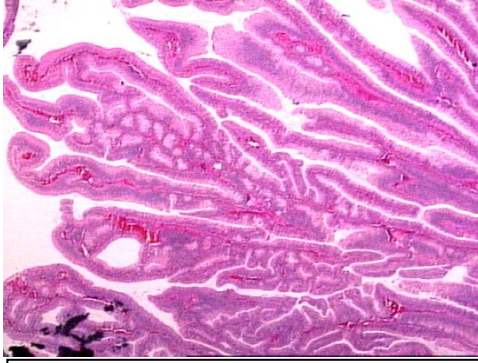
Tip	(n)
TA	19
TVA	24
VA	24
HP	24
SSA	14
KSA	13
KonCa	29
MüsCa	26
TOPLAM	173



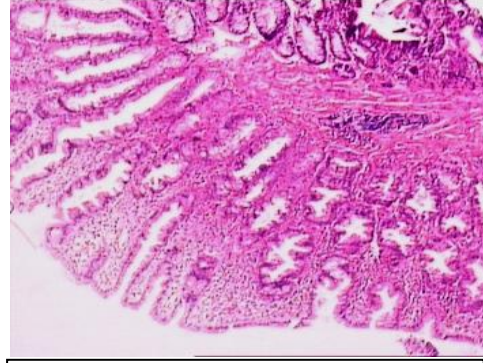
Resim 3.1a: Tübüler Adenoma



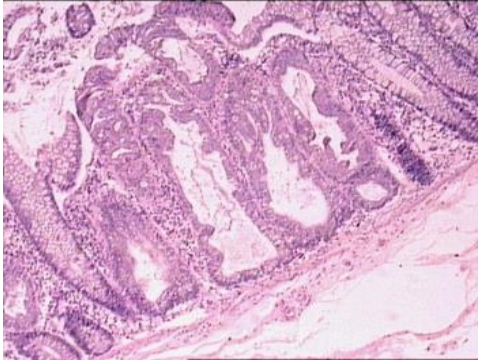
Resim 3.1b: Tübülovillöz Adenoma



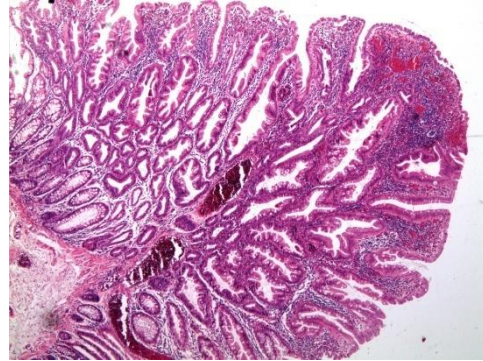
Resim 3.1c: Villöz Adenoma



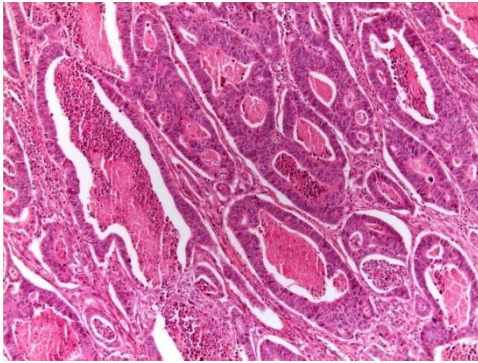
Resim 3.1d: Hiperplastik Polip



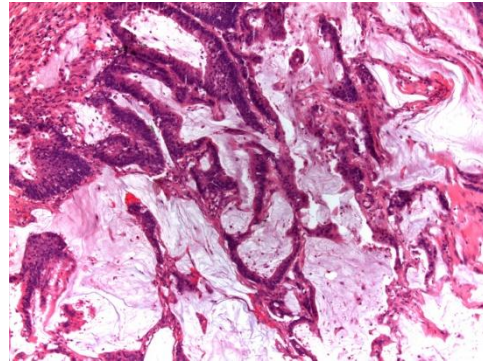
Resim 3.1e: Sesil “Serrated” Adenoma



Resim 3.1f: Klasik “Serrated” Adenoma



Resim 3.1g: Konvansiyonel Adenokarsinoma



Resim 3.1h: Müsinöz Adenokarsinoma

Resim 3.1. Olgu Tipleri

Tüm olgulara ait H&E boyalı preparatlar arşivden çıkarılarak yeniden mikroskopik olarak değerlendirilmiş ve doku “array” yöntemi için uygun olanlar ayrıca tespit edilmiştir. Doku “array” yapmaya imkan vermeyecek ölçüde küçük boyutta olan poliplere ait parafin bloklardan aynı lam üzerinde birden fazla olguyu değerlendirmeye imkan verecek şekilde kesitler alınmıştır.

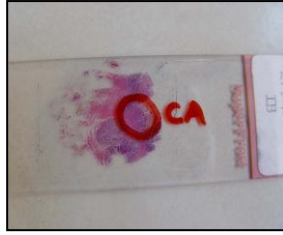
Çalışmamızda incelenecek olan her olgu grubunda istatistiksel analize olanak verecek sayıda olgu seçilmiştir. Seçilen her bir olguya ait H&E boyalı preparatlar yeniden değerlendirilerek histopatolojik tanıları gözden geçirilmiştir.

3.2. DOKU “ARRAY” YÖNTEMİ

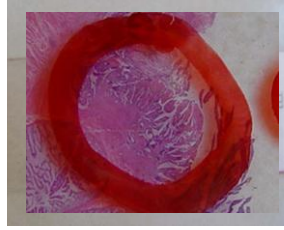
Doku “array” yöntemi, çok sayıda parafin bloktan elde edilen birçok dokunun aynı cam üzerinde incelenebilmesine olanak sağlayan bir tekniktir. Bu tekniğe göre “donör bloktan” biopsi iğneleri ile elde edilen çok sayıdaki doku silindiri “alıcı blokta” sıralanır. Aynı lam üzerinde incelenecek doku sayısı kullanılan biopsi iğnesinin çapına göre değişmektedir. Çalışmamızda, 5 mm. uzun çaplı dermatolojik “punch” biopsi iğnesi kullanılmıştır. Buna göre, aynı lam üzerinde 12 farklı doku incelenebilmiştir. Doku “array” yöntemi için aşağıda belirtilen hazırlık aşamaları uygulanmıştır:

- Seçilen tüm olgulara ait H&E boyalı preparatlar yeniden değerlendirilerek doku “array” için kullanılacak alanlar, H&E boyalı preparat üzerinde cam kalemi ile işaretlenmiştir (Resim3.2a,b).
- H&E boyalı preparatlar parafin doku bloğu ile karşılaştırılarak, H&E preparat üzerinde işaretlenen alanın donör parafin doku bloğu üzerinde de yeri tespit edilmiş ve cam kalemi ile işaretlenmiştir.
- Daha sonra, dermatolojik punch biopsi iğnesi (Resim3.2c) ile “donör parafin bloklardan” belirlenen alanlara ait doku silindirleri çıkarılmıştır (Resim3.2d). Her olgu için bir “silindir” kullanılmıştır (Resim 3.2e,f,g)
- Çıkarılan silindirler numaralandırılmış ve her bir “alıcı blok” için hazırlanan haritaya uygun şekilde 11 silindir (11 olgu) içeren yeni parafin blok hazırlanmıştır (Resim 3.2 h,j)

- Oluşturulan “alıcı bloklardan” 4 mikrometre kalınlığında kesitler polilizin ile kaplanmış lama alınarak, immunhistokimyasal inceleme için kullanılmak üzere saklanmıştır (Resim 3.2k,l,m).
- Her bir olgu grubu için hazırlanan kesitlerden biri H&E ile boyanmıştır.



Resim 3.2a



Resim 3.2b



Resim 3.2c



Resim 3.2d



Resim 3.2e



Resim 3.2f



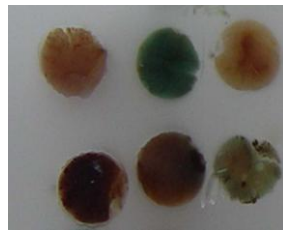
Resim 3.2g



Resim 3.2h



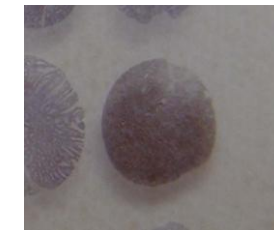
Resim 3.2i



Resim 3.2k



Resim 3.2l



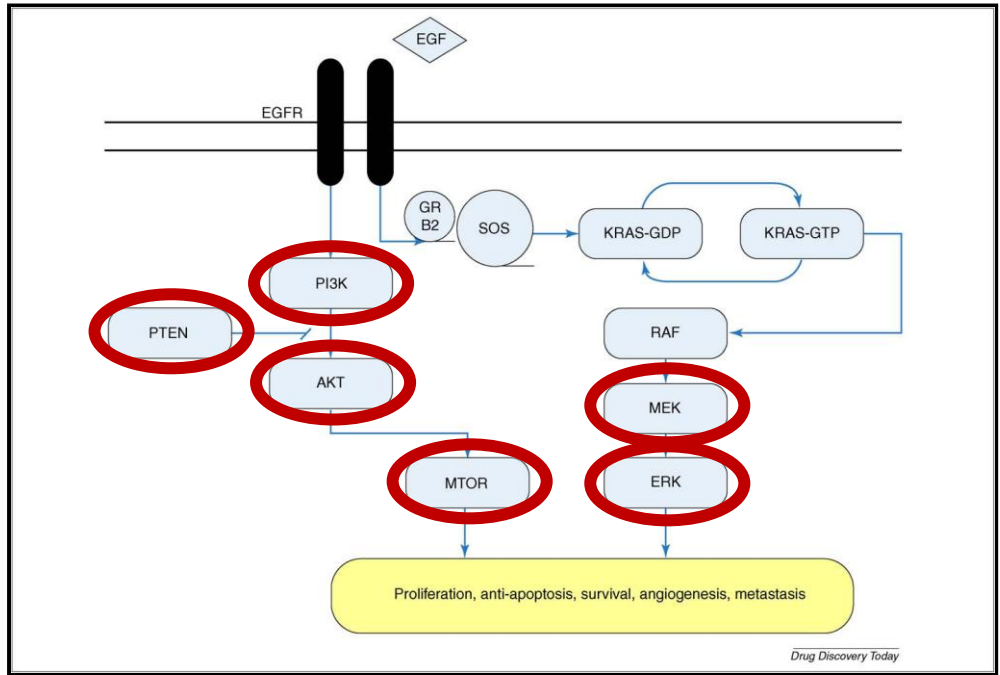
Resim 3.2m

Resim 3.2. Doku “Array” Yöntemi

3.3. İMMUNHİSTOKİMYASAL İNCELEME

3.3.1 Antikorlar

Çalışmamızda, sporadik kolorektal karsinomalar, adenomalar ve “serrated” poliplerden seçilen olgu gruplarında RAS/RAF/MAPK arayoluna ait hücre içi sinyal iletim molekülleri olan MEK1, ERK1, ERK2 ve PI3K/AKT/mTOR arayoluna ait hücre içi sinyal iletim molekülleri olan PI3K, PTEN, pAKT, mTOR ekspresyonları araştırılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. RAS aracılı sinyal iletim yollarında yer alan ve çalışmada incelenen moleküller (129)

3.3.1.1. İmmunhistokimyasal Boyama Yöntemi

Yapılan deneme boyalarında, pAKT, mTOR, MEK1 antikorları ile manuel yöntem, PI3K, PTEN, ERK1, ERK2 antikorları ile ise, Ventana otomatik boyama cihazında (Ventana Medical Systems-Roche ABD) daha iyi sonuç alındığı için immunhistokimyasal inceleme bu iki şekilde gerçekleştirilmiştir. Tüm antikorlarla gerek manuel, gerekse otomatik yöntemlerle yapılan immunhistokimyasal

boyamalarda streptavidin biotin peroksidaz yöntemi kullanılmıştır. İmmunhistokimyasal boyama yöntemi Tablo 3.2’de sunulmuştur.

Bunun için doku “makro-array” bloklarından 4 mikrometre kalınlığındaki kesitler, polilizin ile kaplanmış lama alınarak, deparafinize edildikten sonra immunohistokimyasal boyama basamaklarına geçilmiştir. Kesitlerin kurumaması için tüm basamaklar oda sıcaklığında ve nemli bir ortamda yapılmıştır. Deparafinizasyon işlemi için Tablo 3.3’te belirtilen basamaklar uygulanmıştır.

Tablo 3.2. Streptavidin Biotin Peroksidaz Yöntemi

1	Antijen “retrival”: Stok Solusyonları: A) 10,5 gr Citric Acid + 500 ml distile su B) 29,41 gr Tri-natrium citrat-2 hidrat + 1000 ml distile su Çalışma Solusyonu: 3 ml A + 147 ml B + 1350 ml distile su	Basınç oluştuktan sonra 2 dk.
2	Rehidratasyon: Distile su	5 dk.
3	Preparatlardaki dokuların pen marker ile çevrelenmesi	
4	TBS	2x5 dk.
5	Endojen peroksidaz aktivitesinin ortadan kaldırılması: %3 H ₂ O ₂	5 dk.
6	TBS	2x5 dk.
7	Primer antikor: pAKT (Abcam; 1/300) mTOR (Abcam; 1/400) MEK1 (Abcam; 1/50)	2 saat 2 saat 2 saat
8	TBS	2x5 dk.
9	Super Picture™ Polymer Detection Kit	10 dk.
13	TBS	2x5 dk.
14	Kromojen: DAB (3,3’- Diaminobenzidine Tetrahydrochloride Substrate Kit)	5 dk.
15	TBS	2x5 dk.
16	“Counter stain”: Mayer’s Hematoksilen	30 sn.
17	Musluk suyu	4 dk
18	Shandon “Immu-Mount” ile kapatma	

Tablo 3.3. Deparafinizasyon Basamakları

1	70 °C’lik etüv inkübasyonu	1 saat
2	Ksilen banyosu	2x5 dakika
3	Etil alkol banyosu	3x5 dakika

İmmunohistokimyasal incelemede kullanılan antikorlara ait klon, üretici firma özellikleri, immunohistokimyasal boyamada kullanılan yöntem, dilüsyon ve “antijen retrieval” ile ilgili bilgiler Tablo 3.4’te gösterilmiştir.

Tablo 3.4. Kullanılan Antikorların Özellikleri

Antikor	Klon	Üretici firma	Dilüsyon	Dilüent	Yöntem	“Antijen retrieval”	Kontrol dokusu
PI3K	Poliklonal	Novus (ABD)	1/25	Ventana Antibody Diluent	Ventana Otomatik	Sitrat	Meme CA
PTEN	P Ser385	Novus (ABD)	1/40	Ventana Antibody Diluent	Ventana Otomatik	Sitrat	Benign prostat dokusu+ Kolon CA
pAKT	Poliklonal	Abcam (İngiltere)	1/300	Ventana Antibody Diluent	Manuel	Sitrat	Kolon CA
mTOR	Y391	Abcam (İngiltere)	1/400	Ventana Antibody Diluent	Manuel	Sitrat	Prostat CA
MEK1	E342	Abcam (İngiltere)	1/50	Ventana Antibody Diluent	Manuel	Sitrat	Serviks yassı hücreli CA
ERK1	Poliklonal	Abcam (İngiltere)	1/100	Ventana Antibody Diluent	Ventana Otomatik	Sitrat	Plasenta
ERK2	5E8E1	Abcam (İngiltere)	1/500	Ventana Antibody Diluent	Ventana Otomatik	Sitrat	Meme CA

3.3.2. İmmunhistokimyasal İncelemenin Değerlendirilmesi

3.3.2.1. Kontrol Dokuları

Çalışmamızda, immunhistokimyasal incelemede, her bir antikor için en az bir pozitif ve negatif kontrol kullanılmıştır. PI3K için meme karsinomu, PTEN için kolon karsinomu ve benign prostat dokusu, pAKT için kolon karsinomu, mTOR için prostat karsinomu, MEK1 için serviks yassı hücreli karsinomu, ERK1 için plasenta, ERK2 için meme karsinomu pozitif kontrol dokuları olarak kullanılmıştır. İmmunhistokimyasal boyama işlemi sırasında primer antikor basamağı olmadan diğer basamakların uygulanarak yapıldığı boyamalar, negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

3.3.2.2. İmmünhistokimyasal Değerlendirme

Tüm antikorların immünhistokimyasal ekspresyonlarının değerlendirmesinde pozitif boyanmanın yaygınlığı, diffüz ya da fokal olarak gruplandırılmış, doku “array” kesitleri kullanıldığı için yaygınlık kesit alanının yüzde (%) değeri olarak verilmemiştir. Boyanma şiddeti değerlendirilirken, pozitif kontrol dokusunda ya da çalışılan olgulara ait kesitlerdeki iç kontrollerde izlenen boyanma şiddeti (+3) olarak kabul edilmiştir. Literatür eşliğinde kullanılan antikorların pozitiflik şiddetinin değerlendirilmesinde aşağıdaki yöntem kullanılmıştır.

%10’den fazla hücrede görülen zayıf ekspresyon (+1)

%10’den fazla hücrede görülen orta şiddette ekspresyon (+2) ve

%10’den fazla hücrede görülen kuvvetli ekspresyon (+3) olarak skorlanmıştır.

Tüm antikorlar için, pozitif boyanmanın hücre içindeki lokalizasyonu da ayrıca değerlendirilmiş ve sitoplazmik, membranöz, nükleer ve sitoplazmik+nükleer olarak sınıflandırılmıştır.

3.3.2.3. PI3K Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

Lezyonun %10'undan fazlasında görülen sitoplazmik, nükleer ve membranöz boyanma pozitif olarak kabul edilmiş ve boyanma şiddetine göre skarlama yapılmıştır.

3.3.2.4. PTEN Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

PTEN ile yapılan incelemede non-neoplastik kolon mukozasında, kolon epitel hücrelerinde, stromal hücrelerde ve vasküler endotel hücrelerinde izlenen nükleer boyanmanın derecesi (+3) olarak kabul edilmiş ve her doku kendi internal kontrolleri ve kontrol dokuları ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

3.3.2.5. pAKT Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

pAKT ekspresyonu değerlendirilirken, adenokarsinomalar, adenomatöz polipler ve serrated poliplerde %10'dan fazla görülen sitoplazmik ve nükleer lokalizasyonda izlenen boyanma pozitif olarak kabul edilmiş ve boyanma şiddetine göre skarlama yapılmıştır. Değerlendirme esnasında, polip dokularında displastik odaklarda gözlenen boyanma şiddeti değişiklikleri ayrıca kaydedilmiştir.

3.3.2.6. mTOR Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

mTOR ekspresyonu değerlendirilirken, adenokarsinomalar, adenomatöz polipler ve serrated poliplerde %10'dan fazla görülen sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edilmiş ve boyanma şiddetine göre skarlama yapılmıştır.

Değerlendirme esnasında, polip dokularında displastik odaklarda gözlenen boyanma şiddeti değişiklikleri ayrıca kaydedilmiştir.

3.3.2.7. MEK-1 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

MEK-1 ekspresyonu değerlendirilirken, adenokarsinomalar, adenomatöz polipler ve serrated poliplerde %10'dan fazla görülen sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edilmiş ve boyanma şiddetine göre skarlama yapılmıştır. Nükleer boyanmanın ön plana çıktığı olgular ayrıca kaydedilmiştir.

3.3.2.8. ERK-1 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

ERK-1 ekspresyonu değerlendirilirken, normal kolon mukoza epiteli ve stromal hücrelerde sitoplazmik boyanmanın derecesi (+3) olarak kabul edilmiş ve her doku, kontrol dokusu ve kendi internal kontrolleri ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

3.3.2.9. ERK-2 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

ERK-2 ekspresyonu değerlendirilirken, adenokarsinomalar, adenomatöz polipler ve serrated poliplerde %10'dan fazla görülen sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edilmiş ve boyanma şiddetine göre skorelama yapılmıştır.

3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel analiz, olgu gruplarına ve olgu alt tiplerine göre yapılmıştır. Buna göre ana olgu grupları olan polip ve karsinomlar, daha sonra polip alt gruplarına (adenomlar ve “serrated” polipler) ve karsinom alt gruplarına (konvansiyonel CA, müsinöz CA) ayrılmışlardır. Adenomatöz polipler (TA, TVA, VA), “serrated” polipler ise (HP, SSA, KSA) polip alt tiplerine doğru sınıflandırılarak birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

Tüm veriler için gruplar arasındaki karşılaştırmalar Kruskal-Wallis “Multiple Comparisons” test, “Fisher’s exact” test, Mann-Whitney U ve X^2 (“Chi square”) test ile değerlendirilmiştir. Değişkenler arasındaki ilişki, Spearman’ın korelasyon katsayısı testi ile incelenmiştir. İstatistiksel olarak saptanan 0,05’in altındaki p değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. OLGULAR

A.Ü. Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış sporadik kolorektal karsinoma ve karsinoma öncüsü polip (TA, TVA, VA, HP, SSA ve KSA) olgularından, doku “array” yöntemiyle, örneklemeye ve istatistiksel analize olanak verecek sayıda olgu, arşiv materyali arasından rastgele seçilerek çalışmaya dahil edilmiştir. Olgular, 118 polip, 55 karsinomadan oluşmuş, poliplerden 67'si adenomatöz polip (AP), 51'i “serrated” polip (SP) olarak gruplanmış, karsinomaların 29'u konvansiyonel karsinoma (KonCa), 26'sı ise müsinöz karsinoma (MüsCa) olarak tiplendirilmiştir. Polip ve karsinoma alt tiplerinin dağılımı Tablo 4.1'de belirtilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışmada incelenen olgu grupları

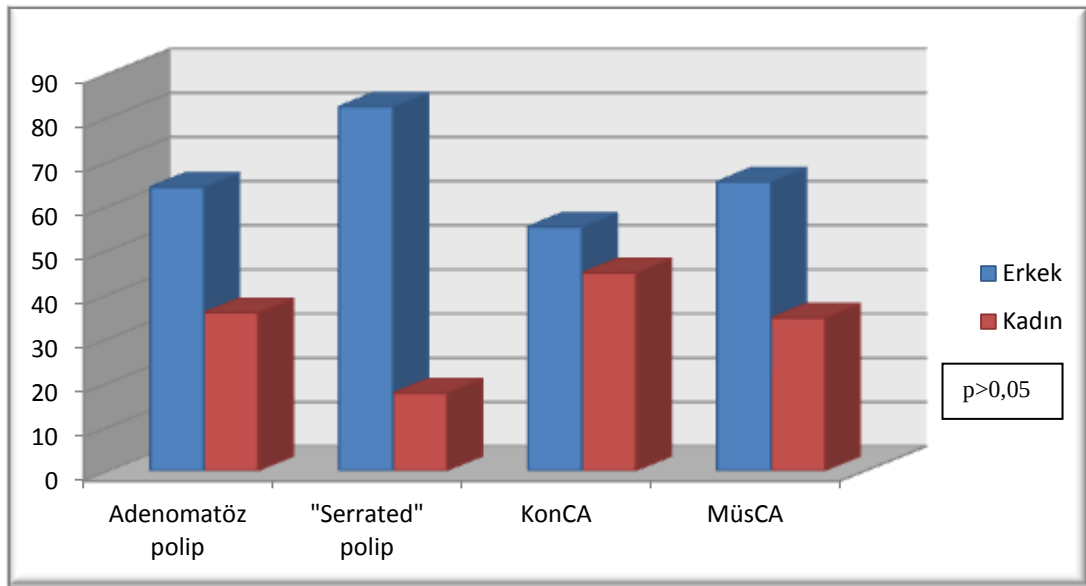
Tip	(n)
TA	19
TVA	24
VA	24
HP	24
SSA	14
KSA	13
KonCa	29
MüsCa	26
TOPLAM	173

Poliplerde displazi varlığı, karsinomalarda tümör grade'i, lenfovasküler invazyon varlığı (LVI) ve TNM durumu ayrıca belirlenmiştir.

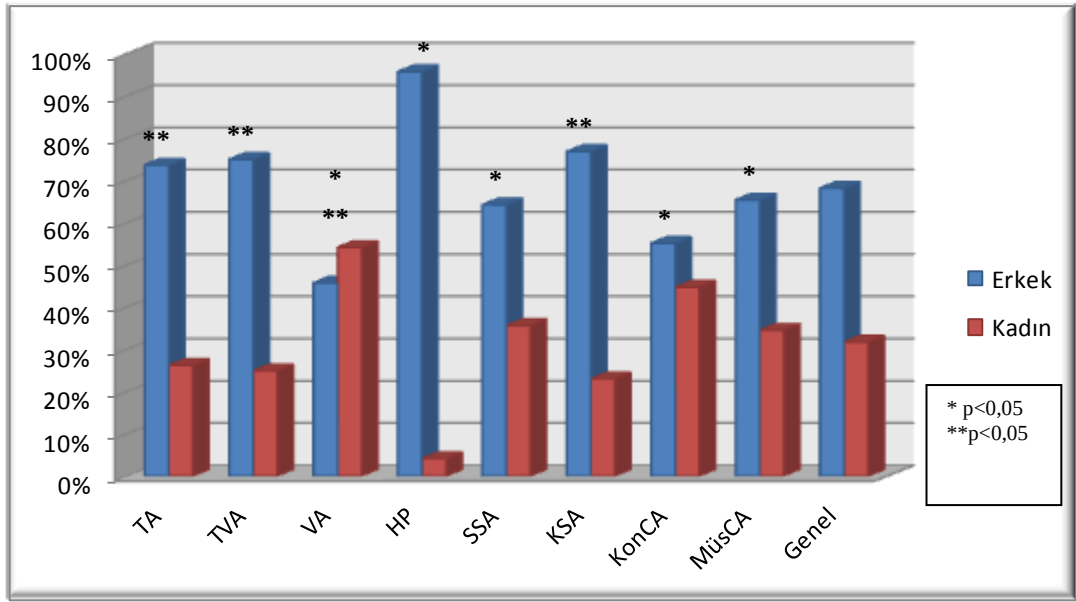
Çalışmaya dahil edilen toplam 173 olgunun %31,8'i kadın ve %68,2'si erkektir. Polip olgularının %28'i kadın ve %72'si erkek; karsinoma olgularının %40'ı kadın ve %60'ı erkektir. Cinsiyet dağılımı açısından polip ve karsinoma grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$).

Olgu alt tiplerinde cinsiyet dağılımı değerlendirildiğinde TA'da erkek (%73,7 erkek, %26,3 kadın), TVA'da erkek (%75 erkek, %25 kadın), VA'da kadın (%45,8 erkek, %54,2 kadın), HP'de erkek (%95,8 erkek, %4,2 kadın), SSA'da erkek (%64,3 erkek, %35,7 kadın), KSA'da erkek (%76,9 erkek, %23,1 kadın), konCA'da erkek (%55,2 erkek, %44,8 kadın), müsCA'da erkek (%65,4 erkek, %34,6 kadın) predominansı olduğu izlenmiştir.

TA, TVA ve KSA'da erkek oranının VA'ya göre ($p<0,05$); HP'de erkek oranının VA ($p<0,05$), SSA ($p<0,05$), konCA ($p<0,05$) ve müsCA ($p<0,05$) ya göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek olduğu saptanmıştır. Polip ve karsinoma gruplarına göre cinsiyet dağılımı Şekil 4.1; polip ve karsinoma alt tiplerine göre cinsiyet dağılımı Şekil 4.2 ile gösterilmiştir.

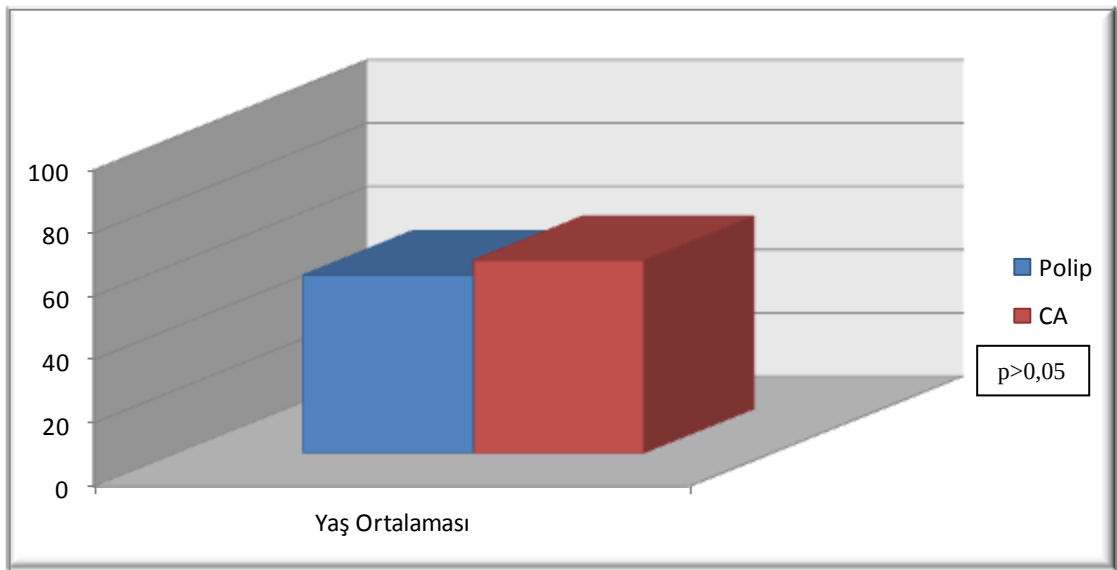


Şekil 4.1. Polip ve karsinoma gruplarına göre cinsiyet dağılımı



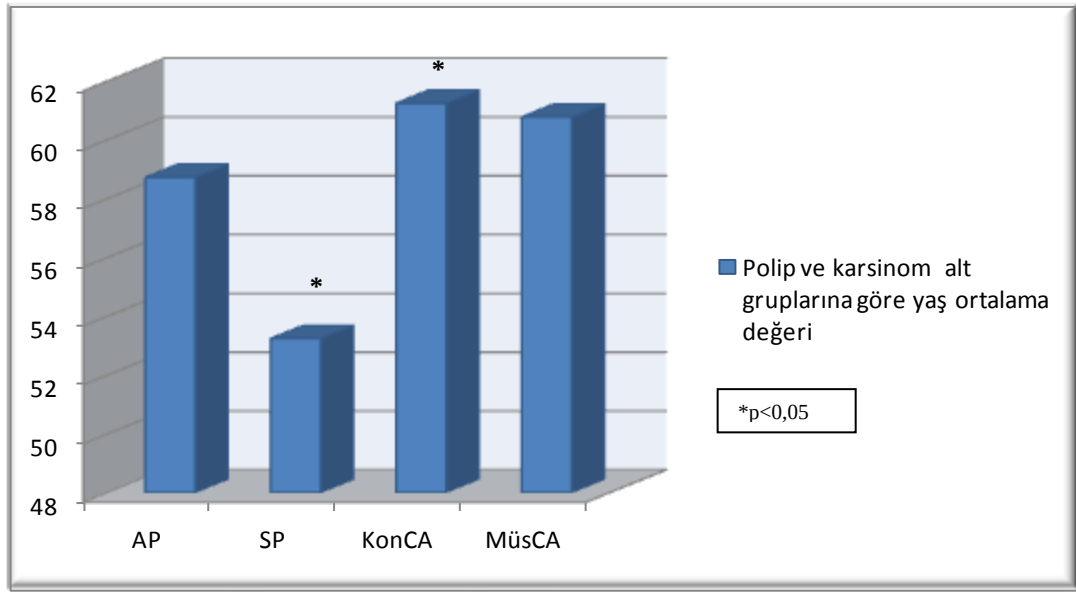
Şekil 4.2. Polip ve karsinoma alt tiplerine göre cinsiyet dağılımı

Çalışmamızda yer alan olguların yaş dağılımının 18-92 yaş arasında değiştiği görülmüştür. Polip grubunda yaş dağılımı 28-92 arasında değişirken (ortalama yaş = $56,35 \pm 11,834$), CA grubunda 18-82 (ortalama yaş = $61,02 \pm 12,222$) arasındadır. Tüm olguların yaş ortalaması $57,83 \pm 12,121$ iken, kadınlarda $59,98 \pm 12,05$, erkeklerde $56,83 \pm 12,07$ olarak hesaplanmıştır. Yaş ortalama değerleri açısından polip ve CA grupları arasında izlenen fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Olgu gruplarına göre yaş ortalama değerleri Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3 Olgu gruplarına göre yaş ortalama değerleri

Polip alt grupları (AP ortalama yaş = $58,72 \pm 13,40$ – SP ortalama yaş = $53,24 \pm 8,55$) ve CA alt grupları (KonCA ortalama yaş = $61,24 \pm 9,93$ - MüsCA ortalama yaş = $60,77 \pm 14,56$) arasında, yaş ortalama değerleri açısından anlamlı fark izlenmemiştir. Yaş ortalamaları, olgu gruplarına göre birbirleri ile karşılaştırıldığında, SP grubu yaş ortalamasının konCA grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Polip ve CA gruplarına göre yaş ortalama değerleri Şekil 4.4’te gösterilmiştir.

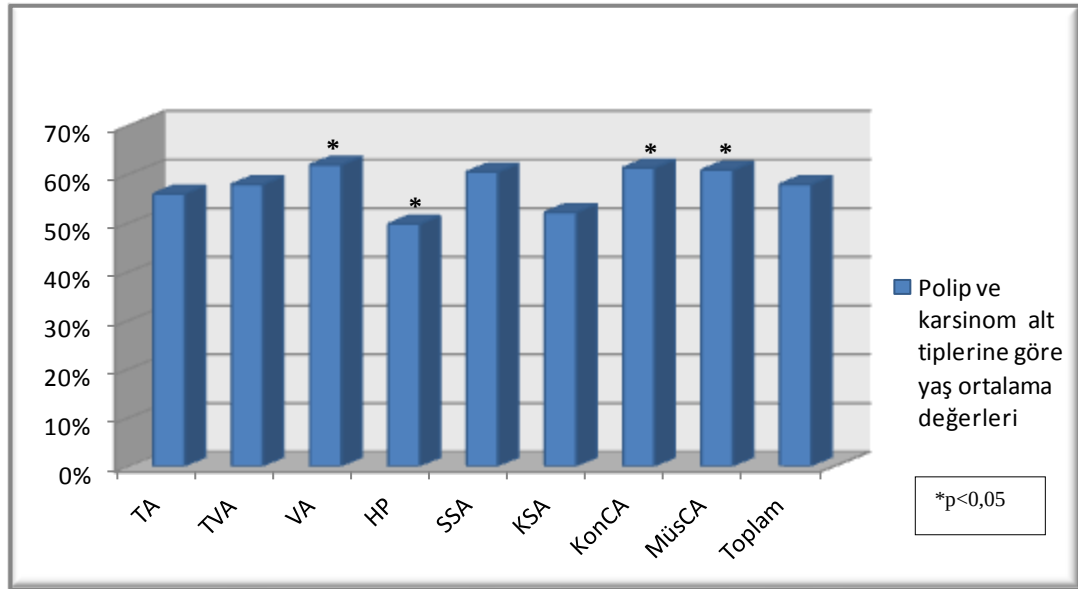


Şekil 4.4. Polip ve karsinoma alt gruplarına göre yaş ortalama değerleri

Yaş ortalamaları, olgu alt tiplerine göre (TA = $55,89 \pm 14,201$, TVA = $57,83 \pm 13,157$, VA = $61,83 \pm 12,920$, HP = $49,71 \pm 5,583$, SSA = $60,36 \pm 9,086$, KSA = $52,08 \pm 8,391$, konCA = $61,24 \pm 9,934$, müsCA = $60,77 \pm 14,561$) birbirleri ile karşılaştırıldığında; HP grubu yaş ortalama değerinin, VA ($p < 0,05$), konCA ($p < 0,05$) ve müsCA ($p < 0,05$) gruplarına oranla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük olduğu saptanmıştır. Polip ve karsinoma alt tiplerine göre yaş dağılımı aralıkları ve yaş ortalama değerleri Tablo 4.2 ve Şekil 4.5’te gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Polip ve karsinoma alt tiplerine göre yaş dağılımı aralıkları ve ortalama değerleri

TİP	(n)	X±SD	Min-Maks
TA	19	55,89±14,201	31-81
TVA	24	57,83±13,157	30-80
VA	24	61,83±12,920	28-92
HP	24	49,71±5,583	44-74
SSA	14	60,36±9,086	48-76
KSA	13	52,08±8,391	40-71
KonCA	29	61,24±9,934	39-78
MüsCA	26	60,77±14,561	18-92
TOPLAM	173	57,83±12,121	18-92



Şekil 4.5. Polip ve karsinoma alt tiplerine göre yaş ortalama değerleri

Lokalizasyon açısından, olgularımızın kolonun anatomik bölgelerine göre dağılımlarının heterojen olması nedeniyle, istatistiksel analiz ve sağlıklı değerlendirme yapılabilmesi için, olgular sağ ve sol kolon lokalizasyonuna göre gruplandırılmıştır. Buna göre, tüm olguların %38,7'sinin sağ kolon, %61,3'ünün sol kolon lokalizasyonunda yer aldığı saptanmıştır. Olgu gruplarının lokalizasyonları değerlendirildiğinde, poliplerin %32,2'sinin sağ kolon, %67,8'inin sol kolon; CA'ların %52,7'sinin sağ kolon, %47,3'ünün sol kolon yerleşimli oldukları izlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05). Polip gruplarının

lokalizasyonları değerlendirildiğinde, AP'lerin %9 sağ kolon, %91 sol kolon; SP'lerin %62,7 sağ kolon, %37,3 sol kolon lokalizasyonlu oldukları görülmüştür. Sol kolon lokalizasyonlu AP'lerin oranı, SP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p<0,001$) yüksek bulunmuştur. Ca gruplarının lokalizasyonları değerlendirildiğinde konCA grubunun (%48,3 sağ kolon, %51,7 sol kolon), müsCA grubuna oranla (%57,7 sağ kolon, %42,3 sol kolon) daha fazla sol kolonda yerleşim gösterdikleri izlenmiş, fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Polip ve karsinoma gruplarına göre lokalizasyon dağılımı Tablo 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Polip ve karsinoma alt gruplarına göre lokalizasyon

Polip alt tiplerine bakıldığında, TA grubunun %73,7 sol kolon, TVA grubunun %95,8 sol kolon, VA grubunun %100 sol kolon, HP grubunun %79,2 sağ kolon, SSA grubunun %64,3 sol kolon, KSA grubunun %61,5 sağ kolon lokalizasyonlu oldukları görülmüştür. Olgü alt tipleri lokalizasyon açısından birbirleri ile karşılaştırıldığında TA grubu ile VA ($p<0,05$), HP ($p<0,001$), KSA ($p<0,05$), konCA ($p<0,05$) grupları; TA grubu ile HP ($p<0,001$), SSA ($p<0,05$), KSA ($p<0,001$), konCA ($p<0,001$) ve müsCA ($p<0,001$) grupları; VA grubu ile HP ($p<0,001$), SSA ($p<0,001$), KSA ($p<0,001$), konCA ($p<0,001$), müsCA ($p<0,001$) grupları; HP grubu ile SSA ($p<0,001$) ve konCA ($p<0,05$) grupları arasında anlamlı istatistiksel fark izlenmiş, diğer alt tipler arasında izlenen farklar istatistiksel olarak

anlamli bulunmamıştır ($p>0,05$). Polip ve karsinoma alt tiplerinin sağ ve sol kolondaki lokalizasyonuna göre dağılımları Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Polip ve karsinoma alt tiplerinin sağ ve sol kolon lokalizasyonuna göre dağılımı

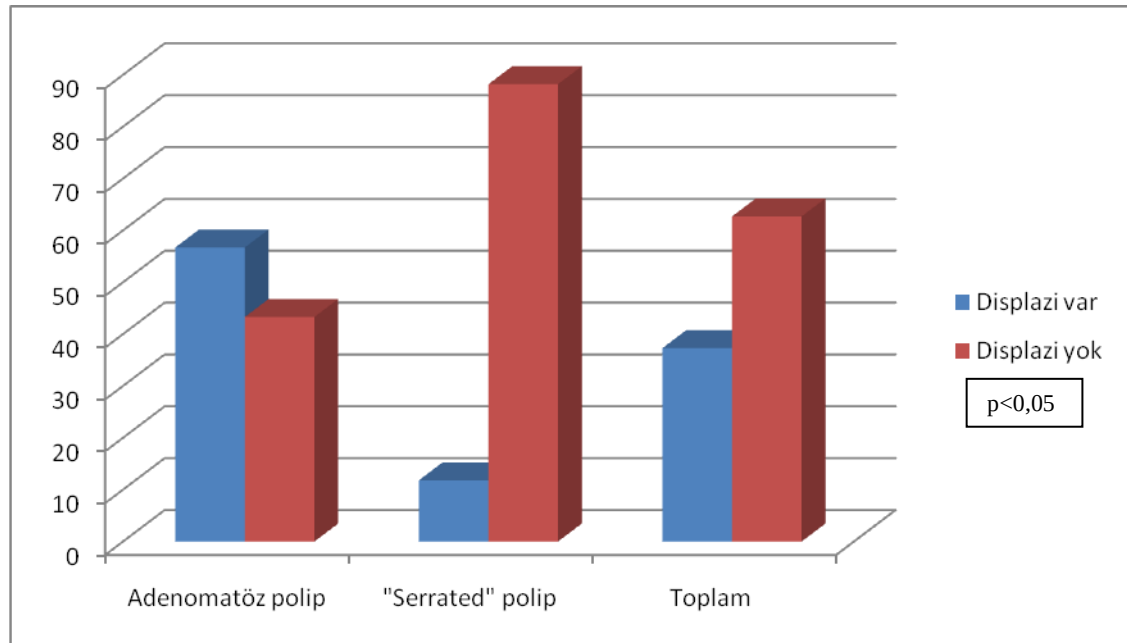
Yerleşim		TA	TVA	VA	HP	SSA	KSA	KonCA	MüsCA	TOPLAM
Sağ kolon	(n)	5	1	0	19	5	8	14	15	67
	%	26,3	4,2	-	79,2	35,7	61,5	48,3	57,7	38,7
Sol Kolon	(n)	14	23	24	5	9	5	15	11	106
	%	73,7	95,8	100	20,8	64,3	38,5	51,7	42,3	61,3
TOPLAM	(n)	19	24	24	24	14	13	29	26	173
	%	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Tüm olgular değerlendirildiğinde polip çaplarının 2-60 mm. arasında (ortalama çap = $10,70\pm8,28$), tümör çaplarının ise 10-160 mm. arasında (ortalama çap = $56,30\pm28,28$) değiştiği görölmüştür. Polip apı, CA çapından istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşüktür ($p<0,001$). Olgu gruplarına bakıldığında, ortalama ap AP'lerde $14\pm8,96$, SP'lerde $6,3\pm4,5$, konCA grubunda $49,79\pm27,74$, müsCA grubunda $63,57\pm26,77$ olarak belirlenmiştir. Her iki polip grubunda çap, her iki karsinoma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda ($p<0,001$) düşük bulunmuştur. Polip alt tipleri değerlendirildiğinde, en büyük çapa sahip poliplerin VA ($18,54\pm12,39$) grubuna ait oldukları ve bunları azalan şekilde TVA ($13\pm5,33$), TA ($9,52\pm3,47$), KSA ($10,23\pm5,46$), SSA ($7,14\pm4,62$) ve HP ($3,83\pm1,49$) grubu poliplerin izlediği görölmüştür. Buna göre hiperplastik polipten, AP ve CA grubuna doğru gittikçe olguların çaplarında istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Ayrıca polip çapı ortalama değerinin, displazi gösteren poliplerde ($15,75\pm7,70$) displazi göstermeyen poliplere oranla, daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). ap ortalama değerini açısından konCA ($49,79\pm27,74$) ve müsCA ($63,57\pm22,92$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$). Polip ve CA alt tiplerine göre ap Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Polip ve karsinoma alt tiplerine göre çap (mm.)

TİP	(n)	X $\pm$ SD	Min-Maks.
TA	19	9,52 $\pm$ 3,47	5-17
TVA	24	13 $\pm$ 5,33	2-25
VA	24	18,54 $\pm$ 12,39	3-60
HP	24	3,83 $\pm$ 1,49	2-8
SSA	14	7,14 $\pm$ 4,62	3-20
KSA	13	10,23 $\pm$ 5,46	4-20
KonCA	29	49,79 $\pm$ 27,74	10-160
MüsCA	26	63,57 $\pm$ 22,92	30-110
Toplam	173	25,20 $\pm$ 26,77	2-160

Polipler, displazi varlığı açısından değerlendirildiğinde, %37.3'ünde displazi saptanmıştır. AP'lerin %56,7'sinde, SP'lerin %11,8'inde displazi saptanmıştır. APlerde izlenen displazi oranı, "serrated" poliplerde izlenen displazi oranlarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p<0,001$). Polip gruplarında displazi oranları şekil 4.7'de gösterilmiştir.



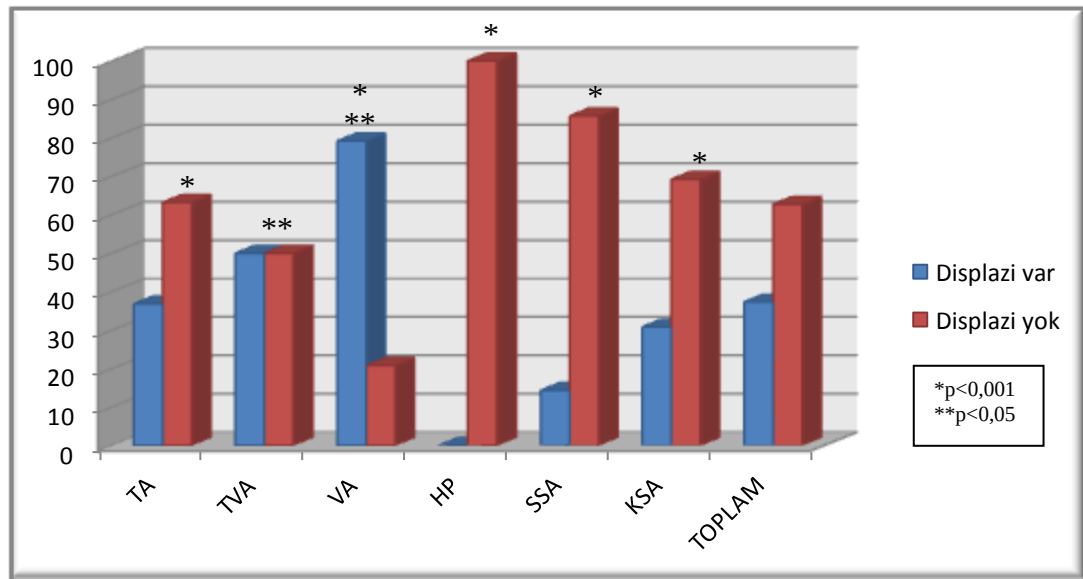
şekil 4.7. Polip gruplarında displazi oranları

Polip alt tipleri tek tek ele alındığında, en yüksek oranda displazi VA (%79,2) grubunda bulunmakta, bunu sırasıyla TVA (%50), TA (36,8), KSA (%30,8) ve SSA (14,3) grupları izlemektedir. Bu alt tipler arasında VA ile TVA ($p<0,05$), TA

($p<0,001$), KSA ($p<0,001$), SSA ($p<0,001$) ve HP ($p<0,001$) arasında izlenen fark ve TVA ile SSA ($p<0,05$) arasında izlenen fark, istatistiksel olarak anlamlıdır. Polip alt tiplerinin displazi derecelerine göre dağılımı Tablo 4.5 ve Şekil 4.8’de gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Polip alt tiplerinde displazi

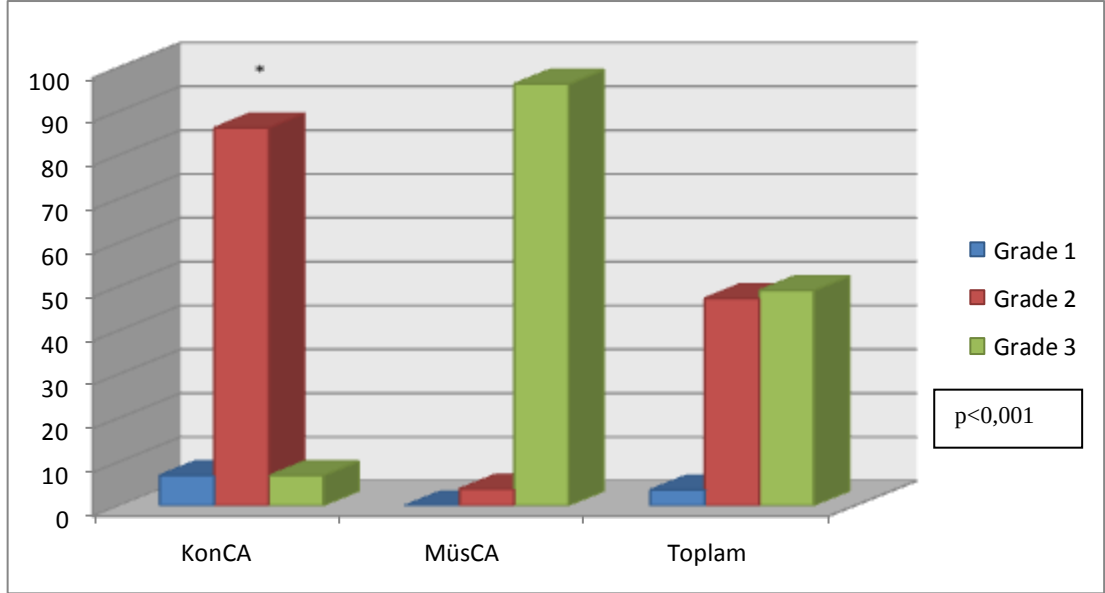
POLİP ALT TİP	DİSPLAZİ				TOPLAM	
	VAR		YOK			
	(n)	%	(n)	%		
TA	7	36,8	12	63,2	19	100
TVA	12	50,0	12	50,0	24	100
VA	19	79,2	5	20,8	24	100
HP	0	-	24	100,0	24	100
SSA	2	14,3	12	85,7	14	100
KSA	4	30,8	9	69,2	13	100
TOPLAM	44	37,3	74	62,7	118	100



Şekil 4.8. Polip alt tiplerinde displazi oranları

Karsinomalar diferansiyasyon açısından değerlendirildiğinde olguların %3,6 oranında grade 1, %47,3 oranında grade 2, %49,1 oranında ise grade 3 özellikte oldukları; KonCA grubunda bulunan olguların %6,9 oranında grade 1, %86,2 oranında grade 2, %6,9 oranında grade 3 özellikte oldukları; müsCA grubunda

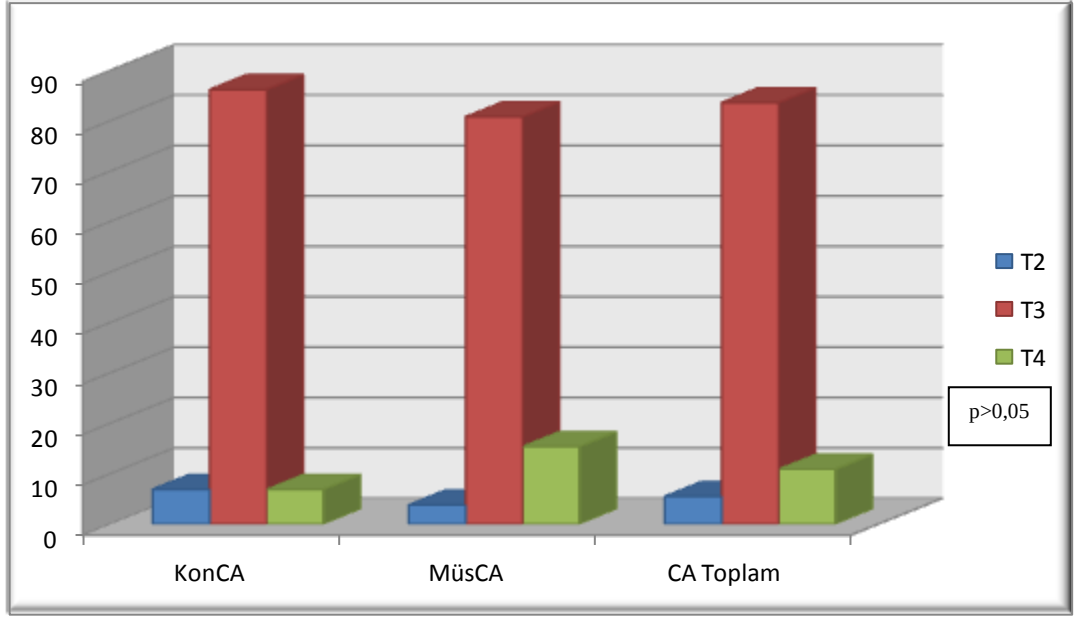
bulunan olguların ise %3,8 oranında grade 2, %96,2 oranında grade 3 özellikte oldukları saptanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). CA olgularının grade dağılımı Şekil 4.9’da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Karsinoma gruplarında grade dağılımı

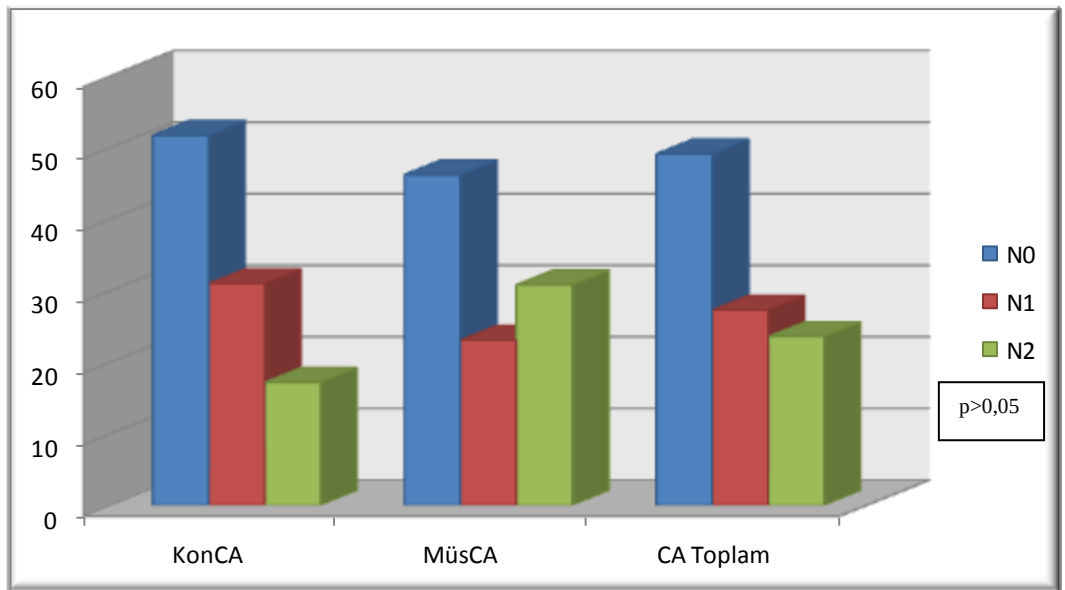
CA vakalarında LVI değerlendirilmiş ve %30,9 vakada LVI bulunduğu gözlenmiştir. KonCA grubunda LVI oranı %41,4 iken, müsCA grubunda LVI oranı %19,2 olarak hesaplanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

CA olgularının %5,5’i T2, %83,6’sı T3, %10,9’u T4; konCA’ların %6,9’u T2, %86,2’si T3, %6,9’u T4; müsCA’ların %3,8’i T2, %80,8’i T3, %15,4’ü T4 özelliktedir. Ca olgularının T değeri dağılımları Şekil 4.10’da gösterilmiştir.



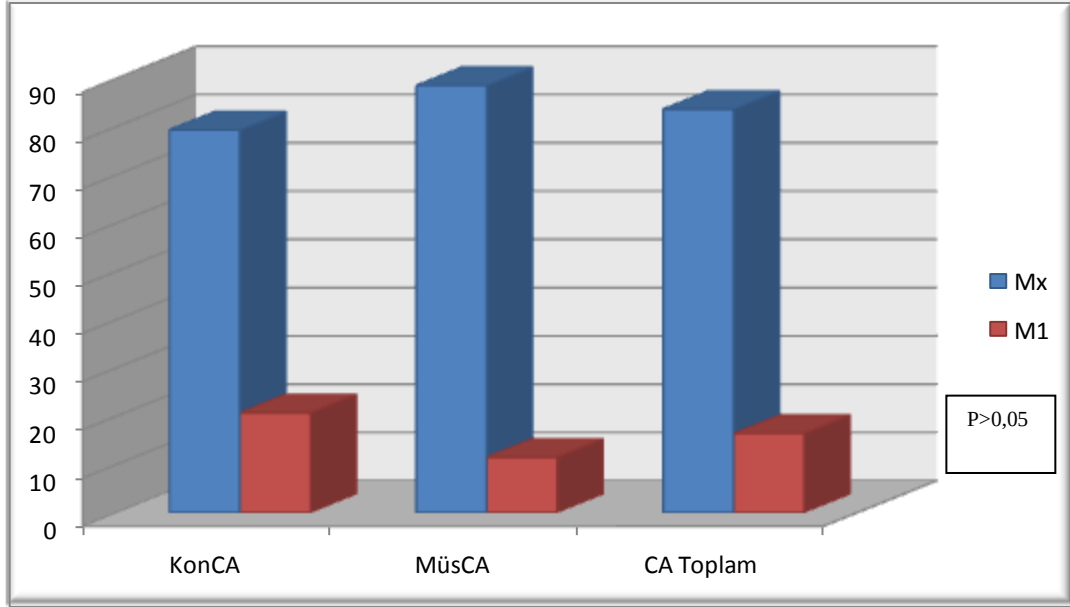
Şekil 4.10. Karsinoma gruplarında tümör invazyon derinliği oranları

Tüm karsinoma olgularının %50,9'unda lenf nodu metastazı bulunmaktadır. Olguların %27,3'ü N1, %23,6'sı N2 kategoridedir. KonCA grubunda, lenf nodu metastaz oranı %48,3 (%31 N1, %17,3 N2) iken, müsCA grubunda, lenf nodu metastaz oranı % 53,8 (%23,1 N1, %30,7 N2) olarak hesaplanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). CA olgularında N durumu dağılımları oranları Şekil 4.11'de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. Karsinoma gruplarında lenf nodu metastaz dağılımı

CA olgularının % 16,4'ünde uzak organ metastazı bulunmaktadır. KonCA grubunda uzak organ metastazı oranı %20,7 iken müsCA grubunda uzak organ metastazı oranı %11,5 olarak hesaplanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Karsinoma olgularında metastaz dağılımı oranları Şekil 4.12'de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. Karsinoma gruplarında uzak organ metastaz dağılımı

4.2. İMMÜNHİSTOKİMYASAL İNCELEME SONUÇLARI

4.2.1. RAS-RAF-MAPK Arayolunda Yer Alan Moleküller

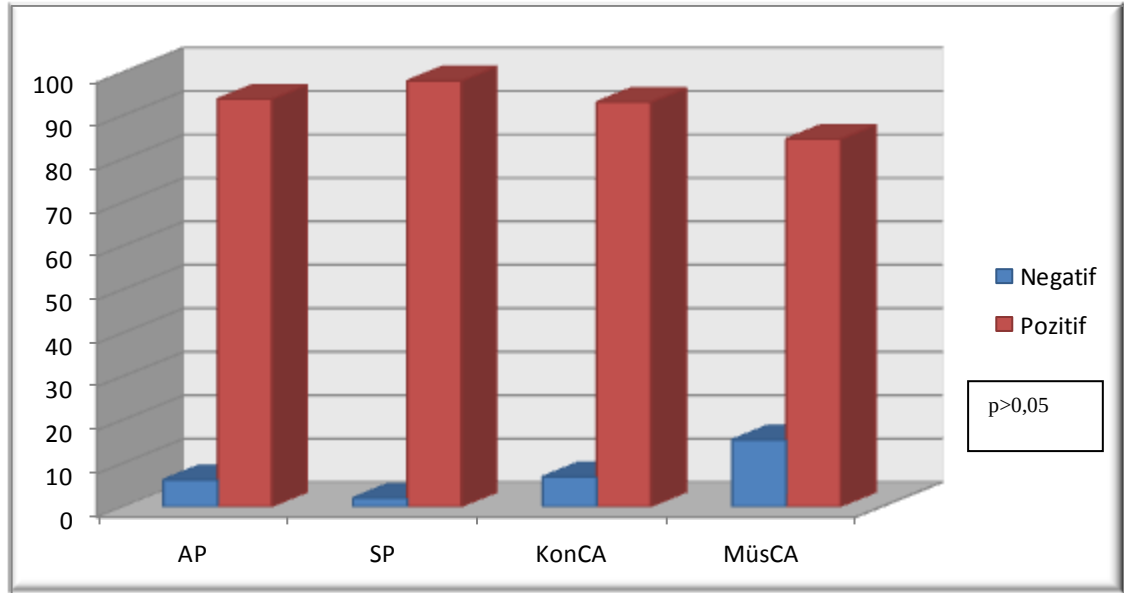
4.2.1.1. MEK1 Ekspresyonu

MEK1 ile yapılan incelemede tüm olguların %93,6'sında; poliplerin %95,7'sinde, CA'ların %89,1'inde ekspresyon izlenmiştir. Ekspresyon oranı açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). MEK1 ekspresyonu ile ilgili sonuçlar polip gruplarına göre değerlendirildiğinde (AP %93,8, SP %98) anlamlı istatistiksel fark izlenmemiştir ($p>0,05$). CA alt grupları (konCA %93,1, müsCA %84,6) arasında ekspresyon oranları açısından anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Polip ve CA alt grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında,

gruplar arasında MEK1 ekspresyon oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). Polip alt tipleri birbiri ile karşılaştırıldığında, TA (%84,2), TVA (%100), VA (%95,5), HP (%95,8), SSA (%100) ve KSA (%100) gruplarında izlenen MEK1 ekspresyon oranları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Polip ve karsinoma gruplarında MEK1 ekspresyonu Tablo 4.6 ve Şekil 4.13'te gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Polip ve karsinoma gruplarında MEK1 ekspresyonu

MEK1	Negatif n %	Pozitif n %	TOPLAM n %
AP	4 6,2	61 93,8	65 100
“Serrated” Polip	1 2	50 98	51 100
KonCA	2 6,9	27 93,1	29 100
MüsCA	4 15,4	22 84,6	26 100
TOPLAM	11 6,4	160 93,6	171 100



Şekil 4.13. Polip ve karsinoma gruplarında MEK1 ekspresyonu

MEK1 ekspresyon paternine bakıldığında, olguların %6,4'ünde fokal, %87,1'inde diffüz; poliplerin %9,5'inde fokal, %86,2'sinde diffüz; CA grubunun

%89,1’inde diffüz ekspresyon izlenmiştir. MEK1 yaygınlığı açısından CA grubunda, polip grubuna oranla diffüz ekspresyon oranının yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Polip grupları değerlendirildiğinde, AP (%84,6 diffüz) ve SP (%88,2 diffüz) arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$). CA alt gruplarına bakıldığında, konCA (%93,1 diffüz) ve müsCA (%84,6 diffüz) arasında benzer bulgular izlenmiştir ($p>0,05$). Polip alt grupları CA alt grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Polip alt tiplerinde MEK1 ekspresyon paterni değerlendirildiğinde, TA (%15,8 negatif, 26,3 fokal, %57,9 diffüz), TVA (%4,2 fokal, %95,8 diffüz), VA (%4,5 fokal, %95,5 diffüz), HP (%4,2 negatif, %16,7 fokal, %79,2 diffüz), SSA (%7,1 fokal, %92,9 diffüz), KSA (%100 diffüz) grupları arasında sırasıyla KSA, TVA, VA ve SSA gruplarında diffüz ekspresyon oranı TA ve HP gruplarına göre fazla bulunmakla birlikte, izlenen farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

Olguların %36,8’inde hafif şiddette, %47,4’ünde orta şiddette, %9,4’ünde şiddetli; poliplerin %41,4’ünde hafif şiddette, 45,7’sinde orta şiddette, %8,6’sında şiddetli; CA olgularının %27,3’ünde hafif şiddette, %50,9’unda orta şiddette, %10,9’unda ise şiddetli MEK1 ekspresyonu mevcuttur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

MEK1 ekspresyon şiddeti ortalama değerleri, genel olarak tüm olgularda $1,60\pm0,748$; poliplerde $1,59\pm0,711$, CA’larda $1,62\pm0,828$ olarak hesaplanmıştır. Polip ve CA grubu arasında, MEK1 ekspresyon şiddeti ortalama değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). Polip grupları değerlendirildiğinde, AP ($1,60\pm0,766$) grubunda ekspresyon şiddeti SP ($1,57\pm0,640$) grubuna benzer bulunmuştur ($p>0,05$). CA tiplerine bakıldığında konCA ($1,72\pm0,751$) ve müsCA ($1,50\pm0,906$) grupları arasında anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). Polip grupları CA grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Polip tipleri tek tek değerlendirildiğinde, MEK1 ekspresyon şiddeti ortalama değeri TA grubunda $1,32\pm0,820$, TVA grubunda $1,83\pm0,761$, VA grubunda $1,59\pm0,666$, HP grubunda $1,25\pm0,532$, SSA grubunda $1,79\pm0,699$, KSA grubunda $1,92\pm0,494$ olarak hesaplanmıştır. Polip ve CA alt tipleri birbirleri ile

karşılaştırıldığında TA grubu ekspresyon şiddeti ortalama değeri KSA ($p<0,05$); HP grubu ekspresyon şiddeti ortalama değeri TVA ($p<0,05$), KSA ($p<0,01$), konCA ($p<0,05$) gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Polip ve karsinoma alt tiplerinde, MEK1 ekspresyon şiddeti oranları Tablo 4.7; polip ve karsinoma alt tiplerinde MEK1 ekspresyon şiddeti ortalama değerleri Tablo 4.8’de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Polip ve karsinoma alt tiplerinde MEK1 ekspresyon şiddeti oranları

MEK1	0		1		2		3		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
TA	3	15,8	8	42,1	7	36,8	1	5,3	19	100
TVA	0	0	9	37,5	10	41,7	5	20,8	24	100
VA	1	4,5	8	36,4	12	54,5	1	4,5	22	100
HP	1	4,2	16	66,7	7	29,2	0	0	24	100
SSA	0	0	5	35,7	7	50,0	2	14,3	14	100
KSA	0	0	2	15,4	10	76,9	1	7,7	13	100
KonCA	2	6,9	7	24,1	17	58,6	3	10,3	29	100
MüsCA	4	15,4	8	30,8	11	42,3	3	11,5	26	100
TOPLAM	11	6,4	63	36,8	81	47,4	16	9,4	171	100

Tablo 4.8. Polip ve karsinoma alt tiplerinde MEK1 ekspresyon şiddetinin ortalamaları

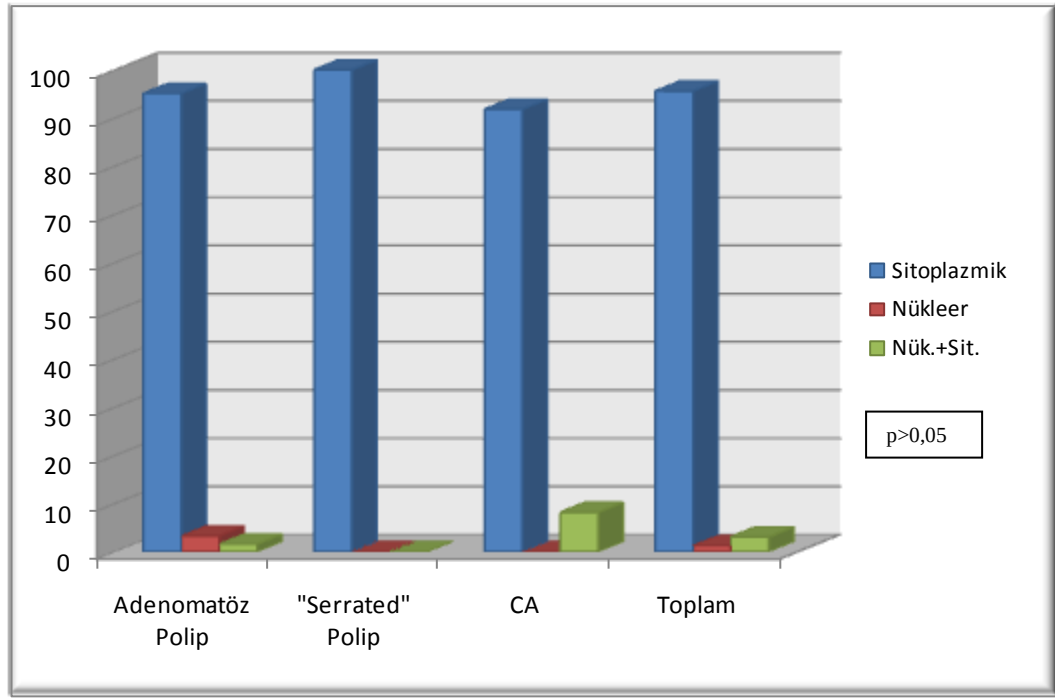
TİP	(n)	X± SD	Min-Maks.
TA	19	1,32±0,820	0-3
TVA	24	1,83±0,761	1-3
VA	22	1,59±0,666	0-3
HP	24	1,25±0,532	0-2
SSA	14	1,79±0,699	1-3
KSA	13	1,92±0,494	1-3
KonCA	29	1,72±0,751	0-3
MüsCA	26	1,50±0,906	0-3
TOPLAM	171	1,60±0,748	0-3

MEK1 ekspresyonu, genel olarak %95,6 olguda S, %1,3 olguda N, %3,1 olguda N+S lokalizasyonda; poliplerde %97,3 olguda S, %1,8 olguda N, %0,9

olguda N+S lokalizasyonda; CA’larda %91,8 olguda S, %8,2 olguda N+S lokalizasyonda izlenmiştir. Gruplar arasında izlenen lokalizasyon farkları istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Polip grupları, MEK1 ekspresyonunun hücresel lokalizasyonuna göre değerlendirildiğinde, AP (%95,1 S, %3,3 N, %1,6) ve SP (%100 S) grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). CA tiplerine bakıldığında konCA (%85,2 S, %14,8 N+S) ve müsCA (%100 S) gruplarında izlenen hücre içi lokalizasyonlara ait istatistiksel değerlendirme, N+S boyanma gösteren olgulardaki sayı azlığı sebebiyle yapılamamıştır. Polip gruplarının CA grupları ile karşılaştırılması sonrası aynı nedenle istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır. Polip tipleri değerlendirildiğinde TA (%81,3 S, %12,5 N, %6,3 N+S), TVA (%100 S), VA (%100 S), HP (%100 S), SSA (%100 S), KSA (%100 S) arasında izlenen farklar ve bunların CA grubunda izlenen oranlara olan farkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Polip ve karsinoma alt tiplerinde MEK1 ekspresyonunun hücre içi dağılımı Tablo 4.9; polip ve karsinoma gruplarında MEK1 ekspresyonunun hücre içi dağılımı Şekil 4.14’te gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Polip ve karsinoma alt tiplerinde MEK1 ekspresyonunun hücre içi lokalizasyonları

TİP	MEK1 LOKALİZASYONU							Min-Maks.
	(n)	S		N		N+S		
		(n)	%	(n)	%	(n)	%	
TA	16	13	81,3	2	12,5	1	6,3	0-3
TVA	24	24	100	0	0	0	0	1-3
VA	21	0	0	15	62,5	9	37,5	0-3
HP	23	23	100	0	0	0	0	1-3
SSA	14	14	100	0	0	0	0	1-3
KSA	13	13	100	0	0	0	0	1-3
KonCA	27	23	85,2	0	0	4	14,8	0-3
MüsCA	22	22	100	0	0	0	0	1-3
TOPLAM	160	153	95,6	2	1,3	5	3,1	0-3



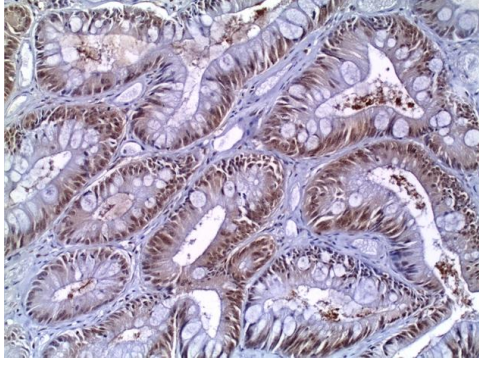
Şekil 4.14. Polip ve karsinoma gruplarında MEK1 ekspresyonunun hücre içi dağılımı

Displaziye göre yapılan incelemede, MEK1 ekspresyon şiddeti ortalama değeri, displazi gösteren poliplerde ($1,60 \pm 0,623$), displazi göstermeyen poliplere ($1,58 \pm 0,762$) benzer olarak hesaplanmıştır ($p > 0,05$). Displazi gösteren 1 SSA olgusunda, displastik odakta, belirgin nükleer membran ekspresyonu izlenmiş, fakat bu durum istatistiksel analize olanak vermemiştir. Polip grubunda, çap arttıkça, MEK1 ekspresyon şiddetinin arttığı ($r = 0,196$, $p < 0,05$) gözlenmiştir.

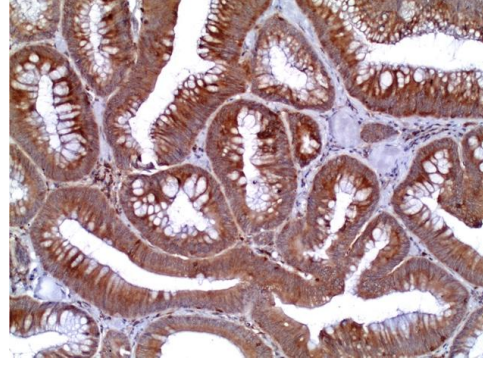
CA grubunda, LVI pozitif olgularda ($1,59 \pm 0,712$) ve LVI negatif olgularda ($1,63 \pm 0,883$) benzer şiddette MEK1 ekspresyon şiddetleri izlenmiş, anlamlı fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Tümör grade, T ve N durumuna göre yapılan incelemede, bu üç parametre ile, MEK1 ekspresyon şiddeti arasında korelasyon gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Metastaz varlığına göre yapılan karşılaştırmalı incelemede, M1 grubu olgularda ($1,67 \pm 0,866$) ve Mx olgularda ($1,61 \pm 0,829$) izlenen ekspresyon şiddetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p > 0,05$).

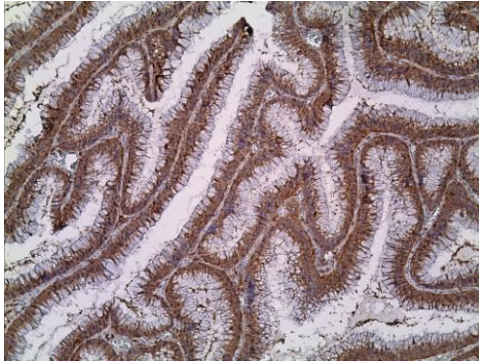
Lokalizasyona göre yapılan değerlendirmede, MEK1 ekspresyon şiddeti ortalaması sağ kolonda ($1,48 \pm 0,636$), sol kolonda ($1,67 \pm 0,806$) olarak hesaplanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$).



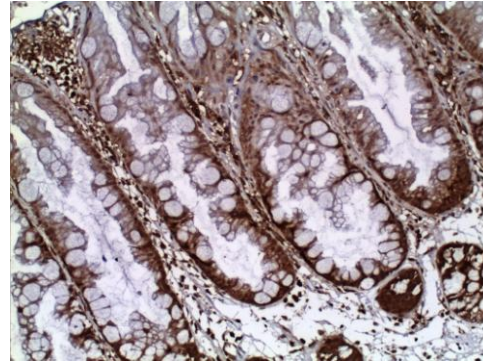
TA-MEK1 ekspresyonu (x200)



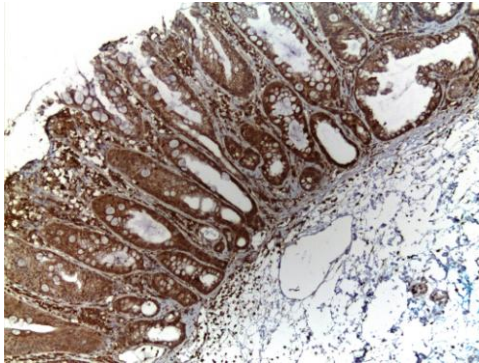
TVA-MEK1 ekspresyonu (x200)



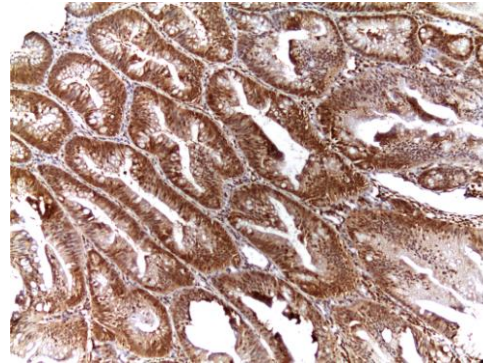
VA-MEK1 ekspresyonu (x200)



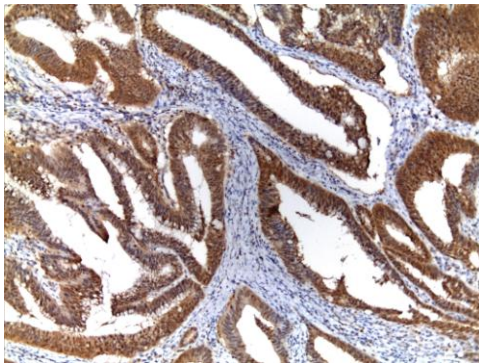
HP-MEK1 ekspresyonu (x200)



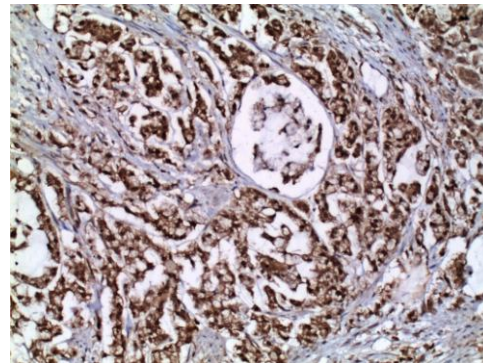
SSA-MEK1 ekspresyonu (x100)



KSA-MEK1 ekspresyonu (x100)



KonCA-MEK1 ekspresyonu (x200)



MüsCA-MEK1 ekspresyonu (x200)

Resim 4.1. Olgu Tiplerinde MEK1 Ekspresyonu

4.2.1.2. ERK1 Ekspresyonu

ERK1 ile yapılan immünohistokimyasal incelemede, tüm olguların %97,1'inde; polip vakalarının %98,3'ünde, CA vakalarının %94,5'inde ERK1 ekspresyonu izlenmiştir. Ekspresyon oranı açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). ERK1 ekspresyonu ile ilgili sonuçlar, polip gruplarına göre değerlendirildiğinde (AP %96,9, SP %100), gruplar arasında ERK1 ekspresyon yaygınlığı açısından anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). ERK1 ekspresyonu ile ilgili sonuçlar, CA alt gruplarına göre değerlendirildiğinde, gruplar arasında (konCA %96,6, müsCA %92,3) ERK1 ekspresyon yaygınlığı açısından anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Polip ve CA alt grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında ERK1 ekspresyon oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$).

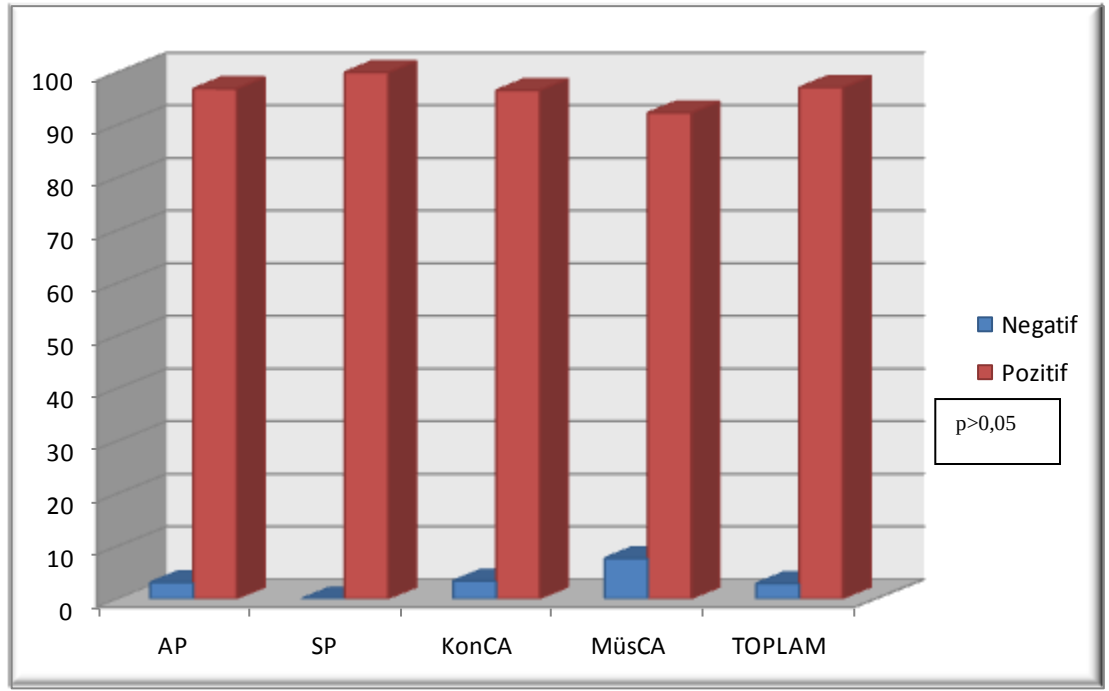
Polip alt tipleri birbiri ile karşılaştırıldığında, TA (%94,7), TVA (%100), VA (%95,8), HP (%100), SSA (%100) ve KSA (%100) gruplarında izlenen ERK1 ekspresyon oranları birbirleriyle benzer bulunmuştur ($p>0,05$).

ERK1 ekspresyonu, ekspresyon gösteren tüm olgularda diffüz karakterdedir.

Polip ve karsinoma gruplarında ERK1 ekspresyon durumu Tablo 4.10 ve Şekil 4.15'te gösterilmiştir.

Tablo 4.10. Polip ve karsinoma gruplarında ERK1 ekspresyonu

ERK1	Negatif		Pozitif		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%
AP	2	3,1	63	96,9	65	100
“Serrated” Polip	0	0	51	100	51	100
KonCA	1	3,4	28	96,6	29	100
MüsCA	2	7,7	24	92,3	26	100
TOPLAM	5	2,9	166	97,1	171	100



Şekil 4.15. Polip ve karsinoma gruplarında ERK1 ekspresyonu

Olguların %25,7'sinde hafif şiddette, %57,9'unda orta şiddette, %13,5'inde şiddetli; poliplerin %22,4'ünde hafif şiddette, 60,3'ünde orta şiddette, %15,5'inde şiddetli; CA olgularının %32,7'sinde hafif şiddette, %52,7'sinde orta şiddette, %9,1'inde ise şiddetli ekspresyon mevcuttur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

ERK1 ekspresyon şiddeti ortalama değerleri genel olarak tüm olgularda $1,82\pm0,692$, poliplerde $1,90\pm0,664$, CA'larda $1,65\pm0,726$ olarak hesaplanmıştır. Polip grubunda saptanan ERK1 ekspresyon şiddeti, CA grubuna oranla yüksektir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p>0,05$). Polip grupları değerlendirildiğinde, AP ($1,85\pm0,643$) grubunda ekspresyon şiddeti, SP ($1,96\pm0,692$) grubuna benzer bulunmuştur ($p>0,05$). CA tiplerine bakıldığında, konCA ($1,86\pm0,743$) grubuna ait ortalama ekspresyon şiddeti, müsCA ($1,42\pm0,643$) grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Polip grupları, CA grupları ile karşılaştırıldığında AP ile müsCA ($p<0,05$) ve SP ile müsCA ($p<0,05$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır.

Polip tipleri tek tek değerlendirildiğinde, ERK1 ekspresyon şiddeti ortalama değeri, TA grubunda $1,79\pm0,631$, TVA grubunda $1,77\pm0,528$, VA grubunda

1,96±0,751, HP grubunda 1,54±0,588, SSA grubunda 2,43±0,646, KSA grubunda 2,23±0,439 olarak hesaplanmıştır. Polip alt tipleri, birbirleri ve CA grupları ile karşılaştırıldığında, VA grubu ekspresyon şiddeti ortalama değeri, HP (p<0,05) ve müsCA (p<0,01), SSA grubu ekspresyon şiddeti ortalama değeri, TA (p<0,05), TVA (p<0,05), HP (p<0,001), konCA (p<0,05) ve müsCA (p<0,001); KSA grubu ekspresyon şiddeti ortalama değeri, HP (p<0,01) ve müsCA (p<0,01) gruplarına oranla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Polip ve karsinoma alt tiplerinde, ERK1 ekspresyon şiddeti oranları Tablo 4.11, polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK1 ekspresyon şiddeti ortalama değerleri Tablo 4.12’de gösterilmiştir.

Tablo 4.11. Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK1 ekspresyon şiddeti oranları

ERK1	0 n %	1 n %	2 n %	3 n %	TOPLAM n %
TA	1 5,3	3 15,8	14 73,7	1 5,3	19 100
TVA	0 0	6 27,3	15 68,2	1 4,5	22 100
VA	1 4,2	4 16,7	14 58,3	5 20,8	24 100
HP	0 0	12 50,0	11 45,8	1 4,2	24 100
SSA	0 0	1 7,1	6 42,9	7 50,0	14 100
KSA	0 0	0 0	10 76,9	3 23,1	13 100
KonCA	1 3,4	7 24,1	16 55,2	5 17,2	29 100
MüsCA	2 7,7	11 42,3	13 50	0 0	26 100
TOPLAM	5 2,9	44 25,7	99 57,9	23 13,5	171 100

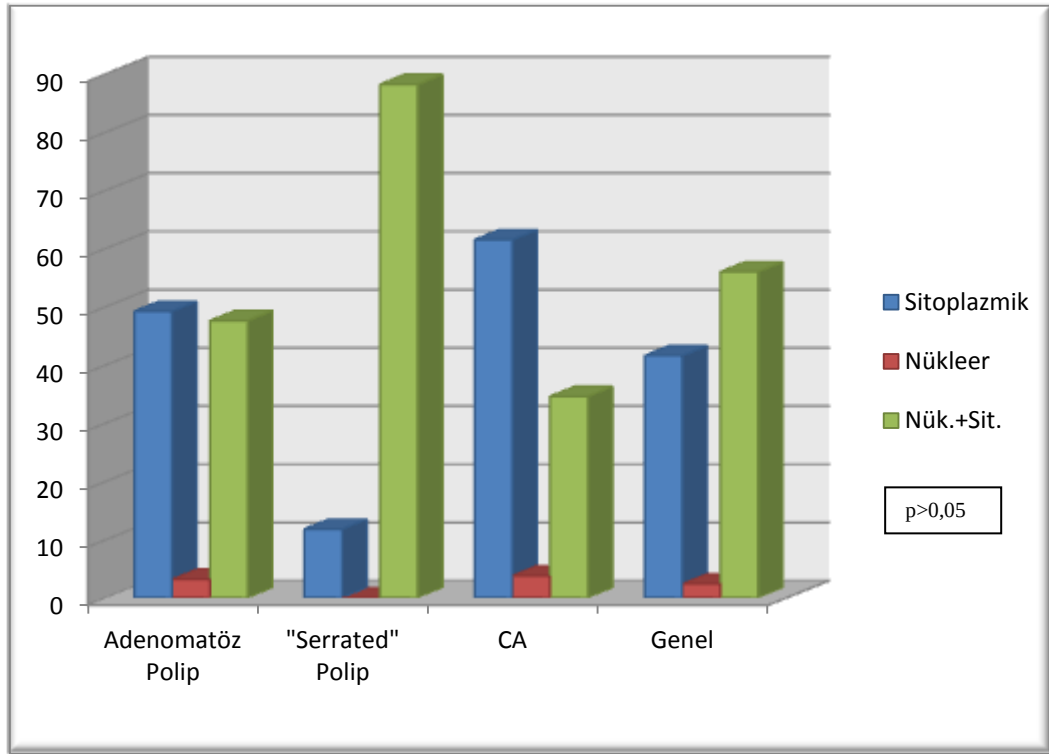
Tablo 4.12. Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK1 ekspresyon şiddetinin ortalamaları

TİP	(n)	X± SD	Min-Maks.
TA	19	1,79±0,631	0-3
TVA	22	1,77±0,528	1-3
VA	24	1,96±0,751	0-3
HP	24	1,54±0,588	1-3
SSA	14	2,43±0,646	1-3
KSA	13	2,23±0,439	2-3
KonCA	29	1,86±0,743	0-3
MüsCA	26	1,42±0,643	0-2
TOPLAM	171	1,82±0,692	0-3

ERK1 ekspresyonu, genel olarak %41,6 olguda S, %2,4 olguda N, %56 olguda N+S lokalizasyonda, poliplerde %32,5 olguda S, %1,8 olguda N, %65,8 olguda N+S lokalizasyonda, CA grubunda %61,5 olguda S, %3,8 olguda N, %34,6 olguda N+S lokalizasyonda izlenmiştir. Gruplar arasında izlenen lokalizasyon farkları istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). Polip grupları, ERK1 ekspresyonunun hücreli lokalizasyonuna göre değerlendirildiğinde, AP (%49,2 S, %3,2 N, %47,6 N+S) ve SP (%11,8 S, %88,2 N+S) grupları arasında izlenen fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p>0,001$). CA tiplerine bakıldığında, konCA (%64,3 S, %3,6 N, %32,1 N+S) ve müsCA (%58,3 S, %4,2 N, %37,5 N+S) gruplarında izlenen hücre içi lokalizasyonlara ait fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Polip grupları CA tipleri ile karşılaştırıldığında SP ile konCA ($p<0,001$) ve müsCA ($p<0,001$) arasında izlenen farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Polip tipleri değerlendirildiğinde, TA (%72,2 S, %5,6 N, %22,2 N+S), TVA (%59,1 S, %40,9 N+S), VA (%21,7 S, %4,3 N, %73,9 N+S), HP (%12,5 S, %87,5 N+S), SSA (%21,4 S, %78,6 N+S), KSA (%100 N+S) arasında izlenen farklar ve bunların CA grubunda izlenen oranlara olan farkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK1 ekspresyonunun hücre içi dağılımı Tablo 4.13, polip ve karsinoma gruplarında ERK1 ekspresyonunun hücre içi dağılımı Şekil 4.16’da gösterilmiştir.

Tablo 4.13. Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK1 ekspresyonunun hücre içi lokalizasyonları

TİP	ERK1 LOKALİZASYONU							Min-Maks.
	(n)	S		N		N+S		
		(n)	%	(n)	%	(n)	%	
TA	18	13	72,2	1	5,6	4	22,2	0-3
TVA	22	13	59,1	0	0	9	40,9	1-3
VA	23	5	21,7	1	4,3	17	73,9	0-3
HP	23	3	12,5	0	0	21	87,5	1-3
SSA	14	3	21,4	0	0	11	78,6	1-3
KSA	13	0	0	0	0	13	100	1-3
KonCA	28	18	64,3	1	3,6	9	32,1	0-3
MüsCA	24	14	58,3	1	4,2	9	37,5	0-3
TOPLAM	166	69	41,6	4	2,4	93	56	0-3



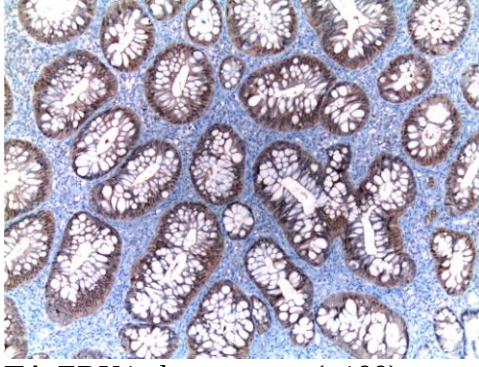
Şekil 4.16. Polip ve karsinoma gruplarında ERK1 ekspresyonunun hücre içi dağılımı

Displaziye göre yapılan incelemede, ERK1 ekspresyon şiddeti ortalama değeri, displazi gösteren poliplerde ($2,05 \pm 0,661$) displazi göstermeyen poliplere ($1,81 \pm 0,655$) oranla yüksek olarak hesaplanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). Polip grubunda, çap arttıkça ERK1 ekspresyon şiddetinin arttığı ($r = 0,269$, $p < 0,001$) gözlenmiştir.

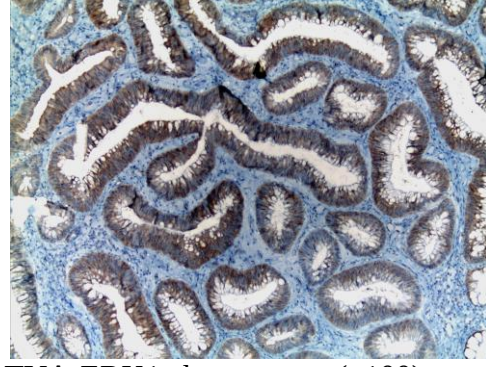
CA grubunda, LVI pozitif olgularda ($1,94 \pm 0,659$) ve LVI negatif olgularda ($1,53 \pm 0,725$) ERK1 ekspresyon şiddetleri arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Tümör grade, T ve N durumuna göre yapılan incelemede, bu üç parametre ile ERK1 ekspresyon şiddeti arasında korelasyon gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Metastaz varlığına göre yapılan karşılaştırmalı incelemede M1 grubu olgularda ($1,78 \pm 1,093$) ve Mx olgularda ($1,63 \pm 0,645$) izlenen ekspresyon şiddetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p > 0,05$).

Lokalizasyona göre yapılan değerlendirmede, ERK1 ekspresyon şiddeti ortalaması, sağ kolonda ($1,73 \pm 0,665$), sol kolonda ($1,88 \pm 0,706$) olarak hesaplanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$).



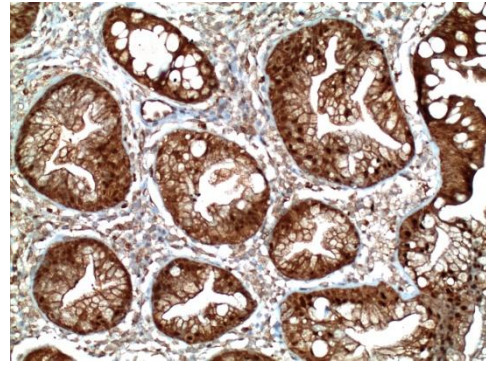
TA-ERK1 ekspresyonu (x100)



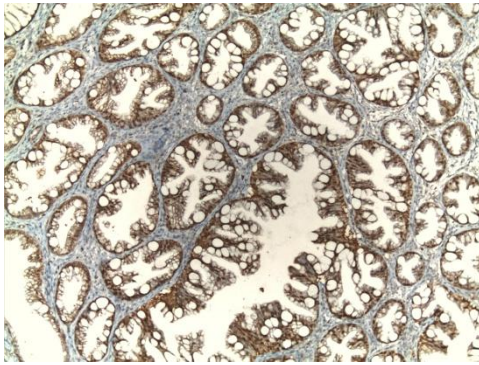
TVA-ERK1 ekspresyonu (x100)



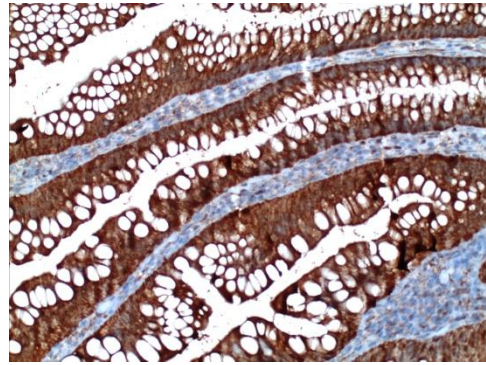
VA- ERK1 ekspresyonu (x100)



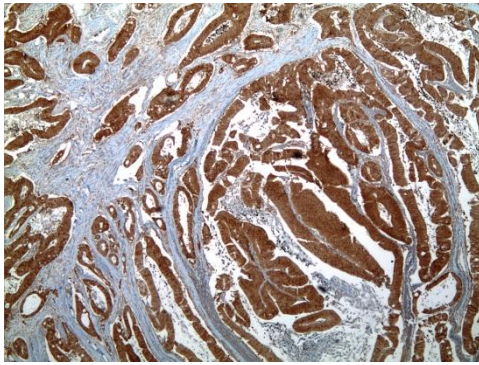
HP- ERK1 ekspresyonu (x200)



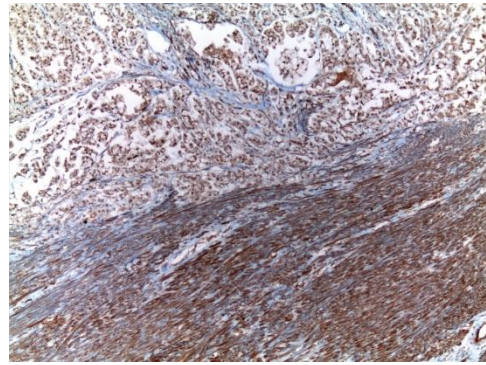
SSA- ERK1 ekspresyonu (x100)



KSA- ERK1 ekspresyonu(x200)



KonCA- ERK1 ekspresyonu (x100)



M sCA- ERK1 ekspresyonu (x100)

Resim 4.2. Olgu Tiplerinde ERK1 ekspresyonu

4.2.1.3. ERK2 Ekspresyonu

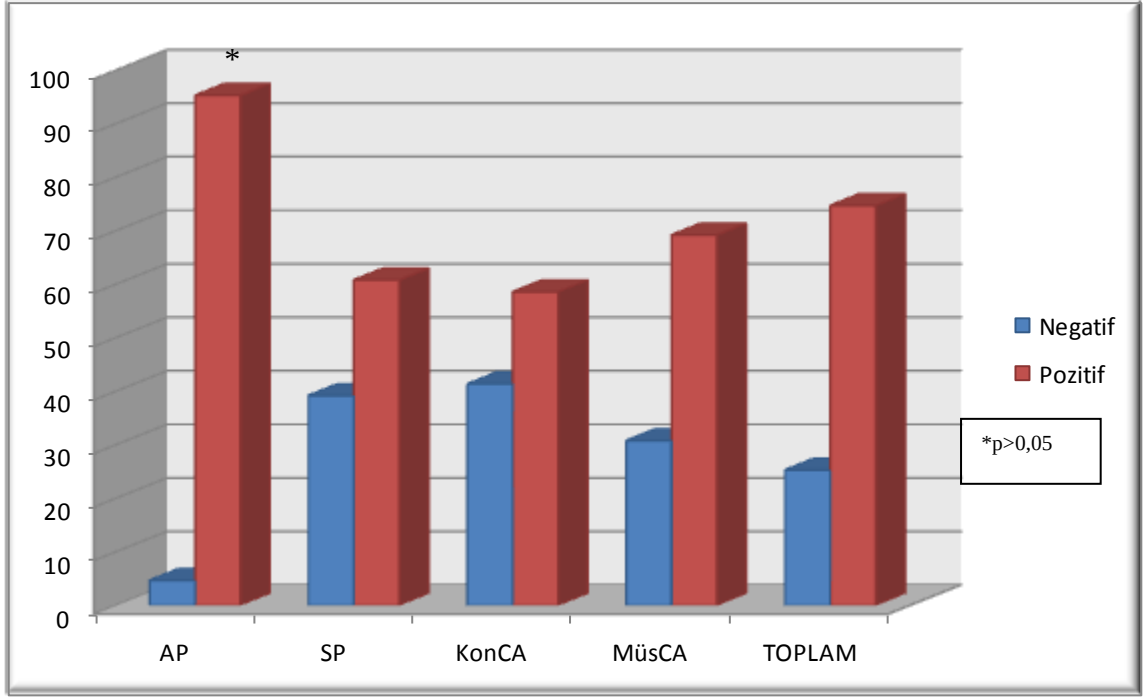
ERK2 ile yapılan incelemede, olguların %74,3'ünde; polip vakalarının %79,5'inde, CA vakalarının %63,6'sında ERK2 ekspresyonu izlenmiştir. Polip grubunda izlenen ekspresyon oranı, CA grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde fazladır ($p<0,05$). ERK2 ekspresyonu ile ilgili sonuçlar polip gruplarına göre değerlendirildiğinde, %95,3 AP, %60,8 SP'de ekspresyon gözlenmiş ve AP grubunda izlenen oran, SP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). CA grupları arasında, ERK2 ekspresyon oranı değerlendirildiğinde, konCA (%58,6) ve müsCA (%69,2) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$). Polip ve CA alt grupları, birbirleri ile karşılaştırıldığında, AP'lerde izlenen ekspresyon oranı, "serrated polip"ler ($p<0,001$), konCA ($p<0,001$) ve müsCA grubunda ($p<0,001$) izlenen orandan anlamlı olarak yüksektir. Polip alt tipleri birbiri ile karşılaştırıldığında, TA (%89,5), TVA (%100), VA (%95,8), HP (%58,3), SSA (%71,4) ve KSA (%53,8) gruplarında ERK2 ekspresyon oranları arasında izlenen farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

ERK2 ekspresyonu, ekspresyon gösteren tüm olgularda diffüz karakterdedir.

Polip ve karsinoma gruplarında ERK2 ekspresyon durumu Tablo 4.14 ve Şekil 4.17'de gösterilmiştir.

Tablo 4.14. Polip ve karsinoma gruplarında ERK2 ekspresyonu

ERK2	Negatif		Pozitif		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%
AP	3	4,7	61	95,3	64	100
"Serrated" Polip	20	39,2	31	60,8	51	100
KonCA	12	41,4	17	58,6	29	100
MüsCA	8	30,8	18	69,2	26	100
TOPLAM	43	25,3	127	74,7	170	100



Şekil 4.17 . Polip ve karsinoma gruplarında ERK2 ekspresyonu

ERK2 ile, olguların %43,1'inde hafif şiddette, %22,8'inde orta şiddette, %8,4'ünde şiddetli; poliplerin %41,1'inde hafif şiddette, 27,7'sinde orta şiddette, %10,7'sinde şiddetli; CA olgularının %47,3'ünde hafif şiddette, %12,7'sinde orta şiddette, %3,6'sında ise şiddetli ekspresyon mevcuttur.

ERK2 ekspresyon şiddeti ortalama değeri, genel olarak tüm olgularda $1,14 \pm 0,898$; poliplerde $1,29 \pm 0,915$, CA'larda $0,84 \pm 0,788$ olarak hesaplanmıştır. Poliplerde izlenen ekspresyon şiddetinin CA grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Polip grupları değerlendirildiğinde, AP ($1,77 \pm 0,824$) grubuna ait ortalama ekspresyon şiddetinin SP ($0,71 \pm 0,642$) grubuna ait ortalama değerden yüksek olduğu izlenmektedir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$). CA tiplerine bakıldığında, konCA ($0,72 \pm 0,751$) ve müsCA ($0,96 \pm 0,824$) arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p > 0,05$). Polip grupları CA tipleri ile karşılaştırıldığında, AP grubuna ait ortalama ekspresyon şiddeti, konCA ($p < 0,001$) ve müsCA ($p < 0,001$) ya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir.

Polip alt tiplerinde ERK2 ekspresyon şiddeti ortalama değeri, TA grubunda $1,79 \pm 0,976$, TVA grubunda $1,83 \pm 0,786$, VA grubunda $1,71 \pm 0,751$, HP grubunda

0,71±0,690, SSA grubunda 0,79±0,579, KSA grubunda 0,62±0,650 olarak hesaplanmıştır. Polip alt tipleri birbirleri ve CA grupları ile karşılaştırıldığında, TA grubu ekspresyon şiddeti ortalama değeri, HP (p<0,001), SSA (p<0,01), KSA (p<0,001), konCA (p<0,001) ve müsCA (p<0,01); TVA grubu ekspresyon şiddeti ortalama değeri, HP (p<0,001), SSA (p<0,01), KSA (p<0,001), konCA (p<0,001) ve müsCA (p<0,01); VA grubu ekspresyon şiddeti ortalama değeri, HP (p<0,001), SSA (p<0,01), KSA (p<0,001), konCA (p<0,001) ve müsCA (p<0,01) gruplarına göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK2 ekspresyon şiddeti oranları Tablo 4.15, polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK2 ekspresyon şiddetinin ortalama değerleri Tablo 4.16’da gösterilmiştir.

Tablo 4.15. Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK2 ekspresyon şiddeti oranları

ERK2	0 n %	1 n %	2 n %	3 n %	TOPLAM n %
TA	2 10,5	5 26,3	7 36,8	5 26,3	19 100
TVA	0 0	7 38,9	7 38,9	4 22,2	18 100
VA	1 4,2	8 33,3	12 50,0	3 12,5	24 100
HP	10 41,7	11 45,8	3 12,5	0 0	24 100
SSA	4 28,6	9 64,3	1 7,1	0 0	14 100
KSA	6 46,2	6 46,2	1 7,7	0 0	13 100
KonCA	12 41,4	14 48,3	2 6,9	1 3,4	29 100
MüsCA	8 30,8	12 46,2	5 19,2	1 3,8	26 100
TOPLAM	43 25,7	72 43,1	38 22,8	14 8,4	167 100

Tablo 4.16. Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK2 ekspresyon şiddetinin ortalamaları

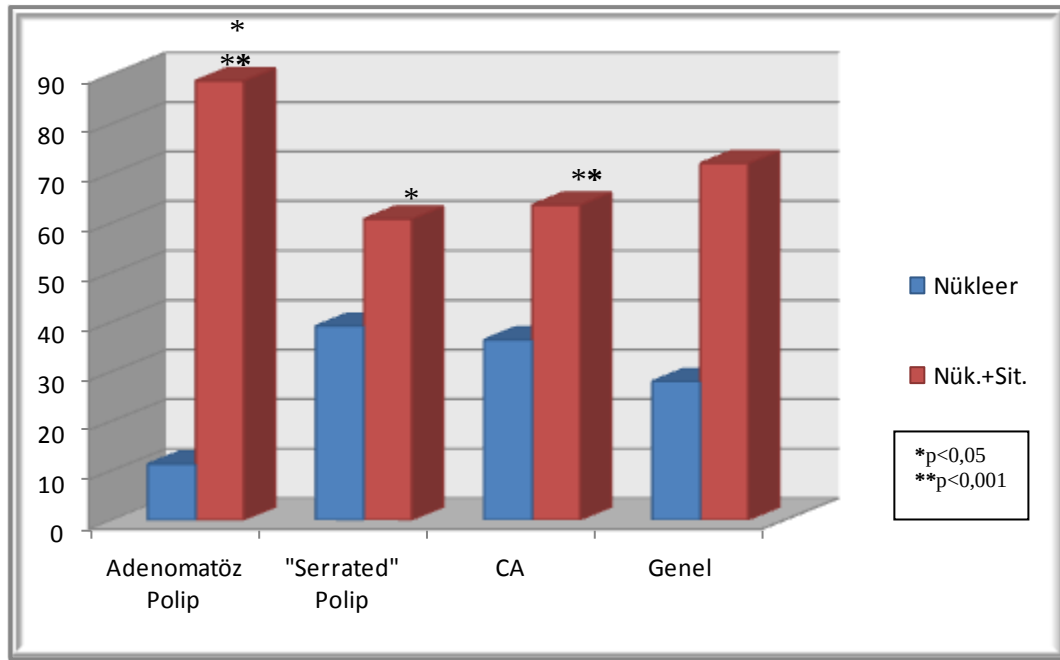
TİP	(n)	X± SD	Min-Maks.
TA	19	1,79±0,976	0-3
TVA	18	1,83±0,786	1-3
VA	24	1,71±0,751	0-3
HP	24	0,71±0,690	0-2
SSA	14	0,79±0,579	0-2
KSA	13	0,62±0,650	0-2
KonCA	29	0,72±0,751	0-3
MüsCA	26	0,96±0,824	0-3
TOPLAM	167	1,14±0,898	0-3

ERK2 ekspresyonu, genel olarak %28,0 olguda N, %72,0 olguda N+S lokalizasyonda poliplerde %23,9 olguda N, %76,1 olguda N+S lokalizasyonda, CA'larda %36,4 olguda N, %63,6 olguda N+S lokalizasyonda izlenmiştir. Hücre içi ekspresyonun lokalizasyonlarının olgu gruplarına göre dağılımı karşılaştırıldığında, polip ve CA grubu arasında izlenen fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Polip grupları karşılaştırıldığında, AP (%11,3 N, %88,7 N+S) ve SP (%39,2 N, %60,8 N+S) arasında izlenen hücre içi lokalizasyon farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). CA tiplerine bakıldığında, konCA (%41,4 N, %58,6 N+S) ve müsCA (%30,8 N, %69,2 N+S) arasında benzer bulgular izlenmiştir ($p>0,05$). Polip grupları, CA tipleriyle karşılaştırıldığında AP ile konCA ($p<0,001$) ve müsCA ($p<0,001$) arasında anlamlı fark saptanmıştır. Polip tipleri değerlendirildiğinde TA (%100 N+S), TVA (%14,3 N, %85,7 N+S), VA (%16,7 N, %83,3 N+S), HP (%41,7 N, %58,3 N+S), SSA (%28,6 N, %71,4 N+S), KSA (%46,2 N, %53,8 N+S) arasında izlenen farklar ve bunların CA grubunda izlenen oranlara olan farkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK2 ekspresyonunun hücre içi dağılımı Tablo 4.17; polip ve karsinoma gruplarında ERK2 ekspresyonunun hücre içi dağılımı Şekil 4.18'de gösterilmiştir.

Tablo 4.17. Polip ve karsinoma alt tiplerinde ERK2 ekspresyonunun hücre içi lokalizasyonları

TİP	ERK2 LOKALİZASYONU					Min-Maks.
	(n)	N		N+S		
		(n)	%	(n)	%	
TA	17	0	0	17	100	0-3
TVA	21	3	14,3	18	85,7	0-3
VA	24	4	16,7	20	83,3	0-3
HP	24	10	41,7	14	58,3	0-3
SSA	14	4	28,6	10	71,4	1-3
KSA	13	6	46,2	7	53,8	0-3
KonCA	29	12	41,4	17	58,6	0-3
MüsCA	26	8	30,8	18	69,2	0-3
TOPLAM	168	47	28	121	72	0-3



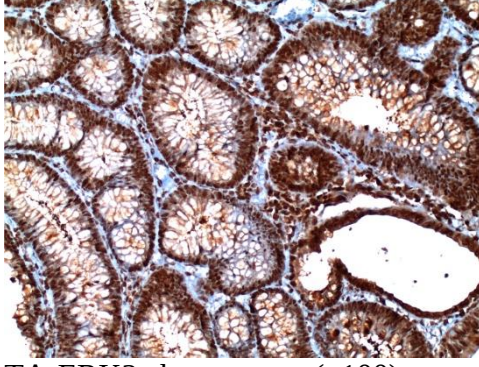
Şekil 4.18. Polip ve karsinoma gruplarında ERK2 ekspresyonunun hücre içi dağılımı

Displaziye göre yapılan incelemede, ERK2 ekspresyon şiddeti ortalama değeri, displazi gösteren poliplerde ($1,59 \pm 0,805$), displazi göstermeyen poliplere ($1,11 \pm 0,934$) oranla yüksek olarak hesaplanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). Polip grubunda çap arttıkça ERK2 ekspresyon şiddetinin arttığı ($r = 0,346$, $p < 0,001$) gözlenmiştir.

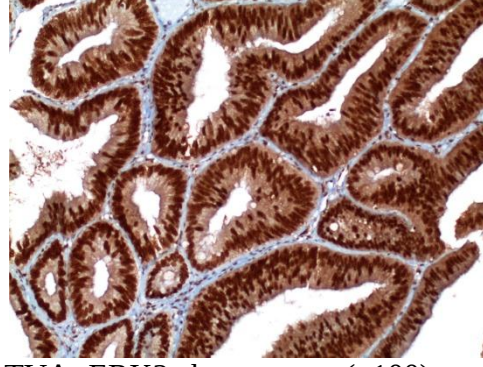
CA grubunda, LVI pozitif olgularda ($1,06 \pm 0,659$) ve LVI negatif olgularda ($0,740 \pm 0,828$) ERK2 ekspresyon şiddetleri arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Tümör grade, T ve N durumuna göre yapılan incelemede, bu üç parametre ile ERK2 ekspresyon şiddeti arasında korelasyon gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Metastaz varlığına göre yapılan karşılaştırmalı incelemede, M1 grubu olgular ($1,00 \pm 0,500$) ve Mx grubu olgular ($0,800 \pm 0,833$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p > 0,05$).

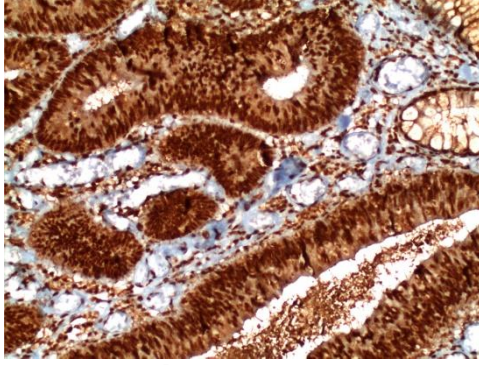
Lokalizasyona göre yapılan değerlendirmede, ERK2 ekspresyon şiddeti ortalaması, sağ kolonda ($0,89 \pm 0,767$), sol kolona ($1,30 \pm 0,944$) oranla yüksek bulunmuştur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).



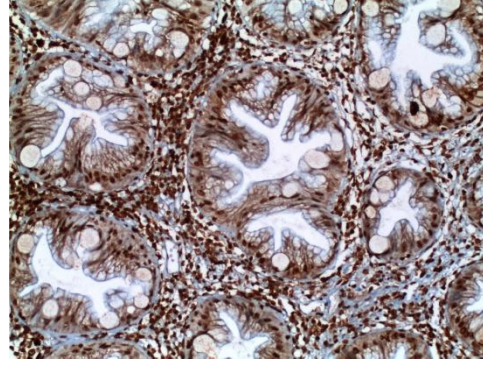
TA-ERK2 ekspresyonu (x100)



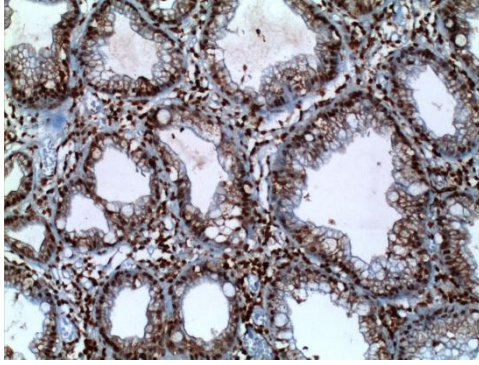
TVA- ERK2 ekspresyonu (x100)



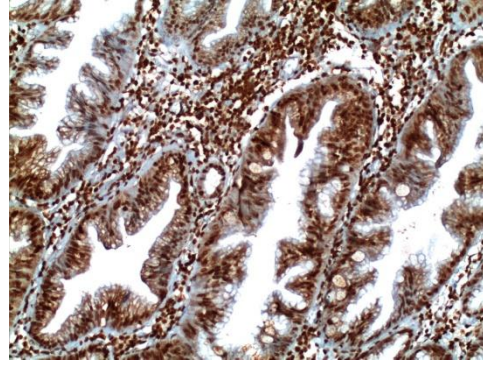
VA-ERK2 ekspresyonu (x100)



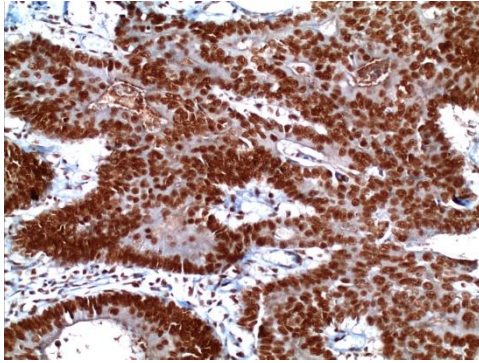
HP- ERK2 ekspresyonu (x100)



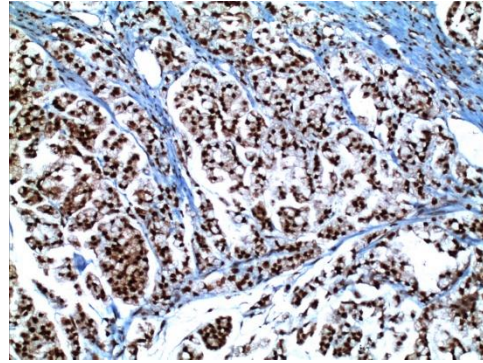
SSA-ERK2 ekspresyonu (x100)



KSA-ERK2 ekspresyonu (x100)



KonCA-ERK2 ekspresyonu (x100)



M sCA-ERK2 ekspresyonu (x100)

Resim 4.3. Olgu Tiplerinde ERK2 Ekspresyonu

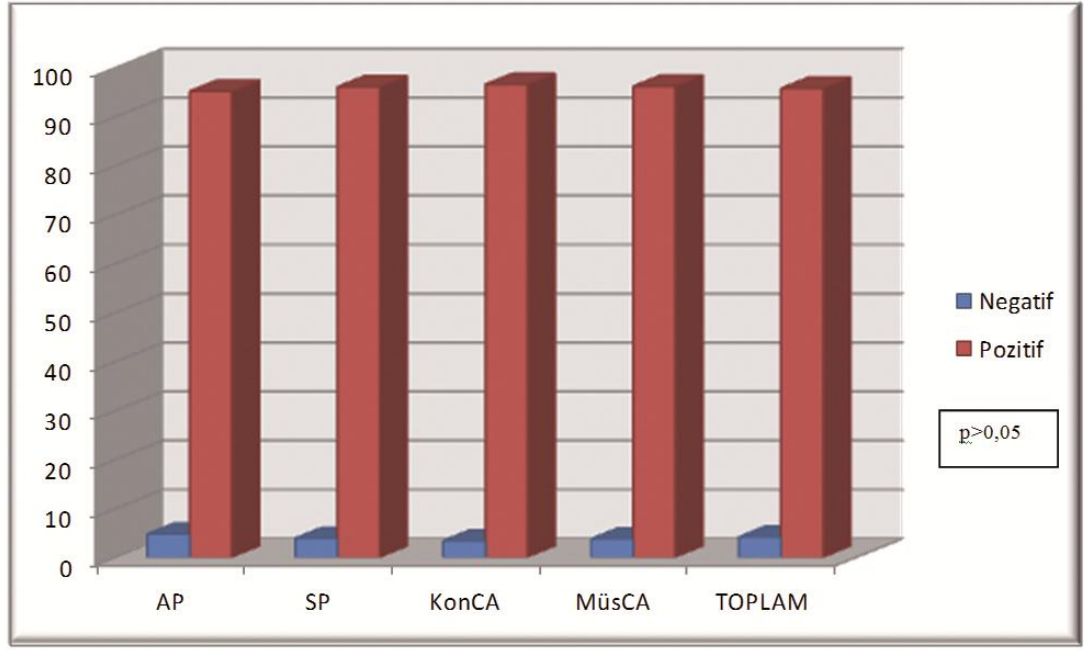
4.2.2. PI3K-AKT-mTOR Arayolu

4.2.2.1. PI3K Ekspresyonu

PI3K ile olguların %95,8'inde, polip vakalarının %95,6'sında, CA vakalarının %96,4'ünde ekspresyon izlenmiştir. Olgularda, epitel hücreleri, stromal hücreler ve inflamatuvar hücrelerde de ekspresyon izlenmiştir. Ekspresyon oranı açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). PI3K ekspresyonu ile ilgili sonuçlar polip gruplarına göre değerlendirildiğinde, AP (%95,2) ve SP (%96,1) gruplarında benzer ekspresyon oranı saptanmıştır ($p>0,05$). CA grupları arasında, PI3K ekspresyon oranı (konCA %96,6, müsCA %96,2) açısından anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Polip ve CA alt grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında PI3K ekspresyon oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$). Polip alt tipleri birbiri ile karşılaştırıldığında, TA (%93,3), TVA (%95,7), VA (%95,8), HP (%95,8), SSA (%100) ve KSA (%92,3) gruplarında izlenen PI3K ekspresyon oranları arasında izlenen farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Polip ve karsinoma gruplarında PI3K ekspresyon durumu Tablo 4.18 ve Şekil 4.19'da gösterilmiştir.

Tablo 4.18. Polip ve karsinoma gruplarında PI3K ekspresyonu

PI3K	Negatif		Pozitif		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%
AP	3	4,8	59	95,2	62	100
“Serrated” Polip	2	3,9	49	96,1	51	100
KonCA	1	3,4	28	96,6	29	100
MüsCA	1	3,8	25	96,2	26	100
TOPLAM	7	4,2	161	95,8	168	100



Şekil 4.19. Polip ve karsinoma gruplarında PI3K ekspresyonu

PI3K ekspresyonu, ekspresyon gösteren tüm olgularda diffüz karakterdedir. PI3K ile olguların %4,2'sinde ekspresyon bulunmamaktadır. Olguların %58,3'ünde hafif şiddette, %33,9'unda orta şiddette, %3,6'sında şiddetli; poliplerin %62,8'inde hafif şiddette, %31'inde orta şiddette, %1,8'inde şiddetli; CA'ların %49,1'inde hafif şiddette, %40'ında orta şiddette, %7,3'ünde ise şiddetli ekspresyon bulunmaktadır.

PI3K ekspresyon şiddeti ortalama değeri genel olarak, tüm olgularda $1,37 \pm 0,624$, poliplerde $1,30 \pm 0,581$, CA'larda $1,51 \pm 0,690$ olarak hesaplanmıştır. Polip ve CA grubu arasında PI3K ekspresyon şiddeti ortalama değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p > 0,05$). Polip grupları değerlendirildiğinde, AP ($1,31 \pm 0,589$) ve SP ($1,29 \pm 0,576$) PI3K ekspresyon şiddetleri arasında da anlamlı fark izlenmemiştir ($p > 0,05$). CA tiplerine bakıldığında, konCA ($1,45 \pm 0,632$) ve müsCA ($1,58 \pm 0,758$) arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p > 0,05$). Polip tipleri değerlendirildiğinde, TA ($1,27 \pm 0,594$), TVA ($1,35 \pm 0,647$), VA ($1,29 \pm 0,550$), HP ($1,21 \pm 0,509$), SSA ($1,36 \pm 0,633$), KSA ($1,38 \pm 0,650$) grupları arasında izlenen ekspresyon şiddeti farkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Polip ve karsinoma alt tiplerinde PI3K ekspresyon şiddeti oranları Tablo 4.19, polip ve karsinoma alt tiplerinde PI3K ekspresyon şiddetinin ortalama değerleri Tablo 4.20'de gösterilmiştir.

Tablo 4.19. Olgu alt tiplerinde PI3K ekspresyon şiddeti oranları

PI3K	0		1		2		3		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
TA	1	6,7	9	60	5	33,3	0	0	15	100
TVA	1	4,3	14	60,9	7	30,4	1	1	23	100
VA	1	4,2	15	62,5	8	33,3	0	0	24	100
HP	1	4,2	17	70,8	6	25,0	0	0	24	100
SSA	0	0	10	71,4	3	21,4	1	7,1	14	100
KSA	1	7,7	6	46,2	6	46,2	0	0	13	100
KonCA	1	3,4	15	51,7	12	41,4	1	3,4	29	100
MüsCA	1	3,8	12	46,2	10	38,5	3	11,5	26	100
TOPLAM	7	4,2	98	58,3	57	33,9	6	3,6	168	100

Tablo 4.20. Polip ve CA tiplerinde PI3K ekspresyon şiddetinin ortalamaları

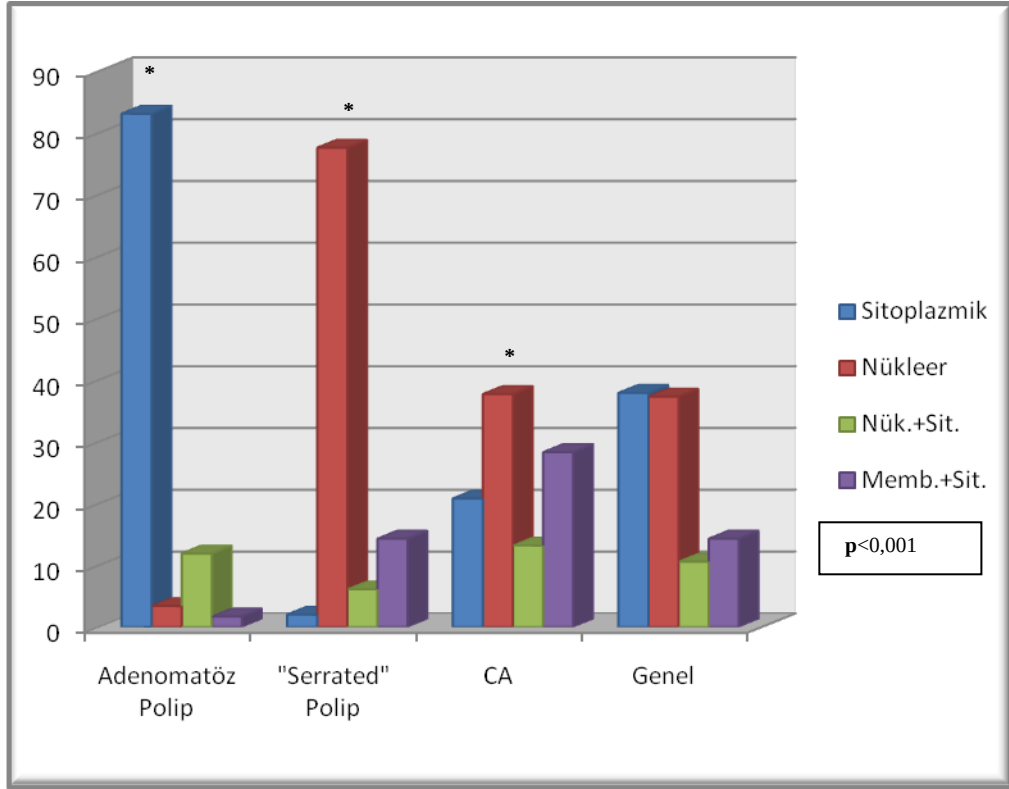
TİP	(n)	X $\pm$ SD	Min-Maks.
TA	15	1,27 $\pm$ 0,594	0-2
TVA	23	1,35 $\pm$ 0,647	0-3
VA	24	1,29 $\pm$ 0,550	0-2
HP	24	1,21 $\pm$ 0,509	0-2
SSA	14	1,36 $\pm$ 0,633	0-3
KSA	13	1,38 $\pm$ 0,650	0-2
KonCA	29	1,45 $\pm$ 0,632	0-3
MüsCA	26	1,58 $\pm$ 0,758	0-3
Toplam	168	1,37 $\pm$ 0,624	0-3

Olgular PI3K ekspresyonunun hücrel lokalizasyonuna göre değerlendirildiğinde, PI3K ekspresyonu tüm olguların %37,9’unda S, %37,3’ünde N, %10,6’sında N+S, %14,3’ünde ise S+M lokalizasyonda; polip grubu olguların %46,3’ünde S, %37’sinde N, %9,3’ünde N+S, %7,4’ünde S+M lokalizasyonda; CA

grubu olguların %20,8'inde S, %37,7'sinde N, %13,2'sinde N+S, %28,3'ünde S+M lokalizasyonda izlenmiştir. Polip ve CA grupları karşılaştırıldığında, PI3K ekspresyonuna ait hücresel lokalizasyon farkları açısından anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). AP grubunda (%83,1 S, %3,4 N, %11,9 N+S, %1,7 S+M) sitoplazmik ekspresyon, SP grubunda (%2 S, %77,6 N, %6,1 N+S, %14,3 S+M) nükleer ekspresyonun baskın olduğu izlenmiş ve gruplar arasında izlenen hücresel lokalizasyon farkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). CA tiplerine bakıldığında, konCA (%67,9 S, %21,4 N, %10,7 N+S) ve müsCA (%28 S, %56 N, %16 N+S) arasında PI3K hücre içi lokalizasyonu açısından anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$). AP ve SP grubunda izlenen hücre içi lokalizasyon oranları, CA grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldığında AP-CA ($p<0,001$) ve SA-CA ($p<0,001$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Polip alt tipleri değerlendirildiğinde, TA (%85,7 S, %14,3 N), TVA (%81,8 S, %18,2 N+S), VA (%82,6 S, %13 N+S), HP (%91,3 N, %8,7 N+S), SSA (%7,1 S, %50 N), KSA (%83,3 N, %8,3 N+S) arasında izlenen farklar ve bunların CA grubunda izlenen oranlara olan farkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Polip ve karsinoma alt tiplerinde PI3K ekspresyonunun hücre içi dağılımı Tablo 4.21; polip ve karsinoma gruplarında PI3K ekspresyonunun hücre içi dağılımı Şekil 4.20'de gösterilmiştir.

Tablo 4.21. Polip ve karsinoma alt tiplerinde PI3K ekspresyonunun hücre içi lokalizasyonları

TİP	PI3K LOKALİZASYONU									Min-Maks.
	(n)	S		N		N+S		M+S		
		(n)	%	(n)	%	(n)	%	(n)	%	
TA	14	12	85,7	2	14,3	0	0	0	0	1-3
TVA	22	18	81,8	0	0	4	18,2	0	0	1-3
VA	23	19	82,6	0	0	3	13	1	4,3	1-3
HP	23	0	0	21	91,3	2	8,7	0	0	1-3
SSA	14	1	7,1	7	50	0	0	6	42,9	1-3
KSA	12	0	0	10	83,3	1	8,3	1	8,3	0-3
KonCA	28	7	25	6	21,4	3	10,7	12	42,9	1-3
MüsCA	25	4	16	14	56,0	4	16	3	12	0-3
TOPLAM	161	61	37,9	60	37,3	17	10,6	23	14,3	1-3



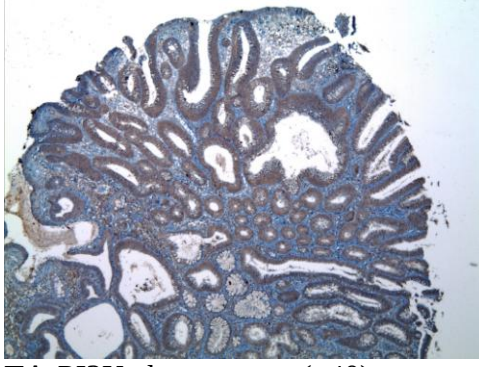
Şekil 4.20. Polip ve karsinoma gruplarında PI3K ekspresyonunun hücre içi dağılımı

Displaziye göre yapılan incelemede, PI3K ekspresyon şiddeti ortalama değeri, displazi gösteren poliplerde $1,35 \pm 0,613$ olarak; displazi göstermeyen poliplerde $1,27 \pm 0,563$ olarak hesaplanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Polip grubunda, çap ve PI3K ekspresyonu açısından korelasyon izlenmemiştir.

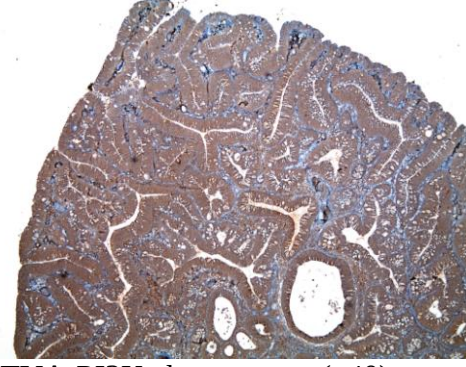
CA grubunda, LVI pozitif olgularda ($1,65 \pm 0,702$) ve LVI negatif olgularda ($1,45 \pm 0,686$) benzer şiddette PI3K ekspresyonu gözlenmiştir ($p > 0,05$).

Tümör grade, T ve N durumuna göre yapılan incelemede, bu üç parametre ile PI3K ekspresyon şiddeti arasında korelasyon gözlenmemiştir. Metastaz varlığına göre yapılan karşılaştırmalı incelemede, M1 grubu olgularda ($1,78 \pm 0,441$) ve Mx olgularda ($1,46 \pm 0,721$) benzer ekspresyon şiddeti izlenmiştir.

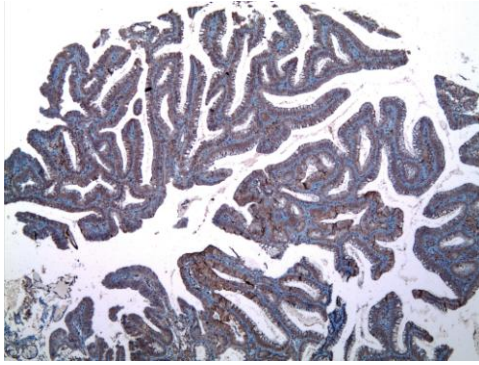
Lokalizasyona göre yapılan değerlendirmede, PI3K ekspresyonunun sağ kolonda ($1,30 \pm 0,554$) ve sol kolonda ($1,41 \pm 0,665$) anlamlı fark göstermediği izlenmiştir.



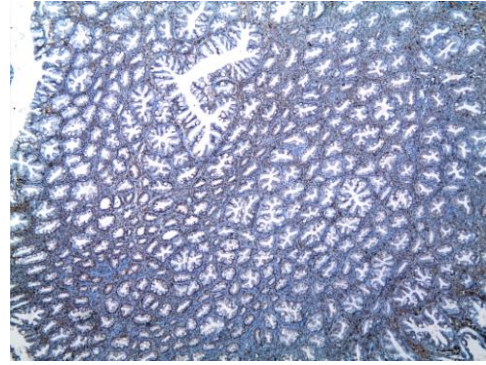
TA-PI3K ekspresyonu (x40)



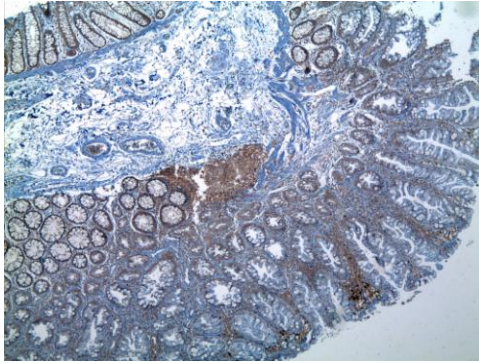
TVA-PI3K ekspresyonu (x40)



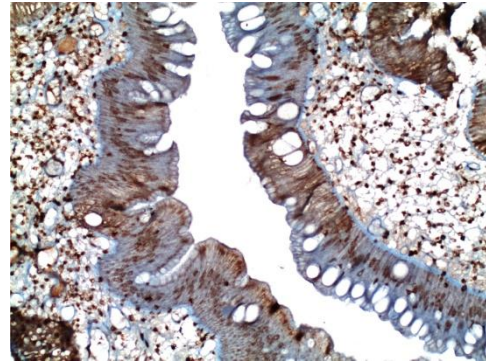
VA-PI3K ekspresyonu (x40)



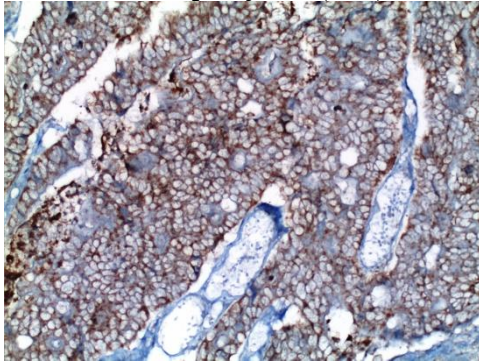
HP-PI3K ekspresyonu (x40)



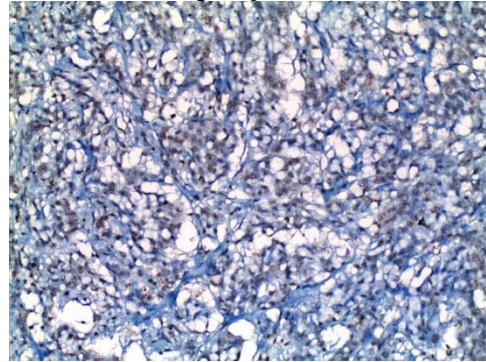
SSA-PI3K ekspresyonu (x40)



KSA-PI3K ekspresyonu (x200)



KonCA-PI3K ekspresyonu (x200)



MüsCA-PI3K ekspresyonu (x200)

Resim 4.4. Olgu Tiplerinde PI3K Ekspresyonu

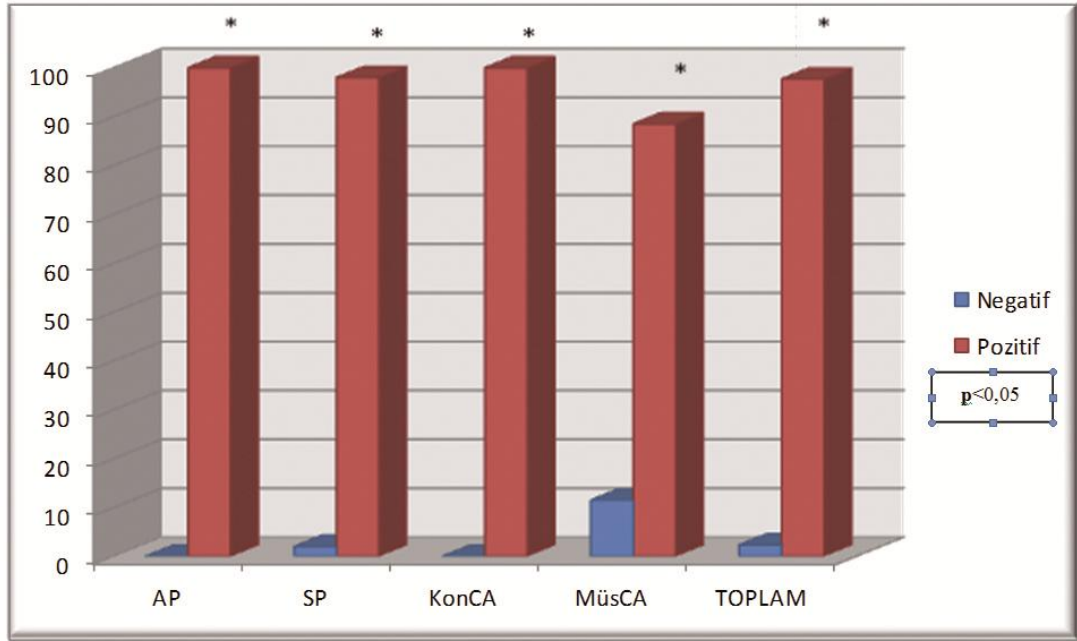
4.2.2.2. PTEN

PTEN ile tüm olguların %97,7'sinde; poliplerin %99,2'si, CA'ların %94,5'inde ekspresyon izlenmiştir. Tüm olgularda lezyon dışındaki stromal hücrelerde, endotel hücreleri ve inflamatuvar hücrelerde de PTEN ekspresyonu izlenmiştir. PTEN ekspresyon oranları açısından polip ve CA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$). Polip gruplarının PTEN ekspresyon oranları değerlendirildiğinde, AP'lerin (%100) ve SP'lerin (%98) benzer oranda ekspresyon gösterdikleri görülmüştür. Ca gruplarının PTEN ekspresyon oranları değerlendirildiğinde, konCA grubu (%100) ve müsCA grubu (%88,5) arasında PTEN ekspresyon oranları anlamlı fark göstermemiştir ($p>0,05$). Polip ve CA grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında, AP ve müsCA grupları arasında PTEN ekspresyon oranlarında anlamlı fark izlenmiştir ($p<0,01$).

Polip alt tiplerinde, TA, TVA, VA, HP, SSA gruplarının %100, KSA grubunun %92,3 oranında PTEN ekspresyonu gösterdiği görülmüştür. Polip alt tiplerinin PTEN ekspresyon oranları arasında izlenen farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Polip ve karsinoma gruplarında PTEN ekspresyon durumu Tablo 4.22 ve Şekil 4.21'de gösterilmiştir.

Tablo 4.22. Polip ve karsinoma gruplarında PTEN ekspresyonu

PTEN	Negatif		Pozitif		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%
AP	0	0	67	100	67	100
“Serrated” Polip	1	2	50	98	51	100
KonCA	0	0	29	100	29	100
MüsCA	3	11,5	23	88,5	26	100
TOPLAM	4	2,3	169	97,7	173	100



Şekil 4.21 . Polip ve karsinoma gruplarında PTEN ekspresyonu

PTEN ekspresyon paternine bakıldığında, olguların %80,3'ünde, poliplerin %78,8'inde, CA grubunun %83,6'sında diffüz ekspresyon izlenmiştir. PTEN yaygınlığı açısından, polip ve CA grupları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Polip grupları değerlendirildiğinde, AP (%70,1 diffüz) ve SP (%90,2 diffüz) arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$). CA alt gruplarının PTEN ekspresyon paterni değerlendirildiğinde, konCA grubu (%86,2 diffüz) ve müsCA (%80,8 diffüz) grubu arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$). Polip ve CA grupları birbiri ile karşılaştırıldığında, PTEN ekspresyon paterninde anlamlı fark izlenmemiştir.

Polip alt tiplerinde PTEN ekspresyon paterni değerlendirildiğinde, TA (%31,6 negatif, %68,4 diffüz), TVA (%37,5 fokal, %62,5 diffüz), VA (%20,8 fokal, %79,2 diffüz), HP (%100 diffüz), SSA (%14,3 fokal, %85,7 diffüz), KSA (%7,7 negatif, %15,4 fokal, %76,9 diffüz) grupları arasında HP ve SSA grubunda diffüz ekspresyon oranı TA, TVA, VA ve KSA gruplarına göre fazla bulunmakla birlikte bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

PTEN ile olguların %2,3'ünde ekspresyon gözlenmemiş, %23,1'inde hafif şiddette, %63'ünde orta şiddette, %11,6'sında şiddetli; poliplerin %23,7'sinde hafif şiddette, %67,8'inde orta şiddette, %7,6'sında şiddetli, karsinomaların %21,8'inde hafif şiddette, %52,7'sinde orta şiddette, %20'sinde ise şiddetli ekspresyon gözlenmiştir.

PTEN ekspresyon şiddeti ortalama değeri genel olarak, tüm olgularda $1,84 \pm 0,645$, poliplerde $1,82 \pm 0,564$, CA'larda $1,87 \pm 0,795$ olarak hesaplanmıştır. Polip ve CA grubu PTEN ekspresyon şiddeti ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p > 0,05$). Polip grupları değerlendirildiğinde, AP ($1,81 \pm 0,468$) ve SP ($1,84 \pm 0,674$) arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p > 0,05$). CA tiplerine bakıldığında konCA ($1,93 \pm 0,651$) ve müsCA ($,81 \pm 0,939$) arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p > 0,05$).

Polip tipleri değerlendirildiğinde, TA ($1,68 \pm 0,582$), TVA ($1,92 \pm 0,408$), VA ($1,79 \pm 0,415$), HP ($1,67 \pm 0,565$), SSA ($1,93 \pm 0,616$), KSA ($2,08 \pm 0,862$) grupları arasında izlenen ekspresyon şiddeti farkları arasında izlenen farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Polip ve karsinoma alt tiplerinde PTEN ekspresyon şiddeti oranları Tablo 4.23, polip ve karsinoma alt tiplerinde PTEN ekspresyon şiddeti ortalamaları Tablo 4.24'te gösterilmiştir.

Tablo 4.23. Olgu alt tiplerinde PTEN ekspresyon şiddeti oranları

PTEN Şiddeti	0 n %	1 n %	2 n %	3 n %	TOPLAM n %
TA	0 0	7 36,8	11 57,9	1 5,3	19 100
TVA	0 0	3 12,5	20 83,3	1 4,2	24 100
VA	0 0	5 20,8	19 79,2	0 0	24 100
HP	0 0	9 37,5	14 58,3	1 4,2	24 100
SSA	0 0	3 21,4	9 64,3	2 14,3	14 100
KSA	1 7,7	1 7,7	7 53,8	4 30,8	13 100
KonCA	0 0	7 24,1	17 58,6	5 17,2	29 100
MüsCA	3 11,5	5 19,2	12 46,2	6 23,1	26 100
TOPLAM	1 0,8	28 23,7	80 67,8	9 7,6	118 100

Tablo 4.24. Polip ve CA tiplerinde PTEN ekspresyon şiddetinin ortalamaları

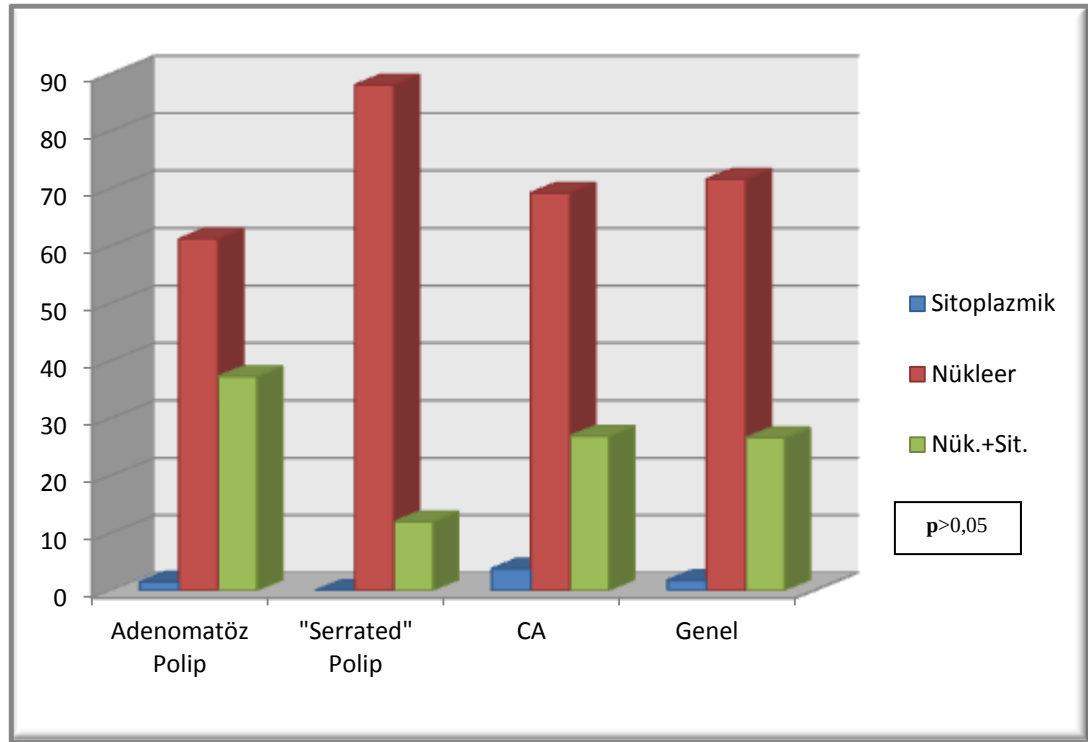
TİP	(n)	X +SD	Min-Maks.
TA	19	1,68±0,582	1-2
TVA	24	1,92±0,408	1-3
VA	24	1,79±0,415	1-2
HP	24	1,67±0,565	1-3
SSA	14	1,93±0,616	1-3
KSA	13	2,08±0,862	0-3
KonCA	29	1,93±0,651	1-3
MüsCA	26	1,81±0,939	0-3
Toplam	173	1,84±0,645	0-3

PTEN ekspresyonu tüm olguların %1,8'inde sitoplazmik (S), %71,6'sında nükleer (N), %26,6'sında nükleer+sitoplazmik (N+S) lokalizasyonda; poliplerin %0,9'unda (1 olgu) S, %72,6'sında N, %26,5'inde N+S lokalizasyonda; CA'ların %3,8'inde (2 olgu) S, %69,2'sinde N, %26,9'unda N+S lokalizasyonda izlenmiştir. Hücre içi ekspresyonun lokalizasyonlarının olgu gruplarına göre dağılımı karşılaştırıldığında, polip ve CA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$). AP (%1,5 S, %61,2 N, %37,3 N+S) ve SP (%88 N, %12 N+S) arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$). CA tiplerine bakıldığında, konCA (%3,4 S, %69 N, %27,6 N+S) ve müsCA (%4,3 S, %69,6 N, %26,1 N+S) arasında benzer bulgular izlenmiştir ($p>0,05$). Polip tipleri değerlendirildiğinde, TA (%63,2 N, %36,8 N+S), TVA (%4,2 S, %58,3 N, %37,5 N+S), VA (%62,5 N, %37,5 N+S), HP (%91,7 N, %8,3 N+S), SSA (%78,6 N, %21,4 N+S), KSA (%91,7 N, %8,3 N+S) arasında izlenen farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Nükleer ekspresyonun olgu tiplerine göre dağılımına bakıldığında, en yüksek oranın HP (%91,7) ve KSA (%91,7) grubu poliplerde; en düşük oranın ise TVA (%58,3) grubu poliplerde bulunduğu izlenmiştir.

Polip ve karsinoma alt tiplerinde PTEN ekspresyonunun hücre içi dağılımı Tablo 4.25; polip ve karsinoma gruplarında PTEN ekspresyonunun hücre içi dağılımı Şekil 4.22'de gösterilmiştir.

Tablo 4.25. Polip ve karsinoma alt tiplerinde PTEN ekspresyonunun hücre içi lokalizasyonları

TİP	PTEN LOKALİZASYONU							Min-Maks.
	(n)	S		N		N+S		
		(n)	%	(n)	%	(n)	%	
TA	19	0	0	12	63,2	7	36,8	1-3
TVA	24	1	4,2	14	58,3	9	37,5	1-3
VA	24	0	0	15	62,5	9	37,5	1-3
HP	24	0	0	22	91,7	2	8,3	1-3
SSA	14	0	0	11	78,6	3	21,4	1-3
KSA	13	0	0	11	91,7	1	8,3	1-3
KonCA	29	1	3,4	20	69,0	8	27,6	1-3
MüsCA	26	1	4,3	16	69,6	6	26,1	1-3
TOPLAM	173	3	1,8	121	71,6	45	26,6	1-3



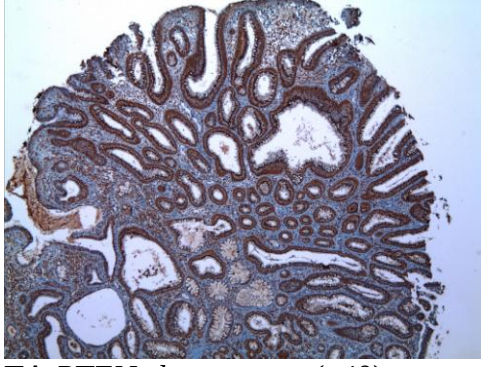
Şekil 4.22. Polip ve karsinoma alt gruplarında PTEN ekspresyonunun hücre içi dağılımı

Displaziye göre yapılan incelemede, PTEN ekspresyon şiddeti ortalama değeri displazi gösteren poliplerde ($1,84 \pm 0,526$) ve displazi göstermeyen poliplerde ($1,81 \pm 0,589$) birbirine yakın değerlerde bulunmuştur. ($p > 0,05$). Polip grubunda çap ve PTEN ekspresyonu açısından korelasyon izlenmemiştir ($p > 0,05$).

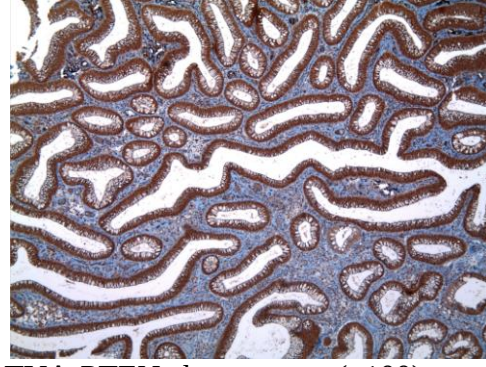
CA grubunda LVI pozitif olgularda ($2,00 \pm 0,866$) ve LVI negatif olgularda ($1,82 \pm 0,766$) PTEN ekspresyon şiddeti ortalama değerlerinin birbirine yakın olduğu saptanmıştır ($p > 0,05$).

Tümör grade, T ve N durumuna göre yapılan incelemede, bu üç parametre ile PTEN ekspresyon şiddeti arasında korelasyon gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Metastaz varlığına göre yapılan karşılaştırmalı incelemede M1 grubu olgularda ($2,11 \pm 0,782$) ve Mx olgularda ($1,83 \pm 0,797$) benzer ekspresyon şiddeti izlenmiştir ($p > 0,05$).

Lokalizasyona göre yapılan değerlendirmede, PTEN ekspresyon şiddetinin sağ kolonda ($1,87 \pm 0,736$) ve sol kolonda ($1,82 \pm 0,582$) anlamlı fark göstermediği izlenmiştir ($p > 0,05$).



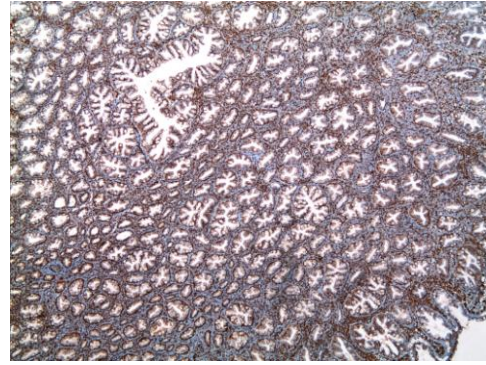
TA-PTEN ekspresyonu (x40)



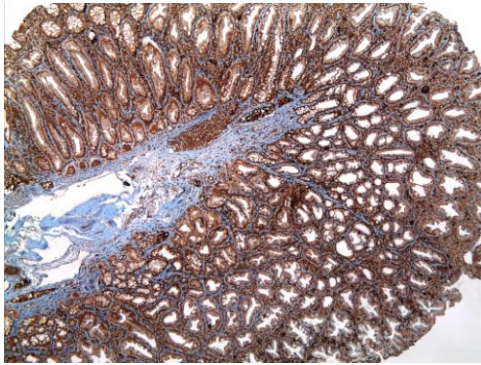
TVA-PTEN ekspresyonu (x100)



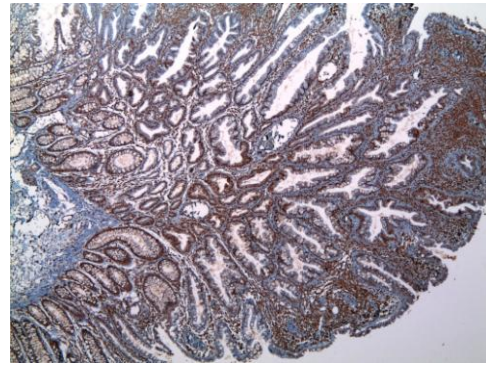
VA-PTEN ekspresyonu (x40)



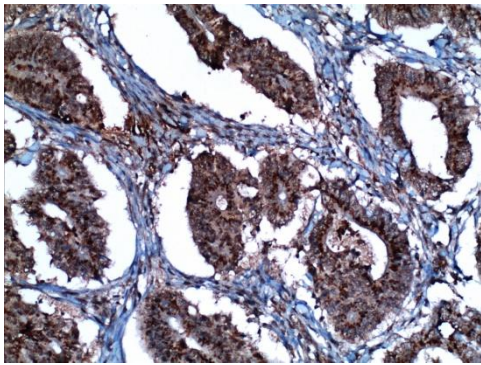
HP-PTEN ekspresyonu (x40)



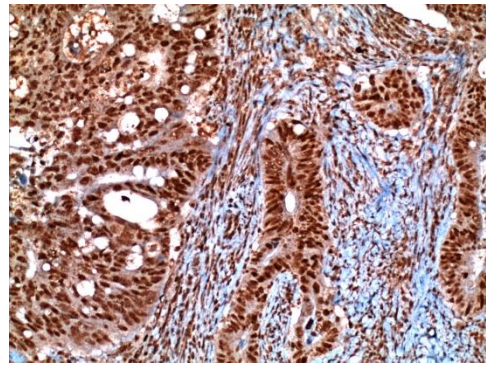
SSA-PTEN ekspresyonu (x40)



KSA-PTEN ekspresyonu (x40)



KonCA-PTEN ekspresyonu (x200)



MüsCA-PTEN ekspresyonu (x200)

Resim 4.5. Olgu Tiplerinde PTEN Ekspresyonu

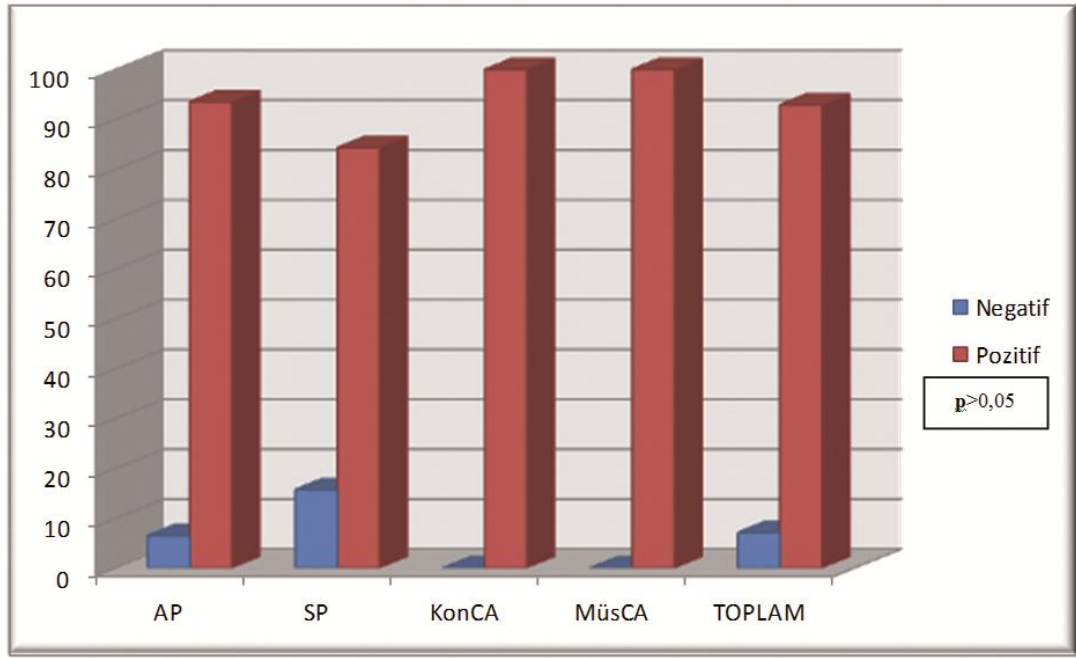
4.2.2.3. pAKT Ekspresyonu

pAKT ile yapılan incelemede, olguların %92,9’unda; polip vakalarının %89,4’ünde, CA vakalarının tamamında pAKT ekspresyonu izlenmiştir. CA vakalarında izlenen pAKT ekspresyon oranı, polip olgularında izlenen ekspresyon oranına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir ($p<0,05$). pAKT ekspresyonu ile ilgili sonuçlar, polip gruplarına göre değerlendirildiğinde, AP (%93,5) ve SP (%84,3) arasında izlenen fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Polip alt grupları ve CA grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında, CA grubu ile AP grubu arasında anlamlı fark izlenmezken ($p>0,05$), CA ile SP ($p<0,05$) grupları arasında ekspresyon oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.

Polip alt tiplerine bakıldığında, TA (%78,9), TVA (%100), VA (%100), HP (%70,8), SSA (%92,9), KSA (%100) grupları arasında izlenen farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Polip ve karsinoma gruplarında pAKT ekspresyonu Tablo 4.26 ve Şekil 4.23’te gösterilmiştir.

Tablo 4.26. Polip ve karsinoma gruplarında pAKT ekspresyonu

pAKT	Negatif		Pozitif		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%
AP	4	6,5	58	93,5	62	100
“Serrated” Polip	8	15,7	43	84,3	51	100
KonCA	0	0	29	100	29	100
MüsCA	0	0	26	100	26	100
TOPLAM	12	7,1	156	92,9	168	100



Şekil 4.23. Polip ve karsinoma gruplarında pAKT ekspresyonu

pAKT ekspresyonu, olguların %83,9’unda diffüz; poliplerin %76,1’inde diffüz; CA grubunun tamamında diffüz olarak izlenmiştir. pAKT yaygınlığı açısından CA grubunda, polip grubuna oranla diffüz ekspresyon oranının yüksek olduğu saptanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$). Polip grupları değerlendirildiğinde, AP (%93,5 diffüz) ve SP (%29,4 fokal, %54,9 diffüz) arasında izlenen fark anlamlıdır ($p < 0,001$).

Polip alt tiplerinde pAKT ekspresyon paterni değerlendirildiğinde, TA (%21,1 negatif, %78,9 diffüz), TVA (%100 diffüz), VA (%100 diffüz), HP (%29,2 negatif, %33,3 fokal, %37,5 diffüz), SSA (%7,1 negatif, %21,4 fokal, %71,4 diffüz), KSA (%30,8 fokal, %69,2 diffüz) grupları arasında, TVA ve VA gruplarında diffüz ekspresyon oranı, TA, HP, SSA ve KSA gruplarına göre fazla bulunmakla birlikte, izlenen farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

pAKT ile, olguların %40,6’sında hafif şiddette, %43,5’inde orta şiddette, %7,6’sında şiddetli; poliplerin %43,5’inde hafif şiddette, %35,7’sinde orta şiddette, %8,7’sinde şiddetli, poliplerin, CA olgularının %34,5’inde hafif şiddette, %60’ında orta şiddette, %5,5’inde ise şiddetli ekspresyon mevcuttur.

pAKT ekspresyon şiddeti ortalama değerleri genel olarak, tüm olgularda $1,51 \pm 0,756$, poliplerde $1,41 \pm 0,815$, CA'larda $1,71 \pm 0,567$ olarak hesaplanmıştır. Polip ve CA grubu arasında pAKT ekspresyon şiddeti ortalama değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p < 0,05$). Polip grupları değerlendirildiğinde, AP ($1,70 \pm 0,849$) ve SP ($1,04 \pm 0,599$) grupları arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,001$). CA tiplerine bakıldığında, konCA ($1,66 \pm 0,553$) ve müsCA ($1,77 \pm 0,587$) grupları arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p > 0,05$). Polip grupları CA grupları ile karşılaştırıldığında, SP grubunda gözlenen ekspresyon şiddeti, AP ($p < 0,001$), konCA ($p < 0,001$) ve müsCA ($p < 0,01$) gruplarına oranla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur.

Polip alt tipleri tek tek değerlendirildiğinde, pAKT ekspresyon şiddeti ortalama değeri, TA grubunda $1,42 \pm 0,961$, TVA grubunda $1,83 \pm 0,917$, VA grubunda $1,81 \pm 0,602$, HP grubunda $0,79 \pm 0,588$, SSA grubunda $1,29 \pm 0,611$, KSA grubunda $1,23 \pm 0,439$ olarak hesaplanmıştır. Polip ve CA alt tipleri birbiri ile karşılaştırıldığında, TA grubunda HP'ye göre ($p < 0,001$), TVA ve VA gruplarında HP ($p < 0,001$), SSA ($p < 0,05$) ve KSA'ya ($p < 0,05$) göre, konCA ve müsCA gruplarında, HP ($p < 0,001$) ve KSA'ya ($p < 0,05$) ve müsCA grubunda SSA'ya ($p < 0,05$) göre pAKT ekspresyon şiddeti ortalama değerinin anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır. Polip ve karsinoma alt tiplerinde pAKT ekspresyon şiddeti oranları Tablo 4.27, polip ve karsinoma alt tiplerine göre pAKT ekspresyon şiddeti ortalama değerleri Tablo 4.28'de gösterilmiştir.

Tablo 4.27. Olgu alt tiplerinde pAKT ekspresyon şiddeti oranları

pAKT	0		1		2		3		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
TA	4	21,1	5	26,3	8	42,1	2	10,5	19	100
TVA	2	8,3	6	25,0	10	41,7	6	25,0	24	100
VA	0	0	6	28,6	13	61,9	2	9,5	21	100
HP	7	29,2	15	62,5	2	8,3	0	0	24	100
SSA	1	7,1	8	57,1	5	35,7	0	0	14	100
KSA	0	0	10	76,9	3	23,1	0	0	13	100
KonCA	0	0	11	37,9	17	58,6	1	3,4	29	100
MüsCA	0	0	8	30,8	16	61,5	2	7,7	26	100
TOPLAM	14	8,2	69	40,6	74	43,5	13	7,6	170	100

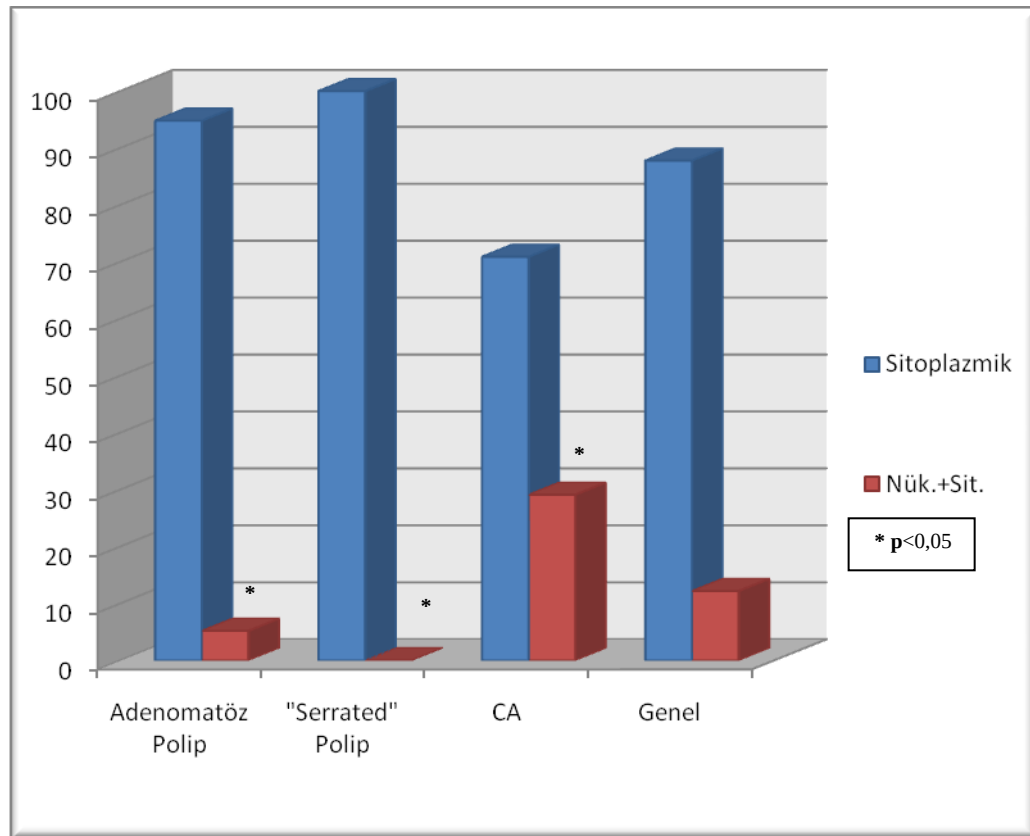
Tablo 4.28. Polip ve CA tiplerinde pAKT ekspresyon şiddetinin ortalamaları

TİP	(n)	X± SD	Min-Maks.
TA	19	1,42±0,961	0-3
TVA	24	1,83±0,917	0-3
VA	21	1,81±0,602	1-3
HP	24	0,79±0,588	0-2
SSA	14	1,29±0,611	0-2
KSA	13	1,23±0,439	0-2
KonCA	29	1,66±0,553	1-3
MüsCA	26	1,77±0,587	1-3
TOPLAM	170	1,51±0,756	0-3

pAKT ekspresyonu genel olarak %87,8 olguda S, %12,2 olguda N+S lokalizasyonda; poliplerde %97 olguda S, %3 olguda N+S lokalizasyonda; CA'lar da %70,9 olguda S, %29,1 olguda N+S lokalizasyonda izlenmiştir. Polip olgularında N+S ekspresyon oranı CA grubuna göre düşük bulunmuştur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). Polip grupları pAKT ekspresyonunun hücrel lokalizasyonuna göre değerlendirildiğinde, SP (%100 S) grubunda AP (%94,8 S, %5,2 N+S) grubuna oranla sitoplazmik lokalizasyonun fazla olduğu izlense de bu fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). CA tiplerine bakıldığında, konCA (%55,2 S, %44,8 N+S) ve müsCA (%88,5 S, %11,5 N+S) arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$) Polip grupları CA grupları ile karşılaştırıldığında, AP-konCA ($p<0,001$), SP-konCA ($p<0,001$) ve SP-müsCA ($p<0,05$) grupları arasında anlamlı sitoplazmik ekspresyon farkı saptanmıştır. Polip tipleri değerlendirildiğinde, TA (%93,3 S, %6,7 N+S), TVA (%95,5 S, %4,5 N+S), VA (%95,2 S, %4,8 N+S), HP (%100 S), SSA (%100 S), KSA (%100 S) arasında izlenen farklar ve bunların CA grubunda izlenen oranlara olan farkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Polip ve karsinoma alt tiplerinde pAKT ekspresyonunun hücre içi dağılımı Tablo 4.29 polip ve karsinoma gruplarında pAKT ekspresyonunun hücre içi dağılımı Şekil 4.24'te gösterilmiştir.

Tablo 4.29. Polip ve karsinoma gruplarında pAKT ekspresyonunun hücre içi lokalizasyonları

TİP	pAKT LOKALİZASYONU					Min-Maks.
	(n)	S		N+S		
		(n)	%	(n)	%	
TA	15	14	93,3	1	6,7	0-3
TVA	22	21	95,5	1	4,5	1-3
VA	21	20	95,2	1	4,8	0-3
HP	17	17	100	0	0	0-3
SSA	13	13	100	0	0	0-3
KSA	13	13	100	0	0	0-3
KonCA	29	16	55,2	13	44,8	0-3
MüsCA	26	23	88,5	3	11,5	0-3
TOPLAM	156	137	87,8	19	12,2	0-3



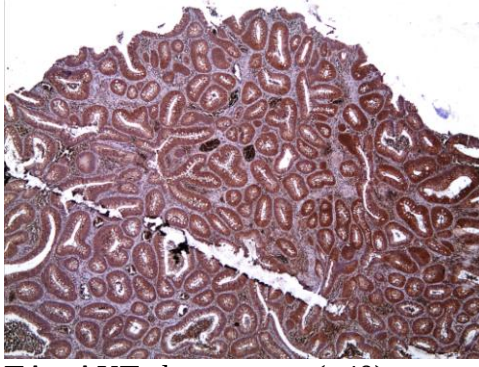
Şekil 4.24. Polip ve karsinoma gruplarına göre pAKT ekspresyonunun hücre içi dağılımı

Displaziye göre yapılan incelemede, pAKT ekspresyon şiddeti ortalama değeri displazi gösteren poliplerde $1,76 \pm 0,726$ olarak; displazi göstermeyen poliplerde $1,21 \pm 0,799$ olarak hesaplanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Polip grubunda çap ve pAKT ekspresyonu açısından pozitif korelasyon bulunduğu ($r = 0,331$, $p < 0,001$) tespit edilmiştir.

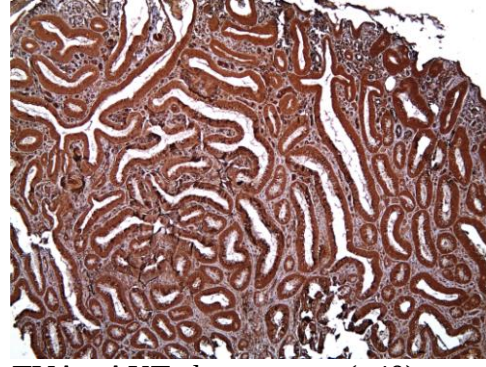
CA grubunda, LVI pozitif olgularda ($1,71 \pm 0,470$) ve LVI negatif olgularda ($1,71 \pm 0,611$) benzer şiddette pAKT ekspresyonu gözlenmiştir ($p > 0,05$).

Tümör grade, T ve N durumuna göre yapılan incelemede, bu üç parametre ile pAKT ekspresyon şiddeti arasında korelasyon gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Metastaz varlığına göre yapılan karşılaştırmalı incelemede, M1 grubu olgularda ($1,67 \pm 0,500$) ve Mx olgularda ($1,72 \pm 0,584$) izlenen ekspresyon şiddetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p > 0,05$).

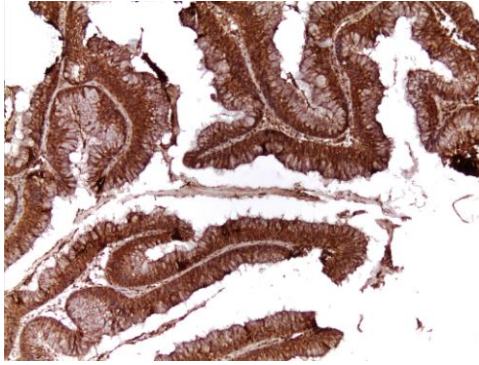
Lokalizasyona göre yapılan değerlendirmede, pAKT ekspresyon şiddetinin sağ kolonda ($1,22 \pm 0,670$), sol kolona ($1,69 \pm 0,754$) oranla daha düşük ortalama değere sahip olduğu izlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$).



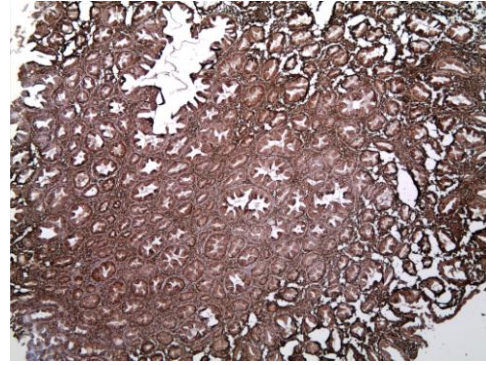
TA-pAKT ekspresyonu (x40)



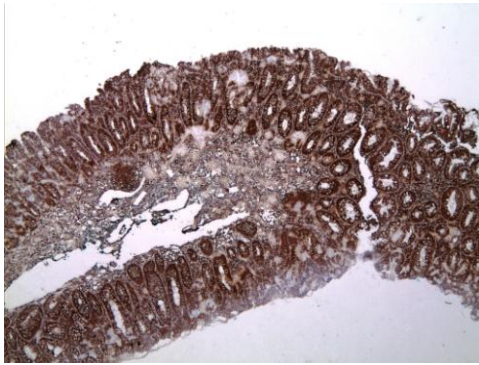
TVA-pAKT ekspresyonu (x40)



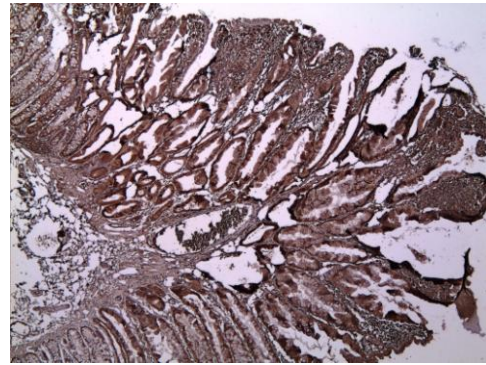
VA-pAKT ekspresyonu (x100)



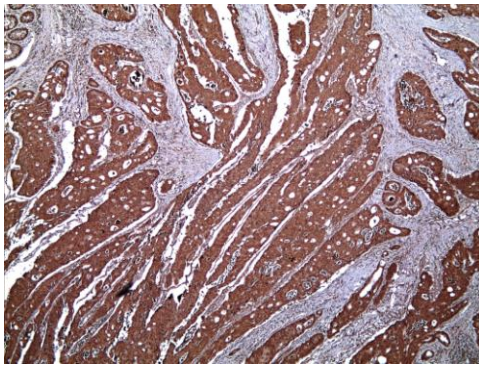
HP-pAKT ekspresyonu (x40)



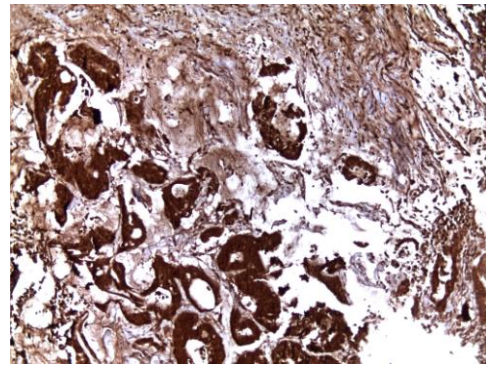
SSA-pAKT ekspresyonu (x40)



KSA-pAKT ekspresyonu (x40)



KonCA-pAKT ekspresyonu (x40)



M sCA-pAKT ekspresyonu (x40)

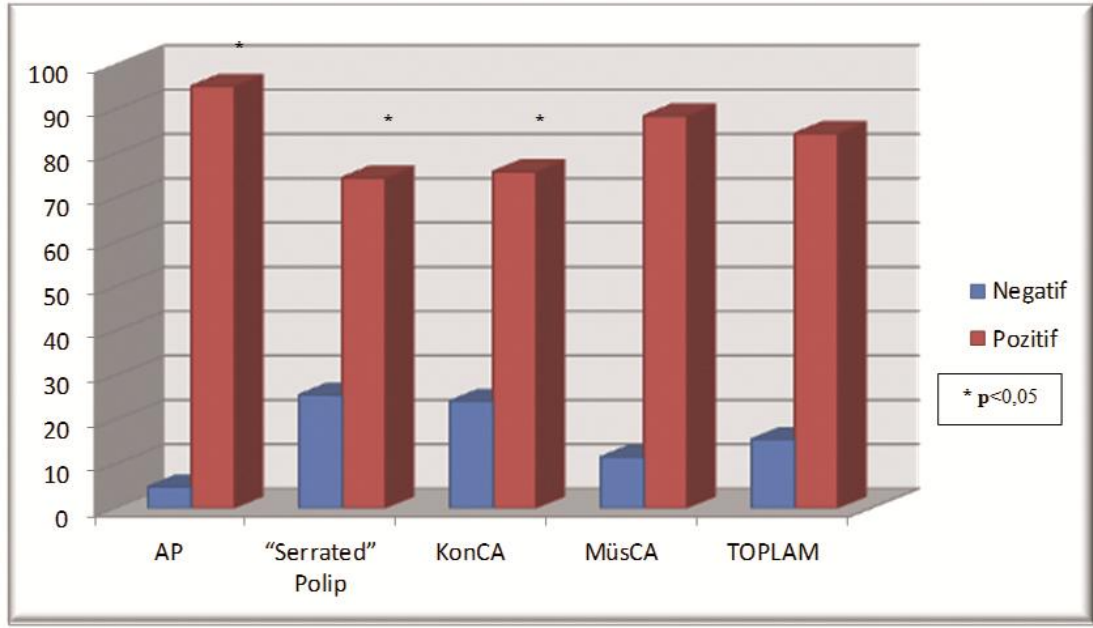
Resim 4.6. Olgu Tiplerinde pAKT Ekspresyonu

4.2.2.4. mTOR Ekspresyonu

mTOR ile yapılan incelemede tüm olguların %84,5'inde, polip vakalarının %85,8'inde, CA vakalarının %81,8'inde ekspresyon izlenmiştir. Ekspresyon oranı açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). mTOR ekspresyonu ile ilgili sonuçlar polip gruplarına göre değerlendirildiğinde, AP'lerde (%92,2), SP (%74,5) grubuna oranla anlamlı derecede yüksek ekspresyon gözlenmiştir. CA grupları arasında, mTOR ekspresyon oranlarında (konCA %75,9, müsCA %88,5) anlamlı istatistiksel fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). Polip ve CA alt grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında, AP grubunda izlenen mTOR ekspresyon oranı, konCA'ya oranla anlamlı şekilde yüksektir ($p<0,05$). Polip alt tipleri birbiri ile karşılaştırıldığında, TA (%89,5), TVA (%91,3), VA (%95,5), HP (%66,7), SSA (%85,7) ve KSA (%76,9) gruplarında izlenen PI3K ekspresyon oranları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Polip ve karsinoma gruplarında mTOR ekspresyonu Tablo 4.30 ve Şekil 4.25'te gösterilmiştir.

Tablo 4.30. Polip ve karsinoma gruplarında mTOR ekspresyonu

mTOR	Negatif		Pozitif		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%
AP	3	4,8	59	95,2	62	100
“Serrated” Polip	13	25,5	38	74,5	51	100
KonCA	7	24,1	22	75,9	29	100
MüsCA	3	11,5	23	88,5	26	100
TOPLAM	26	15,5	142	84,5	168	100



Şekil 4.25. Polip ve karsinoma gruplarında mTOR ekspresyonu

mTOR ile olguların %66,1'inde diffüz; poliplerin %58,4'ünde diffüz; CA grubunun tamamında diffüz ekspresyon izlenmiştir. mTOR yaygınlığı açısından CA grubunda, polip grubuna oranla diffüz ekspresyon oranının yüksek olduğu saptanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$). Polip grupları değerlendirildiğinde, AP (%19,4 fokal, %75,8 diffüz) grubunda diffüz ekspresyon oranının ve SP (%37,3 fokal, %37,3 diffüz) grubuna oranla daha fazla olduğu izlenmiş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Polip alt grupları CA grubuyla tek tek karşılaştırıldığında, aradaki farkın SP grubunda daha belirgin olduğu dikkati çekmiştir ($p < 0,001$)

Polip alt tiplerinde mTOR ekspresyon paterni değerlendirildiğinde, TA (%10,5 negatif, %42,1 fokal, %47,4 diffüz), TVA (%9,5 fokal, %90,5 diffüz), VA (%4,5 negatif, %9,1 fokal, %86,4 diffüz), HP (%33,3 negatif, %41,7 fokal, %25 diffüz), SSA (%14,3 negatif, %35,7 fokal, %50 diffüz), KSA (%23,1 negatif, %30,8 fokal, %46,2 diffüz) grupları arasında, TVA ve VA gruplarında diffüz ekspresyon oranı, TA, HP, SSA ve KSA gruplarına göre fazla bulunmakla birlikte, izlenen farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Olguların %51,2'sinde hafif şiddette, %30'unda orta şiddette, %2,4'ünde şiddetli; poliplerin %57,4'ünde hafif şiddette, %25,2'sinde orta şiddette, %1,7'sinde şiddetli; CA olgularının %38,2'sinde hafif şiddette, %40'ında orta şiddette, %3,6'sında ise şiddetli ekspresyon mevcuttur.

mTOR ekspresyon şiddeti ortalama değerleri genel olarak, tüm olgularda $1,18 \pm 0,727$, poliplerde $1,13 \pm 0,682$, CA'larda $1,29 \pm 0,809$ olarak hesaplanmıştır. Polip ve CA grubu arasında mTOR ekspresyon şiddeti ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p < 0,05$). Polip grupları değerlendirildiğinde, AP ($1,39 \pm 0,681$) grubunda ekspresyon şiddeti SP ($0,80 \pm 0,530$) grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı fark gösterecek derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$). CA tiplerine bakıldığında, konCA ($1,07 \pm 0,753$) grubu grubu ekspresyon şiddeti ortalama değeri, müsCA ($1,54 \pm 0,811$) grubuna oranla anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Polip grupları CA grupları ile karşılaştırıldığında, SP grubunda gözlenen ekspresyon şiddeti, müsCA ($p < 0,01$) grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur.

Polip tipleri tek tek değerlendirildiğinde, mTOR ekspresyon şiddeti ortalama değerleri TA grubunda $1,37 \pm 0,761$, TVA grubunda $1,35 \pm 0,647$, VA grubunda $1,45 \pm 0,671$, HP grubunda $0,67 \pm 0,482$, SSA grubunda $0,93 \pm 0,475$, KSA grubunda $0,92 \pm 0,641$ olarak hesaplanmıştır. Polip ve CA alt tipleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, HP grubu ekspresyon şiddeti ortalama değeri, TA ($p < 0,01$), TVA ($p < 0,01$), VA ($p < 0,001$), konCA ($p < 0,05$) ve müsCA ($p < 0,001$); SSA grubu ekspresyon şiddeti ortalama değeri, VA ($p < 0,05$) ve müsCA ($p < 0,05$); KSA grubu ekspresyon şiddeti ortalama değeri, VA ($p < 0,05$), müsCA ($0,05$); konCA grubu ekspresyon şiddeti ortalama değeri, müsCA ($p < 0,05$) grubuna oranla anlamlı derecede düşüktür.

mTOR ekspresyonu tüm olgularda sitoplazmik lokalizasyonda izlenmiştir. Polip ve karsinoma alt tiplerinde mTOR ekspresyon şiddeti oranları Tablo 4.31, polip ve karsinoma alt tiplerinde mTOR ekspresyon şiddetinin ortalama değerleri Tablo 4.32'de gösterilmiştir.

Tablo 4.31. Olgu alt tiplerinde mTOR ekspresyon şiddeti oranları

mTOR	0		1		2		3		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
TA	2	10,5	9	47,4	7	36,8	1	5,3	19	100
TVA	2	8,7	11	47,8	10	43,5	0	0	23	100
VA	1	4,5	11	50,0	9	40,9	1	4,5	22	100
HP	8	33,3	16	66,7	0	0	0	0	24	100
SSA	2	14,3	11	78,6	1	7,1	0	0	14	100
KSA	3	23,1	8	61,5	2	15,4	0	0	13	100
KonCA	7	24,1	13	44,8	9	31	0	0	29	100
MüsCA	3	11,5	8	30,8	13	50	2	7,7	26	100
TOPLAM	18	15,7	66	57,4	29	25,2	2	1,7	115	100

Tablo 4.32. Polip ve CA tiplerinde mTOR ekspresyon şiddetinin ortalamaları

TİP	(n)	X± SD	Min-Maks.
TA	19	1,37±0,761	0-3
TVA	23	1,35±0,647	0-2
VA	22	1,45±0,671	0-3
HP	24	0,67±0,482	0-1
SSA	14	0,93±0,475	0-2
KSA	13	0,92±0,641	0-2
KonCA	29	1,07±0,753	0-2
MüsCA	26	1,54±0,811	0-3
TOPLAM	170	1,18±0,727	0-3

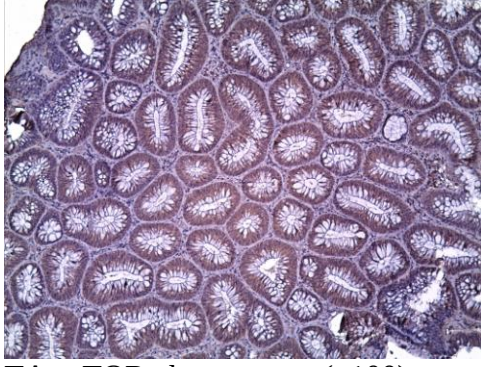
Displaziye göre yapılan incelemede, mTOR ekspresyon şiddetinin displastik odaklarda arttığı gözlenmiş, ve ekspresyon şiddeti ortalama değeri, displazi gösteren poliplerde (1,30±0,773) displazi göstermeyen poliplere (1,03±0,604) oranla yüksek

olarak hesaplanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Polip grubunda çap arttıkça mTOR ekspresyon şiddetinin arttığı ($r=0,186$, $p<0,05$) gözlenmiştir.

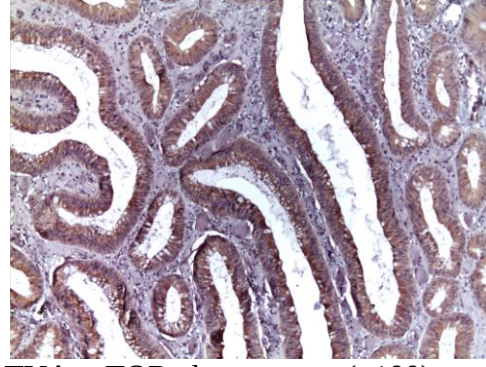
CA grubunda LVI pozitif olgularda ($1,29\pm0,686$) ve LVI negatif olgularda ($1,29\pm0,867$) benzer şiddette mTOR ekspresyonu gözlenmiştir ($p>0,05$).

Tümör grade, T ve N durumuna göre yapılan incelemede, bu üç parametre ile mTOR ekspresyon şiddeti arasında korelasyon gözlenmemiştir ($p>0,05$). Metastaz varlığına göre yapılan karşılaştırmalı incelemede M1 grubu olgularda ($1,22\pm0,833$) ve Mx olgularda ($1,30\pm0,813$) izlenen ekspresyon şiddetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$).

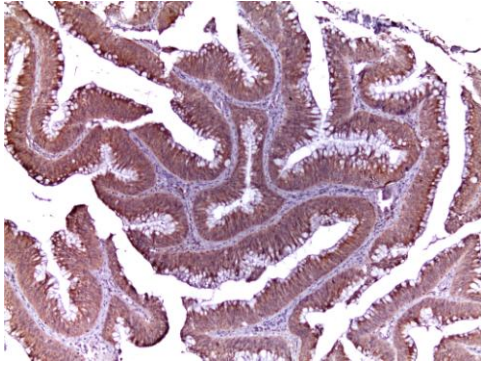
Lokalizasyona göre yapılan değerlendirmede, mTOR ekspresyon şiddeti ortalaması sağ kolonda $1,17\pm0,714$, sol kolonda $1,19\pm0,738$ olarak hesaplanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).



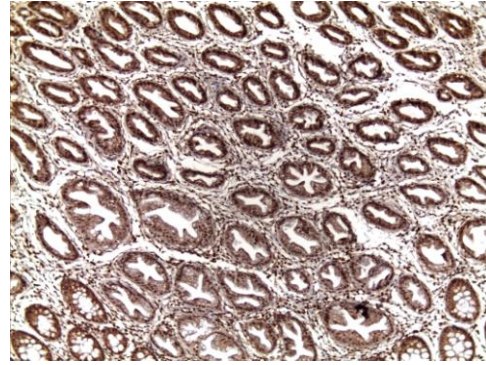
TA-mTOR ekspresyonu (x100)



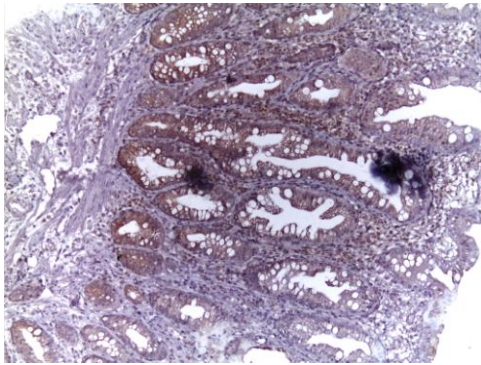
TVA-mTOR ekspresyonu (x100)



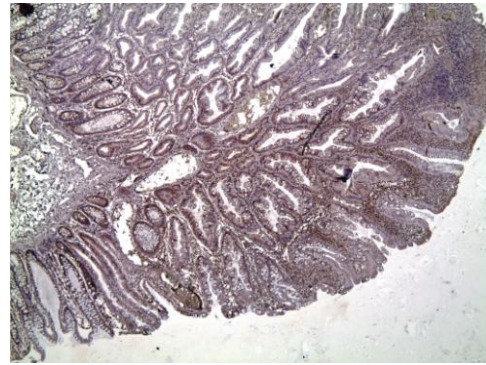
VA-mTOR ekspresyonu (x100)



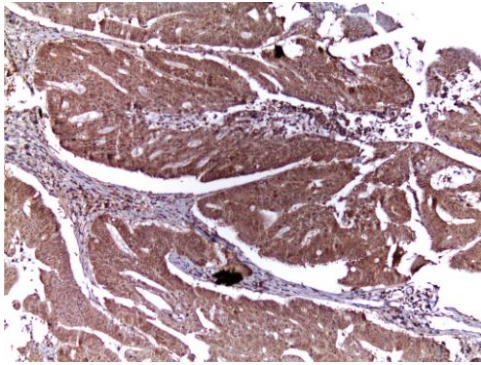
HP-mTOR ekspresyonu (x100)



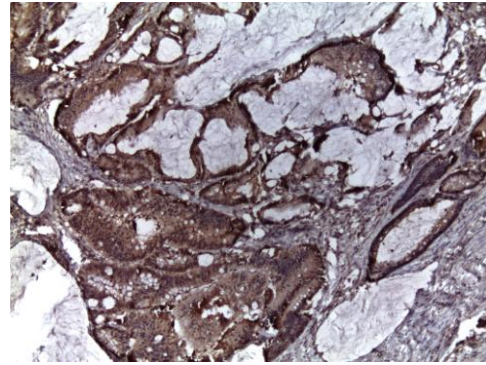
SSA-mTOR ekspresyonu (x100)



KSA-mTOR ekspresyonu (x400)



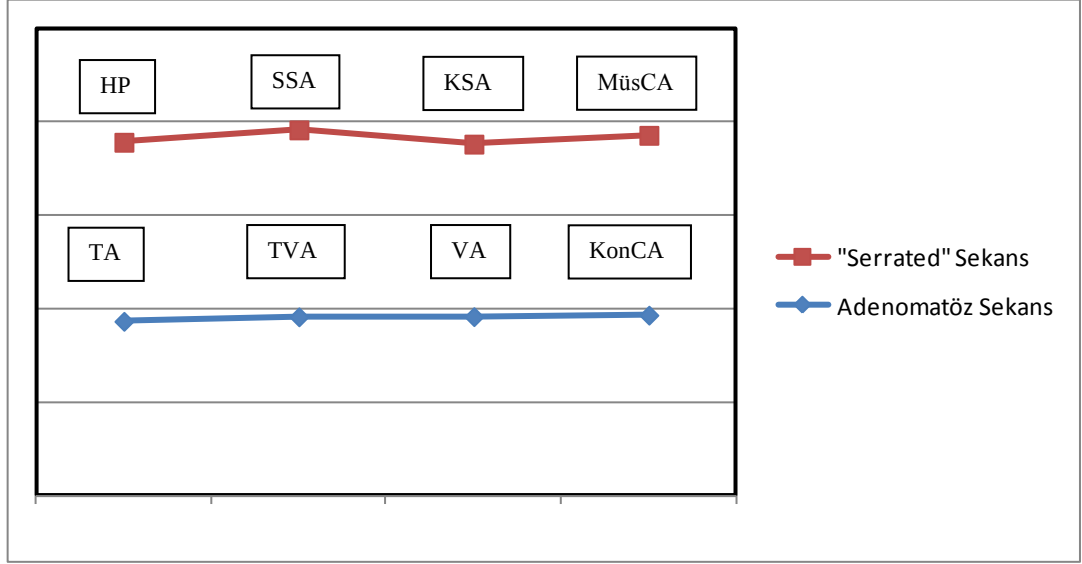
KonCA-mTOR ekspresyonu (x100)



MÜSCA-mTOR ekspresyonu (x100)

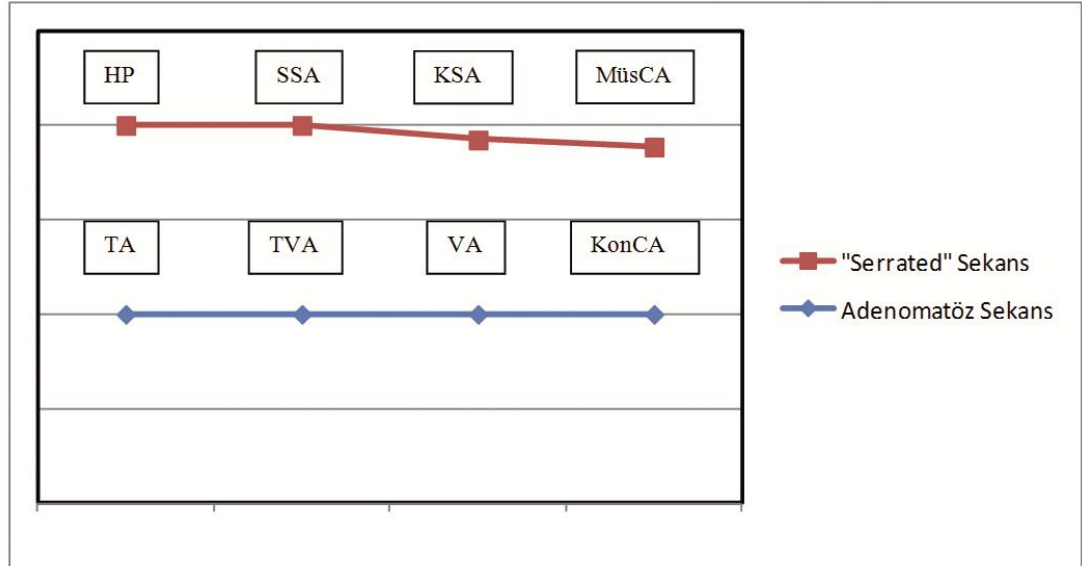
Resim 4.7. Olgu Tiplerinde mTOR Ekspresyonu

4.2.3. Adenomatöz ve Serrated Neoplazi Sekanslarının İmmünohistokimyasal Belirteçler Açısından Değerlendirilmesi



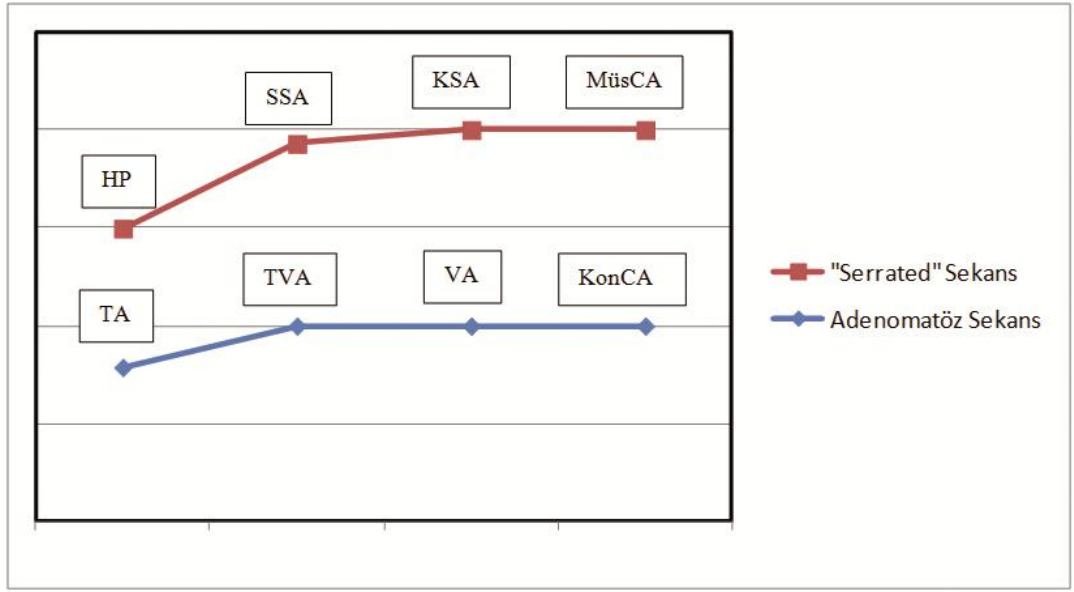
Şekil 4.26. PI3K Ekspresyon Oranları

PI3K serrated sekansta minimal varyasyon gösterirken, adenomatöz sekansta ise ekspresyon düzeyi sekan boyunca değişmeden aynı düzeyde seyretmiştir.



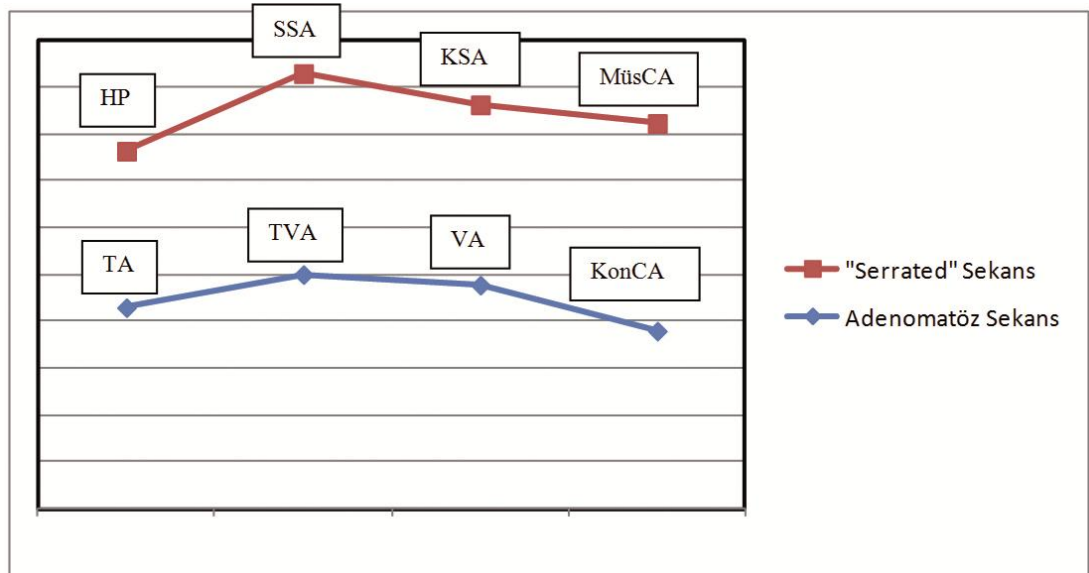
Şekil 4.27. PTEN Ekspresyon Oranları

PTEN ekspresyonu serrated sekansta progresyonla negatif korele şekilde azalmış, adenomatöz sekansta ise değişmemiştir.



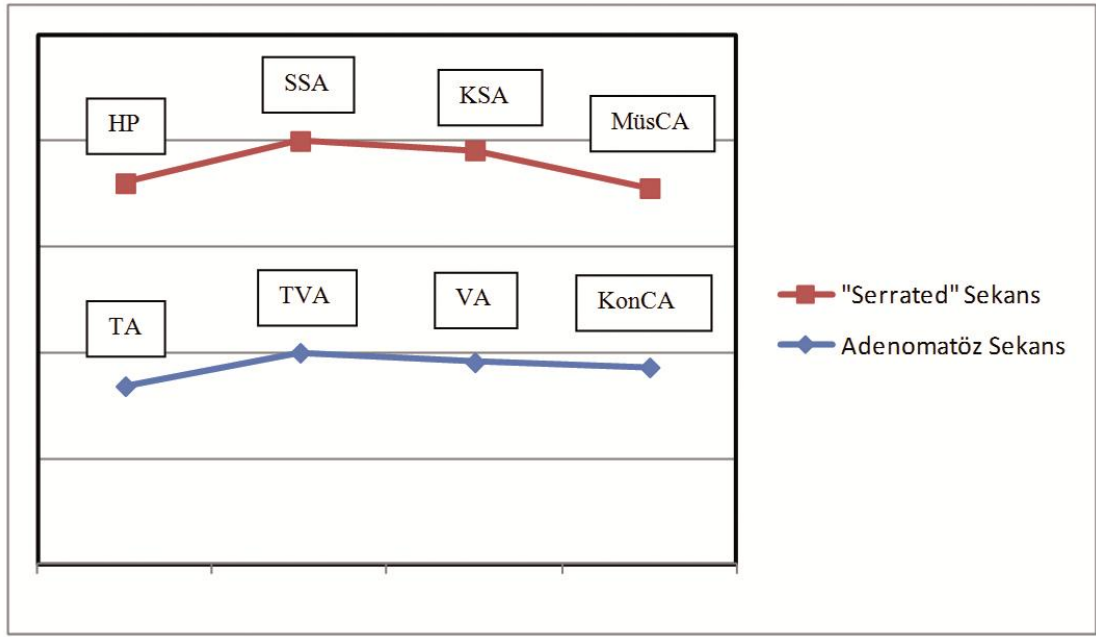
Şekil 4.28. pAKT Ekspresyon Oranları

pAKT ekspresyonu hem serrated sekansta hem de adenomatöz sekansta progresyonla uyumlu şekilde yükselme göstermiştir.



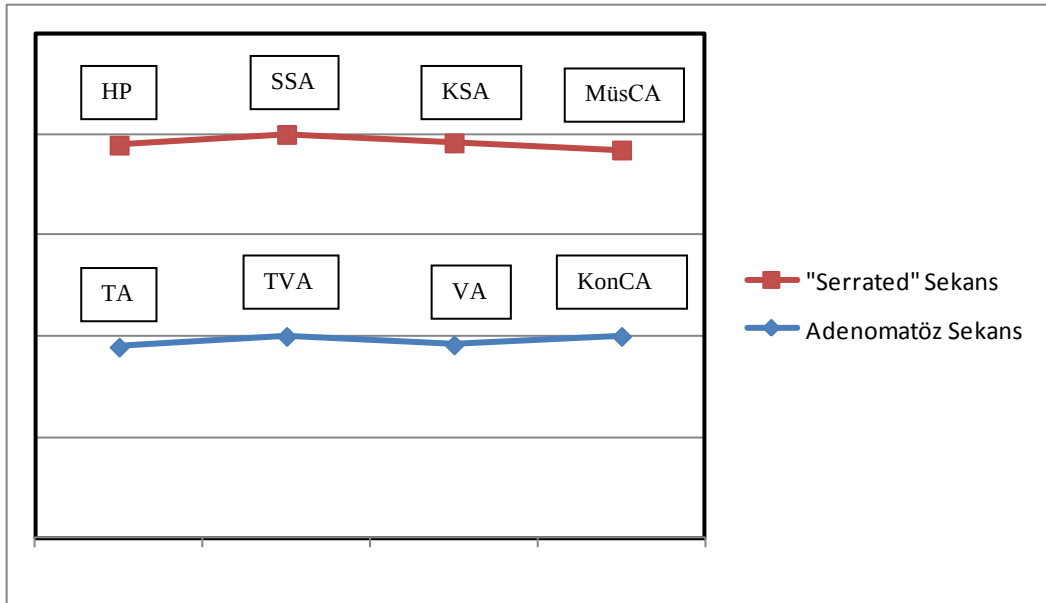
Şekil 4.29. mTOR Ekspresyon Oranları

mTOR her iki sekansta da erken lezyonlarda yüksek ekspresyonuna karşın, neoplastik uçta belirgin azalma göstermiştir.



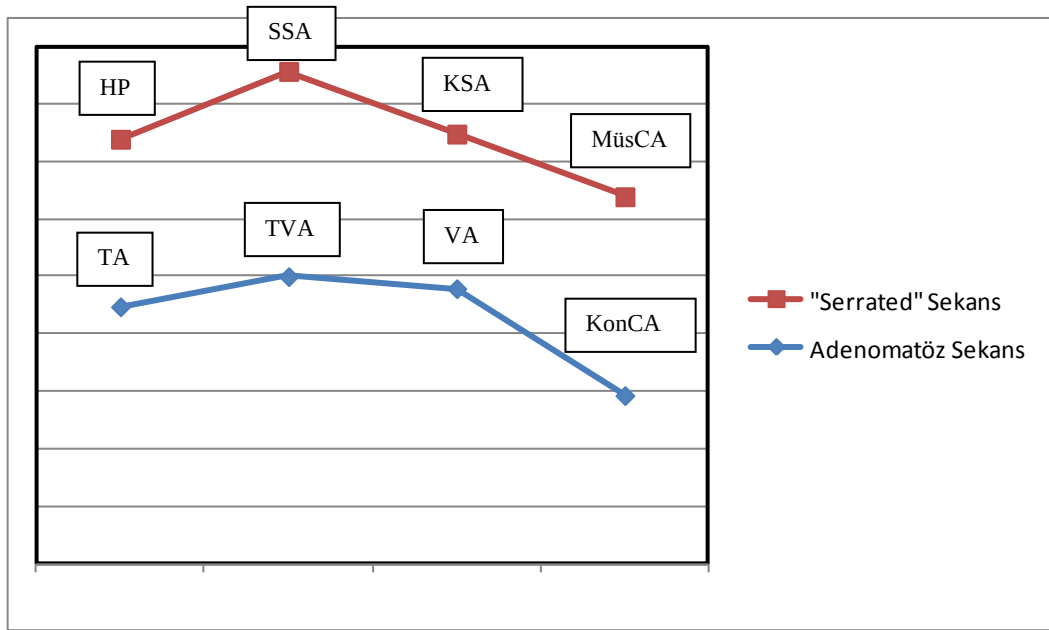
Şekil 4.30. MEK1 Ekspresyon Oranları

MEK1 ekspresyonu her iki sekansta erken dönemdeki ekspresyonu daha yüksek iken, karsinomlarda azalma göstermiştir.



Şekil 4.31. ERK1 Ekspresyon Oranları

ERK1 her iki sekansta da belirgin değişme göstermeksizin eksprese olmuştur.



Şekil 4.32. ERK2 Ekspresyon Oranları

ERK2 her iki sekansta erken lezyonlarda artmış ekspresyonuna karşın, neoplastik progresyonla negatif korele şekilde karsinomlarda belirgin azalma göstermiştir.

5. TARTIŞMA

Kolorektal karsinogenez çok basamaklı ve uzun süreli bir olgudur. İlk olarak adenoma-karsinoma sekansı üzerinden bu süreçteki moleküler değişikliklerin tanımlanmasıyla başlayan çalışmalar, diğer karsinogenetik mekanizmaların ve bunların morfolojik karşılıklarının ortaya konduğu çok sayıda araştırma ile günümüze kadar artarak devam etmiştir. Kolorektal karsinoma, kansere bağlı ölümler arasında üçüncü sırada yer almaktadır. Kolorektal karsinomada ölüme yol açan ana neden uzak organ metastazıdır. Primer tümörün evresine bağlı olarak, %20-%70 oranında karaciğer, %10-%20 oranında ise akciğer metastazları gözlenir (130). İleri evre hastalıkta, cerrahi tedavinin hastaların %25'inden azında kür sağlama (131), metastatik kolorektal karsinomalı hastalarda cerrahi tedavi yanında prognozu iyileştirmeye yönelik yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi zorunluluğunu doğurmuştur. Son yıllarda, hedefe yönelik tedavinin tümör tedavisinde ve prognostik değerlendirmelerde giderek yaygınlaştığı düşünüldüğünde, kolorektal karsinomalarda da tedavi seçimini belirleyecek moleküler belirteçlerin kullanımı ve olguların buna göre klasifikasyonu son derece önemli ve gereklidir. İleri evre hastalık tedavisinde önemli bir yere sahip olan monoklonal EGFR antikorları, devam eden çalışmalarda EGFR sinyal arayolunun ve bu arayolda yer alan moleküllerin tedavi için olası uygun hedefler olabileceği görüşünü doğurmuştur (132,133). Yapılan çalışmalarda, kolorektal karsinomaların %30-40 kadarında izlenen aktive edici KRAS mutasyonlarının anti-EGFR tedavilerine olumsuz yanıt ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Anti-EGFR tedavisi verilebilmesi için KRAS mutasyonunun bulunmaması koşulu aranırken, bunun tedavi sensitivitesini öngörmeye yeterli olmaması ve KRAS mutasyonu göstermeyen hastaların durumu, tedavi direncine neden olan diğer belirteçlerin aydınlatılmasını gerekli kılmaktadır. Bu belirteçlerin, RAS arayolu olarak tanımlanan, ancak RAS-MAPK ve PI3K-AKT olarak bilinen iki temel arayoldan oluşan sinyal yolağındaki moleküller olabileceği düşünülmektedir. EGFR monoklonal antikor tedavisine karşı dirençte PI3KCA mutasyonlarının etkili olabileceğini bildiren çalışmalar sınırlı sayıda ve birbirleriyle örtüşmemektedir (83). Bunun yanında PTEN kaybı, metastazı veya anti-EGFR tedavisine direnci

öngörmede test edilebilecek potansiyel bir hedef olarak ortaya konmaktadır. Benzer şekilde PI3K/AKT/mTOR arayolunda rol oynayan moleküllerin, son yıllarda diğer tümör grupları için de potansiyel tedavi hedefleri olabilecekleri düşünülmektedir.

RTK ailesinin bir üyesi olan EGFR aktivasyonu ile başlatılan ana proliferatif ve anti-apoptotik sinyal iletim arayolu, RAS üzerinden gelişir ve iki arayolu birden etkinleştirir. KRAS birinci arayolda daha etkin, HRAS ikinci arayolun daha potent aktivatörüdür. Bu arayollardan ilki, küçük G-proteini RAS ile birlikte aktive olan protein kinaz RAF ve onun aktive ettiği MAPK arayolu, ikincisi ise, lipid kinaz fosfatidil inozitol 3 kinaz (PI3K) ve bunun aktive ettiği AKT sinyal arayoludur. Bunlar iki ayrı arayol gibi görünseler ve sinyal iletimindeki asıl molekül birincide MEK, ikincide AKT olsa da, birbirleriyle paralel ilerlerler ya da sürekli bir interaksiyon içindedirler. Örneğin, RAS mutasyonu her iki arayolu da aktive ederek başlatabilirken, PI3K/AKT aktivasyonu RAS/RAF/MAPK arayolunu inhibe edebilir. Buna karşın, RAF mutasyonu yalnızca RAF/MAPK arayolunu aktive edebilmektedir. Bazı hücrelerde RAF aktivitesinin bu iki arayol arasında bir bağlantı noktası görevi gören AKT ile negatif yönde kontrol edildiği bilinmektedir. Her iki arayolun aktivasyonu, çok sayıda “downstream” moleküllerinin fosforile olarak hücre döngüsü ve proliferasyonunu kontrol edebilmelerini sağlar. Bu moleküllerin fosforilasyonu apoptozun inhibisyonu ve gen transkripsiyonunun artışı ile sonuçlanır. Bu nedenle, RAS/RAF/MAPK arayolu ile PI3K/AKT/mTOR arayolu arasındaki ilişkinin ortaya konması, kolorektal karsinogenez basamaklarının daha iyi anlaşılmasına ve özellikle ileri evre hastalıkta tedavi gereksiniminin belirlenmesine yardımcı olacaktır.

Çalışmamızda, EGFR sinyalinin nükleusa RAS aracılı iletiminde rol oynayan iki ana sinyal iletim yolu olan MAPK (MEK1, ERK1, ERK2) ve PI3K (PI3K, PTEN, pAKT, mTOR) arayollarında yer alan moleküllerin kolorektal karsinogenezdeki yerleri ve birbirleri ile ilişkisi araştırılmıştır.

MAPK arayolu, hücrelerde büyüme, proliferasyon, diferansiyasyon, apoptoz gibi temel fonksiyonların gerçekleştirilebilmesi için gerekli ekstrasellüler sinyallerin nükleusa iletiminde görev alan üç tabakalı bir kaskaddır (134,135). Bu kaskad içinde en iyi anlaşılabilmiş olan, RAF-MAP Kinaz/ERK Kinaz (MEK)-ERK arayoludur. Bu

arayolda, RAF aktive olduktan sonra hem MEK1, hem MEK2'yi iki ayrı serin rezidüsü üzerinden fosforilasyon aracılığıyla aktive eder. Aktive olan MEK, ERK'leri (ERK1 ve ERK2) aktive eder. Aktivasyon sonrası ERK'ler ya çok sayıda sitoplazmik hedefi fosforile eder, ya da nükleusa göç ederek c-Fos ve Elk-1'in de aralarında bulunduğu bazı transkripsiyon faktörlerini uyarır (134,135). Kontrolü bozulmuş MAPK aktivasyonu tümör hücre proliferasyonu yanı sıra apoptozun inhibisyonu, hücre diferansiyasyonunun bozulması gibi patolojik hücre davranışından sorumlu tutulmaktadır (136). İnsan kanserlerinin yaklaşık 1/3'ünde ERK arayolu kontrolü bozuktur. MAPK arayolunu aktive eden RAS proteinleri insan tümörlerinin %20 kadarında mutasyon göstermektedir (137). Bu oran sporadik kolorektal karsinomalarda %35'e kadar çıkmaktadır (138). RAS'ın, genomik instabiliteyi arttırarak kanser gelişime neden olduğu bilinse de (139,140) ERK1/2 MAPK arayolundaki moleküllerin kanser gelişimine nasıl yol açtığı henüz bilinmemektedir (141). Kolorektal karsinomalara bakıldığında, MEK'in primer kolon tümörlerinde aktive olduğunu işaret edecek şekilde, ERK'in kolorektal karsinoma hücrelerinde aktif halde bulunduğunu gösteren çalışmaların bulunduğu görülmektedir (142). Bugün için MEK'in mutasyona uğramadığı kabul edilmekle birlikte, iletim arayolundaki "upstream" moleküllerin mutasyonları sonucu aktive olduğu düşünülmektedir. Literatürde kolorektal karsinomlara %44'e ulaşan oranlarda MEK aktivasyonu bildirilmektedir (143). Bu durumda MEK hedefe yönelik tedavide inhibe edilerek tüm arayolun durdurulabileceği potansiyel bir hedef oluşturmaktadır. MEK1 ve MEK2, ERK1 ve ERK2'yi serin ve treonin rezidüleri üzerinden fosforile ederek görev yapan, birbirleriyle yakın ilişki içerisinde bulunan çift etkili moleküllerdir. Bu yakın ilişkili iki molekül, MAPK arayolunun katalitik etkisi olan tek substratlarıdır. ERK sinyalini bloke etmek için üzerinde en çok çalışılan inhibisyon modelleri RAF ve MEK'in inhibisyonudur (144).

Lee ve ark. 123 olguluk (10 TA, 10 VA, 103 CA) serilerinde immünohistokimyasal yöntemle pMEK ekspresyonunu araştırmış ve CA'larda TA ve VA'ya oranla daha fazla olmak üzere tüm tümörlerin %76'sında pMEK ekspresyonunu gözlediklerini bildirmiştir (137). Daha geniş öncü lezyon örneklem aralığına sahip çalışmamızda, biz, tüm olguların %93,6'sında MEK1 ekspresyonu saptadık. Ekspresyon değerlerinin olgu gruplarında veya olgu alt tiplerinde birbirine

benzer oranda olduğunu gözlemledik. Literatürde, MEK1'in hem sitoplazmik hem de nükleer yerleşimli bir protein olabileceğini bildiren çalışmalar (137,145) bulunmaktadır. Deneysel çalışmalarda (146) MEK'in mitojenik uyarılara cevap olarak hızla nükleusa geçtiği gösterilmişse de, nükleustaki görevi ve bunun tümör gelişimine katkısı tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Duhamel ve ark. 49 normal kolon mukoza, toplam 406 kolorektal polip ve karsinoma örneğinde doku mikroarray tekniği yardımıyla MEK1/2 ve ERK1/2 ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında (141) kolorektal karsinoma olgularının %44'ünde sitoplazmik, %79'unda ise nükleer MEK1/2 ekspresyonu saptadıklarını bildirmiştir. Aynı çalışmada eş zamanlı onkojenik RAS ile enfekte edilmiş intestinal epitel hücre kültürleri ve kolorektal adenokarsinom hücre kültürleri de kullanılmıştır. Normal mukozaya ait örneklerde sitoplazmik zayıf MEK1/2 ekspresyonu bulunurken, nükleer ekspresyonun kript bazallerinde birkaç hücrede sınırlı olarak bulunduğunu, normal mukozanın aksine hiperplastik polip, adenomatöz polip ve invaziv karsinoma olgularında hem lezyon yüzeyinde, hem de lezyon tabanında kaba granüler paternde nükleer ekspresyonun bulunduğunu ve ayrıca onkojenik RAS ile enfekte hücre serilerinde fosforile olmuş MEK1/2'nin nükleusta birikim gösterdiğini; bu şekilde ERK1/2 hiperaktivasyonuna yol açarak hücre siklus kontrolünün bozulmasına neden olduğunu öne sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda ise, MEK 1 ekspresyonu tüm vakalarda baskın olarak sitoplazmik lokalizasyonda izlenmiş ve nükleusu da işaret eden ekspresyonun yalnızca TA ve KonCA gruplarında belirgin olduğu saptanmıştır. Olgu gruplarımızda izlediğimiz MEK1 şiddeti birbirine benzer olsa da, polip tipleri arasında KSA'dan SSA, HP'ye doğru gidildikçe düşme paterni göstermesi ve SP'lerde AP'lerden biraz daha yüksek olması, MEK1'in "serrated" lezyonlarda daha önemli bir yere sahip olabileceğini düşündürmüştür. Diğer çalışmada HP dışındaki SP tipleri yer almadığı için sağlıklı karşılaştırma yapılamamakla birlikte, sonuçlar TA ve CA grupları açısından benzerlik göstermektedir. Ancak çalışmamızda kullandığımız antikoru MEK1'e spesifik olması, MEK1/2 antikoru kullanan diğer çalışmalardan (137,141) farklı olmakla birlikte, MEK1 ve MEK2'nin senkronize çalıştıkları düşünüldüğünde sonuçlarımızın karşılaştırılabilir olduğu anlaşılmaktadır.

Duhamel ve ark. yaptıkları çalışmada onkojenik RAS ile enfekte edilen hücre serilerinde MEK1/2'de olduğu gibi, fosforile edilmiş ERK1/2'nin nükleer birikim

gösterdiğini gözlemlemiştir. Levidou ve ark. (147) tedavi almamış olgular arasından seçtikleri toplam 94 primer kolorektal karsinoma olgusunu kullanarak BRAF ve KRAS mutasyonları ile ERK ve MMR proteinleri olarak bilinen hMLH1, hMSH2'nin immünohistokimyasal ekspresyonlarını karşılaştırdıkları araştırmalarında, kolorektal karsinoma olgularında ERK ekspresyonunun nükleus ve sitoplazmada benzer oranlarda bulunduğu belirtilirken, bu ekspresyonun, BRAF, KRAS mutasyonları, hMLH1, hMSH2 ekspresyonları ile ilişki göstermediği bildirilmiştir. Bizim çalışmamıza ait olgu gruplarında ERK1 ile gruplar arasında ekspresyon farkı gözlenmezken, ERK2 ekspresyonu AP grubunda SP ve CA gruplarına göre belirgin ölçüde yüksek oranda izlenmektedir. ERK1 ve ERK2'nin olgu grupları arasındaki ekspresyon oranlarını karşılaştırdığımızda, benzer iniş ve çıkışları gösterdikleri, ekspresyon şiddetlerine baktığımızda ise, ERK1'in polip grubunda daha yüksek, CA grubunda daha düşük şiddette saptanması, SP'lerde ERK1 şiddeti en yüksek iken, müSCA'larda en düşük olarak saptanması, ERK1'in erken karsinogeneze aktive olduğunu düşündürmektedir. Neoplastik progresyon ilerledikçe araya başka mutasyonların katılmasıyla, arayolda ERK1 sinyalinin baskılanması, karsinomlardaki düşük ekspresyonu açıklayabilir ancak, bu konuda yeterli çalışma olmaması yorum yapmayı zorlaştırmaktadır. Displazi gösteren poliplerde ERK1 ve ERK2 ekspresyon şiddetleri, displazi göstermeyenlere oranla yüksek bulunmuştur. Bu bulgu da ERK'lerin erken karsinogenetik etkisini vurgulaması açısından önemlidir. ERK2 ile olgu serimizde SP'lerde izlenen düşük ekspresyon şiddeti HP ve SSA'larda BRAF mutasyonunun sık olarak izlendiğini bildiren literatür (4,36) ile çelişmektedir. BRAF sinyalinin temel olarak MEK ve ERK üzerinden nükleusa ulaştığı düşünüldüğünde, SP'lerde MEK ve ERK sinyallerinin artmış olması beklenmektedir, ancak, literatürde bu ilişkiyi irdeleyen çalışma bulunmamaktadır. Bu durumda, spekülasyon olarak, sinyal iletiminin kompleksitesi ve arayollarda rol alan moleküllerin interaksyonu göz önünde bulundurularak, çeşitli "feedback" mekanizmalarının da bazı durumlarda devreye girebileceği ve BRAF mutasyonu ile aktive olması beklenen MEK/ERK arayolunun neoplastik süreçte bu yolla yeniden inaktifleşebileceği düşünülebilir.

"Serrated" poliplerin moleküler patogenezi ve kolorektal karsinoma alt tipleri ile aralarında olan bağlantılar gün geçtikçe daha da iyi anlaşılmaktadır. Bu yolda atılmış en önemli adımlar CIMP arayolunun ve bir onkogen olan BRAF'ın "serrated"

prekürsörlerden kanserlere kadar olan spektrumda saptanabiliyor olmasıdır (64,89). Bu konudaki en büyük gelişme hem “serrated” polipler, hem de MSI üzerinden gelişen kolorektal karsinomalarda BRAF mutasyonlarının görülebildiğinin anlaşılmasıdır (86,89,148). BRAF’ta meydana gelen aktive edici nokta mutasyonu (V600E) KRAS’ın da içinde yer aldığı MAPK arayolunun aktive olmasına neden olur ve bu aktivasyon hücre proliferasyonu, apoptozun inhibisyonu ile sonuçlanır. İlginç olarak BRAF SSA’ların büyük çoğunluğunda mutant iken, AP’lerde neredeyse hiç BRAF mutasyonu izlenmemektedir (124). BRAF mutasyonu, CIMP’in “serrated” karsinogenezde anahtar bir role sahip olduğunu kanıtlarcasına CIMP ile korelasyon göstermektedir (124). BRAF mutasyonu kolorektal karsinogenezde morfolojik olarak saptanabilen en küçük lezyonlar olan aberan kript odağı ve “serrated” aberan kript odağında da gösterilmiştir (149,150). Çalışmamızda, hem ERK1, hem de ERK2 ile sağ kolon lezyonlarında sol kolona göre daha fazla oranda ekspresyon izlenmiştir. Lokalizasyonun gerek polip gelişimde rol oynayan, gerekse bu poliplerden gelişen neoplazilerin ortaya çıkmasında önemli moleküler mekanizmaları belirleyebilecek bir faktör olduğunu da göz önünde bulundurduğumuzda (4), bu durumun sağ kolon yerleşimli poliplerde daha çok BRAF mutasyonunun bulunması ve BRAF’ın MEK/ERK aktivasyonuna yol açmış olabileceği olasılığı ile açıklanabileceğini düşünmekteyiz.

PI3K/AKT/mTOR sinyal yolu kolorektal karsinomalarda proliferasyon, apoptoz inhibisyonu, anjiyogenez ve metastaz gelişiminde önemli role sahiptir (151) (152-154). PI3-kinazlar fosfatidil inozitolü fosforile etme yeteneğine sahip önemli intrasellüler sinyal iletim molekülleridir. PI3K sinyal iletim yolunda reseptör tirozin kinazlar (RTK) veya G protein bağlı reseptörlerin uyarılması sonucu elde edilen sinyaller, PI3K’lar tarafından aktive edilen fosfolipid moleküllerin serin/treonin kinaz AKT ve diğer sinyal alt yollarını aktive etmesi ile hücre içine iletilir (155-157). PI3K ailesi üç boyutlu yapıları, düzenlenmeleri ve lipid substrata olan spesifitelerine göre 3 sınıfa ayrılır (classI, classII, ClassIII). Hücre membranında fosfatidil inozitol 4,5 bifosfattan (PIP2), PIP1 oluşumu, RTK lar tarafından fizyolojik olarak aktive edilen “class” I PI3Kların aktivitesine bağlıdır (99). Bugüne kadar kanser ilişkili mutasyonların dört “class” I PI3K dan yalnızca PIK3CA geni tarafından kodlanan P110 α alt ünitesi ve çok sayıda düzenleyici alt ünitelerden biri olan P85 α içeren PI3Kyı

etkilediği bulunmuştur. Literatürde, kolorektal karsinomaların %15-25 inde p110 α katalitik subunitini kodlayan PI3K geninin somatik mutasyonlar gösterdiğini bildirilmiştir (100,101,128). Carson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (102) bu mutasyonların PI3KCA kinaz aktivitesini arttırdığı ve bu şekilde etkilenmiş hücrelerde PIP3 oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir. Özellikle PI3K her ne kadar etkisini KRAS proteinine ait alt arayol üzerinden gösterse de KRAS mutasyonlarının bir ölçüde PI3KCA mutasyonları ile birliktelik gösterdiği de bilinmektedir (101,103). PI3K molekülü hizasında paralel iki devre gibi birbirine bağlanan bu iki arayolda, RAS sinyalinin PI3K'yı uyardığı bilinmektedir (91). Her iki genin de mutasyon sonucu aktive olmaları halinde yeterince aktivasyon gösteren PI3K üzerinde etkisi azalan KRAS'ın MEK/ERK arayolunu aktive edeceği ve bu durumda iki koldan artarak devam eden hücre içi sinyal iletiminin gerçekleşeceği düşünülebilir (136).

Literatürde PI3K gen mutasyonlarının kolorektal karsinoma tedavisinde etkilerini moleküler yöntemler üzerinden tartışan çok sayıda çalışma bulunmaktaysa da, immünohistokimyasal PI3K ekspresyonu ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır. Benzer şekilde, adenomatöz veya “serrated” poliplerde, yöntemden bağımsız olarak, PI3K ekspresyonu ile ilgili bilgi de sınırlıdır. Johnson ve ark.nın 154 hastada immünohistokimyasal yöntemle PI3K (p85 α), AKT1, AKT2, p-mTOR ve p-p70S6K ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında (158) tümörlü dokularda, normal kolon dokularına oranla tüm antikörlerin ekspresyonlarının artmış olduğu saptanmıştır. Literatürde PI3K'nın kolorektal karsinogenez üzerindeki etkilerini moleküler yöntemlerle değerlendiren çalışmalar bulunsaydı da, Johnson ve ark.nın yaptığı bu çalışma PI3K'yı geniş bir olgu serisinde immünohistokimyasal olarak değerlendiren ilk çalışmadır. Bu çalışmada, PI3K ekspresyonu ile hasta yaşı, kanser evresi ve tümör lokalizasyonu arasında korelasyon bulunduğu bildirilmiş, PI3K ekspresyonunun evre IV tümörlerde, erken evre tümörlere oranla daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Benzer şekilde evre IV kolon tümörlü hastalara ait tümörsüz kolon dokularında da, erken evre hastalara ait tümörsüz dokulara oranla PI3K ekspresyonunun daha yüksek saptandığı ve bunun dikkat çekici olduğu bildirilmiştir. Ancak, PI3K ekspresyonunu değerlendirmek için PI3K85 α subunitine spesifik bir primer antikör kullandığımız çalışmamızda, PI3K ekspresyon oranı ve şiddeti açısından gruplar arasında, karsinomlarda da LVI, grade, TNM değişkenlerine bağlı

anlamli farklılık saptanmamıştır. Buna karşın, CA grubunda PI3K ekspresyon şiddeti polip grubuna oranla daha yüksek bulunmuş, ekspresyonun hücrel lokalizasyonu, AP ile SP ve KonCA ile MüsCA arasında anlamlı farklılık göstermiştir. Buna göre AP ve KonCA’larda sitoplazmik ekspresyon baskın iken, SP ve MüsCA’larda nükleer ekspresyon gözlenmiştir. Bu durum, PI3K’nın “bekçisi” olarak kabul edilen PTEN geniyle ilgili olarak, normalde nükleusta bulunduğu, malign transformasyon sırasında sitoplazmik translokasyon gösterdiğini öne süren (159,160) literatür bilgisinin tartışmaya açık olduğunu düşündürmektedir. Çünkü, çalışmamızda hem PI3K, hem de PTEN ekspresyonu tüm gruplarda daha belirgin olarak nükleer lokalizasyon göstermiştir (40,124,125) Ancak her iki antikor normal mukozada da nükleer ekspresyon göstermişlerdir. Bu sonuçları yorumlarken kullanılan antikorların mono-ya da poliklonal olmaları, klon farklılıkları gibi teknik konuların da dikkate alınması gerekmektedir. Ancak yapılan çok az sayıdaki immünohistokimyasal çalışmada bu ayrıntılar tam olarak açıklanmadığı için özellikle ekspresyonların hücre içi lokalizasyonları konusunda daha ileri yorum yapılması sağlıklı olmayacaktır. Bu konudaki tek moleküler çalışma ise Fujita ve ark.nın 2011 yılına ait çalışmaları olup (161), bu çalışmada HP, SSA ve kanserleşme gösteren SSA vakalarını içeren 362 vakadan oluşan seride PI3K (PI3KCA) mutasyonu moleküler yöntemlerle değerlendirilmiş ve kanserleşme gösteren polipler de dahil hiçbir “serrated” polipte PI3K mutasyonunun izlenmediği belirtilmiştir. Aynı lezyonlarda eş zamanlı KRAS ve BRAF mutasyonlarının da değerlendirildiği çalışmada HP ve SSA’larda BRAF mutasyonunun oldukça sık, KRAS mutasyonunun ise nadir görüldüğü de bildirilmiş ve bu sonuç ile literatür bilgisine uyum sağlayacak şekilde SSA patogeneğinde PI3K ve KRAS mutasyonundan ziyade BRAF mutasyonunun etkili olduğu çıkarımı yapılmıştır. Söz konusu çalışma “serrated” adenomlar ile bu vakalar üzerinde gelişen displazi ve karsinomalarda PI3K (PI3KCA) mutasyonunu değerlendiren ilk çalışmadır. SSA’ların proksimal kolon yerleşimli bazı MSI-H kanserlerin prekürsör lezyonu olduğu bilgisi de (31,39) göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızda da müsCA grubunda PI3K’ın sitoplazmik ekspresyon oranının AP ve konCA grubuna göre düşük olarak izlenmesi, her ne kadar sağ-sol kolon lokalizasyonları açısından fark bulunmamış olsa da, PI3K’nın serrated neoplazi sekansında ileri evrede belirgin bir rolünün olmadığı görüşünü desteklemektedir.

Bu sonucun yanı sıra PI3K'nın, adenom-karsinom sekansı üzerinden gelişen kolorektal tümörlerde erken dönemde mutasyona uğrayan bir molekül olduğu düşünülebilirse de, bu hipotez ileri evre ve agresif seyirli tümörlerde yüksek oranda PI3K mutasyonu veya ekspresyonunu bildiren çalışmalar (158,162,163) ile çelişmektedir. Ancak az sayıdaki çalışma, gerek olgu grupları açısından gerekse immünohistokimyasal ekspresyonun değerlendirilmesi yönünden yeterli olmayıp, sonuçlarının bu nedenle dikkatle yorumlanması gerekmektedir. Sonuçlarımıza göre, PI3K'nın adenom-karsinom sekansı için de anlamlı rolünün olmadığı görülmektedir. Buna ek olarak, literatürde kolon poliplerinde PI3K ekspresyonunu displaziye göre karşılaştıran örnek bulunmamaktadır. Çalışmamızda ise, PI3K ekspresyon şiddeti ve oranı displazi gösteren polipler ve displazi göstermeyen poliplerde birbirine yakın bulunmuştur.

PI3K arayolunda son yıllarda en fazla göze çarpan iki molekülden biri olan PTEN, 10q23'te lokalize bir tümör supresör gendir. Bu aktivitesini PI3K (phosphoinositide 3-kinase) inhibisyonu yoluyla, PIP2 (Phosphatidylinositol 3-4 biphosphate) ve PIP3 (Phosphatidylinositol 3-4-5 triphosphate)'ün inaktif defosforile hallerinde kalmalarını sağlayarak gerçekleştirir (164,165). PI3K aktivasyonu, hücre siklus progresyonu yanı sıra apoptoz inhibisyonundan da sorumlu bir proto-onkogen olan AKT'nin (166,167) aktif hali olan pAKT ekspresyonuna yol açar. PTEN'in bu kaskaddaki asıl rolü, PI3K bağımlı AKT aktivasyonunu inhibe etmektir. Büyüme faktör uyarısı bulunmayan hücrelerde AKT aktivitesi normalde düşük olarak saptanırken, PTEN kaybı bulunduran tümör hücrelerinde yüksek oranda AKT fosforilasyonu tespit edilmiştir (168,169). PI3K/AKT aktivasyonunun hücre kültürlerindeki kolon epitel hücrelerinde malign transformasyona yol açtığı gösterilmiş olmasına karşın (80,154,170), sporadik kolorektal kanserlerde PTEN-PI3K/AKT yolunun önemi ve klinikopatolojik korelasyonu henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir (165).

PTEN ekspresyonu ile ilgili daha önce yapılmış olan çalışmalarda çelişkili sonuçlar alınmıştır. Buna göre, bazı çalışmalarda normal hücrelerde PTEN'in nükleer ekspresyonu izlenirken, tümör hücrelerinde sitoplazmik ekspresyonun ön plana çıktığını bildiren çalışmalar (159,160) bulunmaktadır. PTEN lokalizasyonunun tümör

progresyonu ile değişmediği (171) veya ekspresyon lokalizasyonunun hücrenin proliferatif siklustaki konumuna göre değişebileceğini bildiren (172) yayınlar da bulunmaktadır. PTEN ekspresyonu hakkındaki değerlendirmeler sadece kolorektal karsinomalar değil, diğer organ malignitelerine ait çalışmalarda da birbirleri ile çelişkilidir. Malign plevral mezotelyoma olgularında yapılan çalışmalarda Opitz ve ark. (173) 206 olgunun %62'sinde PTEN kaybı saptadıklarını belirtse de Cedres ve ark. 30 mezotelyoma vakasında (174), olguların %95'inde PTEN ekspresyon kaybı bulunmadığını bildirmişlerdir. Cedres ve ark. nın yaptığı çalışma ve daha önce yayınlanmış bazı çalışmalarda (175) PTEN ekspresyonu ile ilgili sonuçların gösterdiği değişiklikler, kullanılan antikor klonlarının ve hücre içerisinde gösterdiği ekspresyon lokalizasyonunun farklı olmasına bağlanabilir.

Hsu ve ark.nın 133 kolorektal karsinoma vakasında Western blot ve immünohistokimya yöntemlerini kullanarak 5-fluorouracil (5-FU), oxaliptatin ve irinotekana karşı tümör hücre kemosenitivitesini değerlendirdikleri çalışmalarında (176) normal kolon mukoza epitelinde yüksek oranda izlenen nükleer PTEN ekspresyonunun adenomatöz polip ve kolorektal karsinoma olgularında belirgin olarak azalmış olduğu, bunun yanı sıra olgu grupları arasında sitoplazmik boyanmada anlamlı fark bulunmadığı ayrıca yüksek oranda PTEN ekspresyonu gözlenen tümörlerin 5-FU ve oxaliptatin kemoterapisine duyarlı oldukları bildirilmiştir. Aynı çalışmada tümör çapı arttıkça PTEN kaybının da arttığı belirtilmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalarda (162,165) kolorektal karsinoma olgularında orta düzeyde PTEN kaybı saptandığı bildirilmiştir. PTEN kaybı birçok solid tümörde beklenen bir bulgu olmakla birlikte ekspresyon kaybının düzeyi çalışmalar arasında büyük farklılıklar göstermektedir (174). Bu durumun kullanılan antikorların teknik özellikleri ve klonları ile immünohistokimyasal yöntemlerin sensitifliğine bağlı olabileceği düşünülmektedir (171). Literatürde, adenomatöz polip olgularında PTEN ekspresyon değerlerini bildiren çok fazla çalışma bulunsa da “serrated” poliplerde PTEN ekspresyonu hakkında çalışma bulunmamaktadır. Chen ve ark. (177) 2007 yılında yayınlanmış, 85 kolorektal karsinoma, 18 adenomatöz polip ve 9 perikanseröz tümörsüz kolon dokusunu inceledikleri çalışmalarında PTEN

ekspresyon değerlerini kolorektal karsinoma, adenoma ve tümörsüz kolon dokularında benzer nitelikte saptadıklarını; bu çalışmadan bir yıl sonra ise Çolakoğlu ve ark., (165) adenomatöz poliplerde, invaziv kanser olgularına oranla PTEN kaybını daha yüksek bulduklarını bildirmişlerdir. Benzer şekilde 2010 yılında yapılan bir çalışmada (175) nükleer PTEN ekspresyon şiddeti ve oranının normal kolon mukozasından adenomatöz polip ve kolorektal karsinomaya doğru gidildikçe giderek azaldığı bildirilmiştir.

Çalışmamızda kullandığımız PTEN antikoru nükleer ekspresyon özelliği göstermektedir. PTEN ekspresyon şiddeti, yaygınlığı ve ekspresyon paterni açısından adenomatöz polip, “serrated” polip ve CA grubu arasında anlamlı fark saptanmazken, polip alt tiplerinde nükleer PTEN ekspresyonu en yüksek oranda HP ve KSA grubu poliplerde; en düşük oranda ise TVA grubu poliplerde izlenmiştir. Çalışmamızda, polip grubunda PTEN ekspresyon şiddeti ve yaygınlığı ile displazi ve çap arasında korelasyon izlenmemiştir. CA grubunda PTEN ekspresyon şiddeti ve yaygınlığı ile LVI, tümör grade, TNM durumu arasında korelasyon gözlenmemiştir. Bu bulgular ile literatür bilgileri karşılaştırıldığında, literatürde de çelişkili sonuçların bulunduğu dikkati çekmektedir. PTEN mutasyonunun ileri evre hastalık ve metastaz varlığı ile ilişkili olduğu yanı sıra lokal nüksü öngörmede etkili olduğunu bildiren (178,179) çalışmalar bulunmaktadır. Chen ve ark.nın (177) yaptığı çalışmada PTEN ekspresyonu ile tümör grade’i arasında belirgin bir korelasyon bulunduğu ve PTEN mutasyonunun kolorektal karsinogeneizde geç dönemde etkili olduğu bildirilmiştir. İki ayrı çalışmada ise, PTEN ekspresyonu ile kolorektal karsinoma vakalarındaki klinikopatolojik değişkenler (grade, evre, tümör çapı, LVI, preoperatif serum CEA düzeyleri ve karaciğer metastazı varlığı) arasında ilişki bulunmadığı bildirilmiştir (165,176).

Jang ve ark. nın 19 normal kolon mukozası, 14 adenomatöz polip, 482 kolorektal karsinoma ve 56 metastatik lenf nodülü örneğinden hazırlanan doku mikroyarray bloğu kesitlerinde immünhistokimyasal yöntemle PTEN ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmada (175) normal kolon dokularının tamamında, adenomatöz polip olgularının %85,7, karsinoma olgularının %50, metastatik lenf nodüllerinin ise %46,4’ünde PTEN ekspresyonu gözlendiği bildirilmiş ve PTEN

kaybının MMR defektine bağılı ortaya çıktığı öne sürölmüştür. Aynı çalışmada PTEN kaybının rektal lokalizasyonlu tümörlere oranla kolon lokalizasyonlu tümörlerde daha fazla saptandığı; PTEN ekspresyonu ile hasta yaşı, cinsiyet, tümör çapı, büyüme paterni, grade, invazyon derinliği, lenf nodülü invazyonu, uzak organ metastazı ve tümör evresi arasında korelasyon bulunmadığı bildirilmiştir. Buna karşın, Li ve ark. (180), PTEN ekspresyonu ile klinikopatolojik veriler ve caspase-3 ekspresyonu arasında karşılaştırma yaparak, düşük PTEN ekspresyonu; invazyon derinliği, lenfatik invazyon, lenf nodu metastazı, ileri tümör evresi ve azalmış caspase-3 ekspresyonu arasında korelasyon saptamışlardır. Aynı çalışmada PTEN ekspresyonu bulunmayan hastalarda, ekspresyon gösteren hastalara oranla yaşam süresinin daha kısa olduğu belirtilmiş ve lenfatik invazyon, venöz invazyon ve PTEN ekspresyonunun kolorektal karsinomada bağımsız prognostik faktörler oldukları sonucuna varılmıştır. Literatürde PTEN ekspresyonunun sol kolon yerleşimli tümörlerde sağ kolona oranla, düşük olarak saptandığı bildiren çalışmalar bulunmaktadır (165,181). Çalışmamızda PTEN ekspresyon şiddeti ve yaygınlığı açısından sağ ve sol kolon arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Kullanılan PTEN antikörlerinin çeşitliliği, immünhistokimyasal analizlerde elde edilen sonuçların ve dolayısıyla ekspresyon kaybının yorumlanmasında, literatür bilgilerinin güvenilirliğinin de sorgulanması ve henüz bu konuda kesin değerlendirmelerden kaçınılması gerektiğini düşündürmektedir.

p85 regölatör subunit ve p110 katalitik subunitlerinden meydana gelen heterodimerik “class”I PI3K’ların (152) tümör gelişimi ve progresyonundaki etkilerini AKT üzerinden kontrol ettikleri bilinmektedir (182). AKT kinaz ailesi yapısal olarak homolog olan ve benzer yollarla aktive olan, farklı özelliklere sahip 3 alt tipe sahiptir (AKT1, AKT2, AKT3). Kolon, pankreas, over ve bazı hormon dirençli meme kanserlerinde yüksek AKT ekspresyonu bildirilmiştir (154,181,183). Bunun yanı sıra kolorektal karsinomada AKT fosforilasyonunun hücre çoğalması, apoptoz inhibisyonu, invazyon derinliği, vasküler infiltrasyon, lenf nodu metastazı ve tümör evresi ile korele olduğunu bildiren yayınlar bulunmaktadır (170,184). Yapılan çalışmalarda PI3K/AKT yolunda rol alan elemanların inhibisyonunun yavaşlayan tümör büyüme hızı, artan apoptoz, artan kemoterapi duyarlılığı ve azalmış metastaz kabiliyeti ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (181,185,186). Bu

arayolda, protein translasyonu, büyüme ve anjiyogenezden sorumlu olan, mTOR'un da içinde bulunduğu bir grup hedef molekül AKT tarafından kontrol edilmektedir (187).

AKT çoğu kanserde aktivasyon gösterdiği bilinen ve bu nedenle kanser tedavisinde gelecek vaad eden bir moleküldür (188-190). Bununla birlikte, literatürde, pAKT ekspresyonu ve kanser prognozu ilişkisini araştıran çalışmalarda bildirilen sonuçlar birbirinden farklılık göstermektedir (191-196). pAKT ekspresyonunun kolorektal karsinomada hasta sağkalımı üzerinde etkisinin olmadığını bildiren çalışmalar bulunsun da (136,165,197,198), Baba ve ark.nın (199) 717 kolorektal karsinoma olgusu üzerinde yaptığı çalışmada pAKT ekspresyonunun erken evre hastalık ve iyi prognoz ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Bazı çalışmalarda (136,154) hem kolorektal adenomalar, hem de kolorektal karsinomalarda kuvvetli AKT immün ekspresyonu gözlenmiştir. Bu ekspresyon, kolorektal kanser gelişiminde AKT aktivasyonunun erken dönemde geliştiğini göstermekte ise de, literatürde bu bulgular ile çelişen yayınlar bulunmaktadır (177). Ayrıca, pAKT ekspresyonunu prekanseröz kolon lezyonlarında değerlendiren çalışmalarında örneklem genişliklerinin sınırlı olması, bu çalışmaların sonuçlarının değerlendirmesini güçleştirmektedir. Henderson-Jackson ve ark. 101 kolorektal karsinoma, 8 adenoma, 14 normal kolon mukoza örneği kullanarak yaptıkları çalışmalarında (200) pAKT ekspresyonunu nükleer+sitoplazmik boyanan bazı vakalar haricinde sitoplazmik lokalizasyonda saptadıklarını belirtmişlerdir. Aynı çalışmada normal mukozadan CA'ya doğru gidildikçe pAKT ekspresyonunda artış gözlemlendiği belirtilmiştir. Roy ve ark.nın yaptığı çalışmada (154) normal kolon mukozası ve hiperplastik poliplerde AKT ekspresyonunun izlenmediği, kolorektal karsinoma ve adenomatöz polip olgularında ise %50'den fazla oranda ekspresyon bulunduğu bildirilmiştir. Çolakoğlu ve arkadaşları; 75 kolorektal karsinoma, 25 adenomatöz polip olgusunda (165) karsinoma vakalarında, poliplere göre pAKT ekspresyon oranının daha yüksek olduğunu, kolorektal kanserlerin %30,7'sinde kuvvetli pAKT ekspresyonu bulunduğunu ve ayrıca literatürden farklı olarak adenomatöz poliplerde kuvvetli ekspresyon izlenmediğini bildirmiştir. Aynı çalışmada, pAKT ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, tümör grade'i, LVI durumu, KC

metastazı durumu arasında ilişki saptanmadığı belirtilmiştir. Çalışmamızda ise, CA grubunda izlenen pAKT ekspresyon yüzdesi ve diffüz ekspresyon oranı polip grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Bu bulgunun yanı sıra, “serrated” polip olgularında nükleer boyanma izlenmezken, adenomatöz polip ve CA olgularına doğru gidildikçe, Henderson-Jackson ve ark. ile uyumlu olacak şekilde, anlamlı olarak artan oranda nükleer+sitoplazmik boyanma gözlenmiştir (200). Benzer şekilde, “serrated” polip grubunda boyanma şiddetinin, adenomatöz polip ve CA gruplarına oranla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca polip grubunda çap ve pAKT ekspresyonu açısından pozitif korelasyon bulunduğu gözlenmiş, lokalizasyona göre yapılan değerlendirmede ise, pAKT ekspresyon şiddetinin sol kolon lezyonlarında, sağa göre daha düşük olduğu anlaşılmıştır. Literatürle uyumlu olarak CA grubunda grade, TNM ve LVI durumu ile pAKT ekspresyonu arasında ilişki saptanmamıştır. Sonuçlarımız pAKT ekspresyonunun adenom-karsinom sekansı üzerinden gelişen kolorektal karsinomalarda erken karsinogeneizde etkili olduğu hipotezini desteklemektedir. Buna karşın, AKT’ın “serrated” neoplazi sekansında belirleyici rolünün olmadığı sonucuna varılmıştır.

PI3K/AKT yoluna ait elemanlarda meydana gelen değişiklikler veya mutasyonlar mTOR aktivitesinin artması ile sonuçlanır (201) ve bu değişiklikler artmış protein sentezine bağlı olarak, kontrolsüz hücre çoğalması ve anjiyogenez ile sonuçlanır (202,203). Yapılan çalışmalarda, fosforilasyon yoluyla substratları olan 4E-BP1 ve S6K1 üzerine direk etki eden mTOR’un protein sentezi üzerindeki rolü gösterilmiştir (204). Bu modele göre, mTOR, hücre içi ve hücre dışı ortamda meydana gelen değişikliklere cevap olarak artan protein sentez hızına hücrenin ayak uydurabilmesi için gerekli olan metabolik düzenleyicidir. mTOR, serin/treonin kinaz aktivitesine sahip, iki ayrı fonksiyonel alt yapıdan (mTORC1, mTORC2) meydana gelen bir moleküldür. AKT’ın alt yol molekülü olan mTORC1, 4E-BP1 ile birlikte protein translasyonunu kontrol eden S6K fosforilasyonunu arttırırken (187), mTORC2 ise, AKT’ı serin 473 bölgesinden fosforile ederek AKT aktivitesini düzenler. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, mTOR’un AKT yanı sıra S6 kinaz (S6K) tarafından da düzenlendiği bildirilmektedir (205). Kolorektal karsinoma dokularında artmış ekspresyon gösterdikleri bildirilen (206) mTORC1/mTORC2

proteinleri ve mTOR, kolorektal karsinomanın hedefe yönelik tedavisinde gün geçtikçe daha fazla önem kazanmaktadır. mTOR'un önemi PI3K arayolu ile hücre içine iletilen sinyalin nükleusa geçişinde anahtar molekül olmasından ileri gelmektedir. Büyüme faktörlerinin hücre içine ulaşan sinyallerinin nükleusa ulaşabilmesi mTOR'a bağlıdır (207). Hücre siklusunun ilerlemesi, translasyonun başlaması, protein stabilitesi ve hücre yaşamının sürdürülmesi gibi hayati fonksiyonları devam ettirebilmesi için, PI3K ve MAPK arayollarının birbirleriyle paslaşarak mTOR'a ilettikleri sinyallerin, 4EBP1 ve S6K1 üzerinden nükleusa iletilmesi gerekmektedir (207).

Literatürde, tedavi almamış olgularda mTOR ekspresyonunu bildiren çok az sayıda yayın bulunmaktadır. Zhang ve ark.nın 50 kolon CA, 50 tümörsüz kolon dokusu kullanarak mTOR ekspresyonunu araştırdıkları çalışmalarında (208) kontrol dokularına oranla CA dokularında mTOR ekspresyonunun arttığı ve bu artışın lenf nodu metastazı ve tümör grade'i ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir.

Altmış yüksek ve düşük dereceli displazi gösteren kolorektal adenomatöz polip, 60 normal mukoza örneği ve 56 kolorektal karsinoma vakası kullanılarak yapılan bir başka çalışmada ise p-mTOR (Ser2448), p-4EBP1 ve p-p70S6 ekspresyonları araştırılmış (209) ve mTOR ekspresyonun sitoplazmik lokalizasyonda izlendiği belirtilmiştir. Söz konusu çalışmada düşük derece displazili adenomatöz poliplerde normal mukozaya oranla ekspresyon farkı bulunmazken; yüksek dereceli displazi gösteren adenomatöz poliplerde normal mukozaya oranla mTOR sinyalinin belirgin olarak artmış olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada, kolorektal karsinomalarda yüksek derece displazili adenomatöz poliplere benzer şekilde belirgin artmış kuvvetli mTOR ekspresyonu saptanmış, ancak, sitoplazmik mTOR ekspresyonu gösteren adenomatöz poliplerden farklı olarak kolorektal karsinomalarda ekspresyonun hücre membranına doğru yer değiştirdiği bildirilmiştir. Zhang ve ark.nın aksine, bizim çalışmamızda mTOR ekspresyonu tüm vakalarda sitoplazmik lokalizasyonda izlenmiştir ve mTOR ekspresyonu polip ile CA grubu arasında değişkenlik göstermemiş, ancak SP grubundan AP grubuna doğru gidildikçe mTOR ekspresyonunun arttığı ve ayrıca polip grubunda displazi varlığı ile mTOR ekspresyonunun pozitif korelasyon gösterdiği gözlenmiştir. AP grubunda izlenen

ekspresyon oranını polip alt tipleri bazında değerlendirdiğimizde, TA'dan VA'ya doğru gidildikçe artan ekspresyonun da, artan displazi derecesinin varlığıyla açıklanabileceği düşünülmüştür. Zhang ve ark. (209) mTOR ekspresyonunu klinikopatolojik verilerle de (yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, histolojik grade, lenf nodu metastazı, tümör invazyon derinliği) karşılaştırmış ve tümör invazyon derinliği ile mTOR ekspresyonu arasında pozitif korelasyon bulduklarını belirtmiştir. Buna karşın, çalışmamızda, tümörlerde mTOR ekspresyonu ve LVI, grade, TNM arasında ve kolondaki lokalizasyon durumu açısından herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Bu sonuçlara göre, mTOR, serrated neoplazi sekansının öncü lezyonları olan serrated poliplerde adenomatöz sekansın öncü lezyonlarına göre ve genel olarak karsinomlara göre daha düşük düzeyde etkili bir molekül izlenimi vermektedir. Kolorektal karsinogenez açısından ise, ileri dönemde etkin olduğu ve adenomlarda da progresyonu belirlemesi açısından önemli olduğu anlaşılmıştır.

Aynı arayola ait diğer belirteçlerle karşılaştırıldığında, çalışmamızda AP alt tiplerinde PI3K ve mTOR ekspresyon oranı dağılımlarının benzer olması ve pAKT ile mTOR'un, TVA ve VA'larda yüksek ekspresyon göstermesi, PI3K ve pAKT'ta olduğu gibi adenomatöz polip zemininde gelişen kolorektal karsinomalarda mTOR'un da erken dönemde ekspresyon değişikliği göstermesi bu arayoldaki moleküllerin ortak olarak erken karsinogenetik etkilerini ortaya koyması açısından önemlidir. Sonuçlarımızın, PI3K arayolu aktivasyonunun SP'den çok, AP ve CA'ya doğru arttığını göstermesi, mevcut az sayıdaki literatür bilgilerini destekleyebilecek niteliktedir. Johnson ve ark.nın yaptığı çalışmada (158) tümörsüz kolon dokuları arasında Akt2, p-mTOR(Ser2448), p-S6K, Akt1 şiddetlerinin de ileri evre tümörlü hastalardan alınan örneklerde, erken evre tümörlü hastalardan alınan dokulara oranla daha yüksek olduğu saptanırken, tümör dokularında p85α dışındaki antikolar ile benzer korelasyonun görülmediği öne sürülmüştür. Bu durum, neoplastik doku komşuluğunda yer alan, morfolojik olarak normal görünüme sahip fakat aslında kanser hücrelerinde bulunan moleküler değişikliklerin bazılarını bulunduran prekanseröz hücrelerin varlığına bağlanmış (saha etkisi) (158,210) ve sorumlu olarak, mukoza epitelinde PI3K/AKT/mTOR arayolundaki malign transformasyonun, karakteristik neoplastik değişiklikler ortaya çıkmadan çok daha önce meydana gelmiş olma olasılığı öne sürülmüştür.

PI3K/AKT/mTOR arayoluna bir bütün olarak baktığımızda çalışmamızda vardığımız sonuçlar, PI3K/AKT arayolunda meydana gelen değişikliklerin artmış mTOR ekspresyonuna yol açtığını, literatürle uyumlu olacak şekilde (201) göstermektedir. Birbiri ile korelasyon gösteren bu değişikliklerin, SP alt tiplerinden daha çok AP alt tiplerini takip ederek CA'ya doğru ilerlemeleri de bizi, KRAS mutasyonu bulundurmeyen konvansiyonel kolon karsinomalarında, KRAS mutasyonu bulunduran tümörlere paralel şekilde gözlenebilen anti-EGFR tedavi direncinde başvurulabilecek alternatif yolun, PI3K arayoluna ait bu moleküler değişiklikler üzerinden bulunabileceği sonucuna yöneltmektedir. Sonuçlarımız, bu hastalarda, PI3K arayolunda yer alan söz konusu moleküllerin tedavi seçiminde kullanılması olasılığını güçlendirmektedir. MAPK arayoluna baktığımızda ise, elde edilen sonuçlar yol göstericilik açısından yetersiz kalmaktadır. Bu arayola ait çalışmaların moleküler yöntemlere dayanması, immünohistokimyasal ekspresyonları değerlendiren kısıtlı sayıda literatür bulunması, yeterli yorum yapmayı güçleştirmektedir. İki arayolun karşılıklı sürekli etkileşim içinde olması ve “feedback” mekanizmaların aktif olarak çalışması da sonuçların değerlendirilmesinde güçlük yaratmaktadır.

Adenomatöz ve serrated neoplazi sekansları açısından sonuçlarımızı değerlendirdiğimizde, MAPK arayolu moleküllerinden, MEK1 ve daha belirgin olarak ERK2 ekspresyonu her iki sekansta erken dönemdeki ekspresyonu daha yüksek iken, karsinomlarda azalma göstermiştir. ERK1 her iki sekansta da belirgin değişme göstermeksizin eksprese olmuştur. PI3K arayolunda ise, PI3K serrated sekansta minimal varyasyon gösterirken, adenomatöz sekansta ise ekspresyon düzeyi sekans boyunca değişmeden aynı düzeyde seyretmiştir. PTEN ekspresyonu serrated sekansta progresyonla negatif korele şekilde azalmış, adenomatöz sekansta ise değişmemiştir. pAKT ekspresyonu hem serrated sekansta hem de adenomatöz sekansta progresyonla uyumlu şekilde yükselme göstermiştir. mTOR her iki sekansta da erken lezyonlarda yüksek ekspresyonuna karşın, neoplastik uçta belirgin azalma göstermiştir. Bu sonuçlar, RAS sinyal iletimi açısından adenomatöz sekans ile serrated neoplazi sekansı arasında belirgin bir fark bulunmadığını ortaya koyan tek çalışmaya ait olmaları açısından önemli olmakla birlikte, moleküler yöntemlerin kullanıldığı çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Sporadik kolorektal karsinomanın öncü lezyonları olan adenomatöz ve “serrated” poliplerin moleküler özellikleri ve bu moleküler özelliklerin karsinogenezdeki öneminin bilinmesi ile öncü lezyonların karsinoma gelişim sürecindeki yerleri ve invaziv karsinomaya yol açma potansiyelleri daha iyi anlaşılacak ve kolorektal karsinoma erken tanı ve tedavisinde önemli gelişmeler sağlanabilecektir. Çalışmamızda incelenen tüm moleküllerin kolorektal karsinoma ile ilişkisi literatür bilgileri ile de karşılaştırılarak ortaya konulmaya çalışılmıştır. Sonuç olarak elde ettiğimiz bulgularla incelenen moleküllerin kolorektal karsinoma ile ilişkili olduğu görülmektedir. Ancak, günümüze kadar yapılan çalışmalarla bu moleküllerin kolorektal karsinogenezde erken ya da geç dönem ile ilişkileri, klinikopatolojik değişkenler üzerindeki etkileri konusunda net sonuçlar elde edilememiştir. Bunun en temel nedeni, kolorektal karsinogenez tartışmasına görece yeni katılan, tanım ve klasifikasyonları son yıllarda standardize edilmiş olan serrated polipler ve serrated neoplazi sekansının, literatürdeki açılışmalarda henüz tam olarak yer almamış olmasıdır. Çalışmamız bu nedenle de literatüre önemli bir katkı sağlamaya adaydır; klasik adenoma-karsinoma sekansı yanı sıra serrated polip-neoplazi sekansı da standard tanım, terminoloji ve klasifikasyon kullanılarak geniş bir seride değerlendirilmiştir. Aynı zamanda, kolorektal karsinogenezde etkili olan RAS arayolunun alt yollarının birbirleri ile ilişkisinin değerlendirildiği çalışmaların da yetersiz olması çalışmamızın önemini arttırmaktadır. Bu çalışmanın ışığında, kolorektal karsinogenez modelinde özellikle moleküler düzeyde yapılacak çalışmalarla, MAPK-PI3K arayollarının ilişkilerinin aydınlatılması, moleküler patogenezin daha iyi anlaşılmasına ve hedefe yönelik tedavi seçeneklerinin çoğaltılmasına katkı sağlayacaktır.

Anabilim Dalı’ımızda bu güne kadar kolorektal karsinogenezle ilgili olarak; kolorektal adenomatöz polipler ve adenokarsinom odağı içeren adenom olgularında angiogenez, müsin antijen ekspresyonları, β -catenin arayolu ile ilgili çalışmalar yapılmış ve karsinogenetik basamaklardaki farklılıklar değerlendirilmiştir. Bu çalışmaların devamı olarak doku “array” yönteminin kullanılarak adenoma zemininde karsinom gelişimi ve progresyonunda APC/ β -catenin arayolu, TGF- β /Smad arayolu, matrix metalloproteinazlar ve doku inhibitörlerinin rolü ve ilişkisi de değerlendirilmiştir. Son olarak ise, yine aynı grup öncü lezyonlar ve tümörlerde

KRAS ve BRAF mutasyonları değerlendirilmiştir. Tüm bu çalışmaların bir devamı niteliği taşıyan bu tez çalışmasında, RAS aracılı sinyal arayollarının karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi, adenomatöz ve serrated neoplastik sekanslarının geniş bir olgu serisiyle irdelenmesi ve sonuçların literatür eşliğinde tartışılması gerçekleştirilmiştir.

6. SONUÇLAR

- Çalışmamızda kolorektal karsinogeneizde önemli rol oynayan MAPK ve PI3K arayollarını değerlendirmek amacıyla 19 TA, 24 TVA, 24 VA, 24 HP, 14 SSA, 13 KSA, 29 KonCA, 26 MüsCA olgusunda MEK1, ERK1, ERK2, PTEN, PI3K, pAKT ve mTOR, ekspresyonları araştırılmıştır.
- Olguların %31,8'i kadın ve %68,2'si erkektir.
- Olguların yaş ortalaması $57,83 \pm 12,121$ olarak hesaplanmıştır.
- Çalışmamızda polip grubu yaş ortalaması konCA grubundan düşüktür.
- En genç hastalar hiperplastik polip grubundadır.
- Tüm olguların çoğunluğu (%61,3) sol kolon yerleşimlidir.
- Ortalama çap HP grubundan SSA, KSA, TA, TVA, VA ve CA grubuna doğru gittikçe artmaktadır.
- “Serrated” polipler ile karşılaştırıldığında adenomatöz poliplerde displazi oranı fazladır.
- MEK1 ile, CA grubunda, polip grubuna oranla diffüz ve şiddetli ekspresyon oranının yüksek, sitoplazmik boyanma oranının düşük olduğu saptanmıştır.
- Poliplerde ERK1 ekspresyon şiddeti CA grubuna oranla yüksektir.
- ERK1 ekspresyonu poliplerde nükleus ve sitoplazmada, CA grubunda sitoplazmik lokalizasyonda izlenmiştir. Bu fark serrated sekansta daha belirgin olarak izlenmiştir.
- Poliplerde ERK2 ekspresyonu, CA grubuna göre yüksektir. Bu oran adenomatöz sekansta daha belirgindir.
- AP grubunda konCA, müsCA ve SP'ye oranla ERK2 ekspresyon şiddeti yüksektir.
- ERK2 ile AP grubunda, konCA, müsCA ve SP'ye oranla N+S boyanma oranı yüksektir.
- PI3K ile olgu grupları arasında ekspresyon şiddeti oranları ve ortalamaları anlamlı fark göstermemiştir.

- PI3K ekspresyonu, ekspresyon gösteren tüm olgularda diffüz karakterde izlenmiştir.
- PI3K ekspresyonu AP grubunda sitoplazmik, SP grubunda nükleer baskın karakterdedir.
- HP ve SSA grubunda PI3K diffüz ekspresyon oranı TA, TVA, VA ve KSA gruplarına göre fazladır.
- SP grubunda HP'den KSA'ya doğru PTEN ekspresyon şiddeti artmaktadır.
- Nükleer PTEN ekspresyonu en sık HP (%91,7) ve KSA (%91,7) grubu poliplerde; en az ise TVA (%58,3) grubu poliplerde izlenmiştir.
- pAKT ekspresyon oranı, şiddeti ve nükleer ve sitoplazmik boyanma oranı CA grubunda poliplere oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir. Bu fark SP grubunda daha belirgindir.
- pAKT sitoplazmik ekspresyonu SP-AP-MüsCA-KonCA sırasını takip ederek azalmaktadır.
- pAKT ekspresyonu CA grubunda, poliplere oranla daha fazla oranda diffüz ekspresyon göstermektedir. Bu fark SP grubunda daha belirgindir.
- AP grubunda mTOR ekspresyon oranı SP ve konCA'ya göre yüksek bulunmuştur. mTOR diffüz ekspresyon oranı ise CA grubundan sırasıyla AP ve SP'ye doğru gidildikçe azalmaktadır.
- AP grubuna ait ortalama mTOR ekspresyon şiddeti SP grubuna oranla anlamlı derecede yüksektir.
- Polip grubunda çap arttıkça MEK1, ERK1, ERK2, pAKT ve mTOR ekspresyon şiddeti artmaktadır.
- ERK1, ERK2 ve mTOR ekspresyon şiddetleri displazi gösteren poliplerde displazi göstermeyen poliplere oranla daha yüksektir.
- Sol kolon lezyonlarında ERK2 ve pAKT ekspresyon şiddeti sağ kolona göre yüksektir.
- PI3K serrated sekansta minimal varyasyon gösterirken, adenomatöz sekansta ise ekspresyon düzeyi sekans boyunca değişmeden aynı düzeyde seyretmiştir.
- PTEN ekspresyonu serrated sekansta progresyonla negatif korele şekilde azalmış, adenomatöz sekansta ise değişmemiştir.

- pAKT ekspresyonu hem serrated sekansta hem de adenomatöz sekansta progresyonla uyumlu şekilde yükselme göstermiştir.
- mTOR her iki sekansta da erken lezyonlarda yüksek ekspresyonuna karşın, neoplastik uçta belirgin azalma göstermiştir.
- MEK1 her iki sekansta erken dönemdeki ekspresyonu daha yüksek iken, karsinomlarda azalma göstermiştir.
- ERK1 her iki sekansta da belirgin değişme göstermeksizin eksprese olmuştur.
- ERK2 her iki sekansta erken lezyonlarda artmış ekspresyonuna karşın, neoplastik progresyonla negatif korele şekilde karsinomlarda belirgin azalma göstermiştir.

ÖZET

SPORADİK KOLOREKTAL KANSER VE PREKÜRSÖR LEZYONLARDA RAS ARAYOLUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Kolorektal karsinomada son yıllarda özellikle metastatik hastalıkta hedefe yönelik anti-EGFR tedavinin tümör tedavisinde ve prognostik değerlendirmelerde giderek yaygınlaştığı düşünüldüğünde, kolorektal karsinomalarda da tedavi seçimini belirleyecek moleküler belirteçlerin kullanımı ve olguların buna göre klasifikasyonu son derece önemli ve gereklidir. Hedefe yönelik tedavide kullanılabilecek kısıtlı sayıda terapötik ajana karşı tümör direnci gelişimi ve bu ajanlarla uygulanan tedavi maliyetinin yüksek oluşu hedefe yönelik tedavide yeni moleküler hedeflerin bulunmasını zorunlu kılmaktadır. RAS-RAF-MAPK ve PI3K-AKT-mTOR arayolunda rol oynayan moleküller son yıllarda anti-kanser tedavilerinin potansiyel hedefleri konumunu almaktadırlar. Bu nedenle, özellikle MAPK arayolu ile PI3K arayoluna ait moleküller ve bunlar arasındaki ilişkinin ortaya konması hastanın tedavi gereksinimini belirlemede yardımcı olacaktır. Çalışmamızda kolorektal karsinogeneizde önemli rol oynayan RAS sinyal iletiminde yer alan, MAPK arayolu ile PI3K arayolunu değerlendirmek amacıyla doku "array" tekniği ve immunhistokimyasal yöntem ile toplam 55 kolorektal karsinoma, 118 kolorektal polip olgusunda PTEN, PI3K, pAKT, mTOR, MEK1, ERK1 ve ERK2 ekspresyonu araştırılmıştır. PTEN ekspresyon özellikleri açısından olgu grupları arasında anlamlı fark izlenmemiştir. PI3K ekspresyonu, tüm olgularda diffüz karakterde izlenmiştir. PI3K ile olgu grupları arasında ekspresyon şiddeti ortalamaları anlamlı fark göstermemiştir. Sitoplazmik PI3K ekspresyonu en yüksek AP grubunda, nükleer PI3K ekspresyonu en yüksek SP grubunda izlenmiş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). pAKT ekspresyon oranı ve şiddetinin SP grubundan sırasıyla AP ve CA grubuna doğru gidildikçe arttığı gözlenmiştir. Poliplerde çap ve pAKT ekspresyonu arasında korelasyon izlenmiştir. mTOR ekspresyonunun adenom-karsinoma sekansına ait öncü lezyonlarda tümörlere oranla daha yüksek

olduğu ve polip çapı arttıkça mTOR ekspresyon şiddetinin arttđđı gözlenmiştir. MEK1 ile yapılan incelemede CA grubunda, polip grubuna oranla, ERK1 ve ERK2 ile yapılan incelemede polip grubunda CA grubuna oranla ekspresyon şiddetinin yüksek olduğu bulunmuştur. ERK1 ve ERK2nin de kolorektal karsinogeneizde erken değişiklik gösteren moleküller olduğu sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak pAKT, mTOR, MEK1, ERK1 ve ERK2'nin özellikle adenomatöz polipler üzerinden gelişen erken karsinogeneiz basamaklarında etkili olduğu dşnlmştir. Çalışmamız, “serrated” ve adenomatöz karsinoma sekansının tüm ara lezyonlarını uygun sayıdaki örneklerle temsil edecek şekilde planlanmış olması nedeniyle, sonularımızın zellikle PI3K-AKT ile MAPK arayolları ve bu arayolların birbirleri ile ilişkisi açısından literatre katkıda bulunacağına inanmaktayız.

Anahtar Szckler: Kolorektal karsinogeneiz, RAS/MAPK arayolu, PI3K/AKT arayolu

SUMMARY

The significance of RAS dependent pathways in colorectal carcinoma and its precursors

In recent years, for metastatic disease, in particular, targeted anti-EGFR therapy is becoming the treatment of choice for colorectal carcinoma. It is crucial to determine the appropriate molecular markers and to select the patients for therapy to achieve the best result. Tumor resistance to the limited targeted therapy agents and the low cost-effectivitiy increase the need to find new molecular targets for therapy. PI3K/AKT/mTOR and MAPK pathway molecules are the most frequently studied potential agents for targeted therapy. In our study, a large series of cases grouped according to the polyp-carcinoma sequence were analysed for molecules involved in MAPK and PI3K pathways using tissue array and immunohistochemistry in order to evaluate their role in the sequence. Our results showed that MEK1 expression was higher in carcinomas compared to polyps in contrast to ERK1 and ERK2. pAKT expression significantly decreased from carcinomas to adenomatous polyps and serrated polyps. There was a significant correlation between the increased expression of AKT and the size of polyps. mTOR expression was higher in adenomatous polyps than in carcinomas and the expression levels increased with the size of polyps.

In conclusion, our results suggest that, pAKT, mTOR, MEK1, ERK1 and ERK2 seem to take place in the early stages of colorectal carcinogenesis. These results may have an important impact on the current literature since our study was designed so that both adenomatous and serrated neoplastic sequences were represented by large numbers of cases allowing a thorough evaluation.

Key words: Colorectal carcinogenesis, RAS/MAPK pathway, PI3K/AKT pathway

7. KAYNAKLAR

1. Boyle, P ve Levin, B. World Cancer Report. Lyon : IARC, 2008.
2. Ferlay, J, et al. Cancer İncidence, Mortality and Prevalence Worldwide. Lyon : IARC Cancer Base No.5, 2002.
3. Stang, A ve Kluttig, A. Etiologic insights from surface adjustment of colorectal carcinoma incidenses: an analysis U.S. SEER data 2000-2004. 2008, Am J Gastroenterol, s. 2853-2861.
4. Hamilton, SR, et al. Carcinoma of colon and rectum. [yazan] FT Bosman, et al. WHO Classification of tumors of the digestive system. Lyon : IARC, 2010, s. 134-146.
5. Turner, J. The Gastrointestinal tract. [yazan] V Kumar, et al. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Philadelphia : Saunders Elsevier, 2010, s. 818-823.
6. Redston, M. Epithelial Neoplasms of the Large İntestine. [yazan] RD Odze ve JR Goldblum. Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas. Philadelphia : Saunders Elsevier, 2009, s. 597-637.
7. Alberts, DS, et al. Lack of effect of a high-fiber cereal supplement on the recurrence of colorectal adenomas. Phoenix Colon Cancer Prevention Phisicians' Network. . 2000, N Eng J Med, s. 1156-1162.
8. Konda, A ve Duffy, MC. Survelliance of patients at increased risk of colon cancer: inflammatory bowel disease and other conditions. 2008, Gastroenterol Clin North Am, s. 191-213.
9. Triantafillidis, JK, Nasioulas, G ve Kosmidis, PA. Colorectal cancer and inflammatory bowel disease: epidemiology, risk factors, mechanisms of carcinogenesis and prevention strategies. 2009, Anticancer Res, s. 2727-2737.

10. Ahmadi, A, Polyak, S ve Draganov, PV. Colorectal cancer surveillance in inflammatory bowel disease: the search continues. 2009, World J Gastroenterol, s. 61-66.
11. Hemminki, K, et al. Cancer risks in ulcerative colitis patients. 2008, Int J Cancer, s. 1417-1421.
12. Zisman, TL ve Rubin, DT. DNA methylation in colorectal cancer-impact on screening and therapy monitoring modalities? 2007, Dis Markers, s. 51-71.
13. Ekblom, A, et al. Survival and causes of death in patients with inflammatory bowel disease: a population based study. 1992, Gastroenterology, s. 954-960.
14. Mellemkjaer, L, et al. Cancer in patients with ulcerative colitis. 1995, Int J Cancer, s. 330-333.
15. Persson, PG, et al. Survival and cause specific mortality in inflammatory bowel disease: a population based cohort study. 1996, Gastroenterology, s. 1339-1345.
16. Kvist, N, et al. Malignancy in ulcerative colitis. 1989, Scand J Gastroenterol, s. 497-506.
17. Gyde, SN, et al. Colorectal cancer in ulcerative colitis: a cohort study of primary referrals from three centres. 1988, Gut, s. 206-217.
18. Lennard-Jones, JE, et al. Precancer and cancer in extensive ulcerative colitis: findings among 401 patients over 22 years. . 1990, Gut, s. 800-806.
19. Shellon, AA, et al. Retrospective review of colorectal cancer in ulcerative colitis at a tertiary center. 1996, Arch Surg, s. 806-810.
20. Chambers, WM, et al. Cancer surveillance in ulcerative colitis. 2005, Br J Surg, s. 928-936.
21. Loddenkemper, C. Diagnostic standards in the pathology of inflammatory bowel disease. 2009, Dig Dis, s. 576-583.

22. Loffeld, RJ. Colorectal adenomas in patients presenting with inflammatory bowel disease. 2009, *Nelh J Med*, s. 21-24.
23. van Schaik, FD, et al. Endoscopic and pathological aspects of colitis-associated dysplasia. 2009, *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, s. 671-678.
24. Freeman, HJ. Colorectal cancer risk in Chrohn's disease. 2008, *World J Gastroenterol*, s. 1810-1811.
25. Gillen, CD, et al. Ulcerative colitis and Crohn's disease : a comparison of the colorectal cancer risk in extensive colitis. 1994, *Gut*, s. 1590-1592.
26. Sigel, JE, et al. Intestinal adenocarcinoma in Chrohn's disease: a report of 30 cases with a focus on coexisting dysplasia. 1999, *Am J Surg Pathol*, s. 651-655.
27. Gobet, R. Alternative management of bladder exstrophy. 2009, *Curr Opin Urol*, s. 424-426.
28. Rapiti, E, et al. Increased risk of colon cancer after external radiation therapy for prostate cancer. 2008, *Int J Cancer*, s. 1141-1145.
29. Morson, BC. Precancerous lesions of the colon and rectum. Classification and controversial issues. 1962, *JAMA*, s. 316-321.
30. Vogelstein, B, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. . 1988, *N. Engl. J. Med.* , s. 525-532.
31. Torlakoviç, E, Skovlund, E ve Snover, DC et al. Morphologic reappraisal of serrated colorectal polyps. *Am J Surg Pathol*. 2003, s. 65-81.
32. Snover, DC, et al. Serrated polyps of the colon and rectum and serrated "(hyperplastic") polyposis. [yazan] FT Bosman, et al. WHO classification of tumours, Pathology and genetics. Tumour of the digestive system. Lyon : IARC, 2010, s. 160-165.
33. Gupta, AK ve Schoen, RE. Aberrant crypt foci: are they intermediate endpoints of colon carcinogenesis in humans? . 2009, *Curr Opin Gastroenterol*, s. 59-65.

34. Lance, P ve Hamilton, SR. Sporadic aberrant crypt foci are not surrogate endpoint for colorectal adenoma prevention. 2008, *Cancer Prev Res*, s. 4-8.
35. Heitman, SJ, et al. Prevalence of adenomas and colorectal cancer in average risk individuals: A systematic review and meta-analysis. 2009, *Clin Gastroenterol Hepatol*, s. 1272-1278.
36. Ensari, A, Bosman, FT ve Offerhaus, GJA. The serrated polyp: getting it right! *J Clin Pathol*. Ağustos 2010, s. 665-668.
37. Longacre, TA, Fenoglio-Preiser, CM. Mixed hyperplastic adenomatous polyps/serrated adenomas. A distinct form of colorectal neoplasia. *Am J Surg Pathol*. 1990, s. 524-537.
38. Torlakovic, E ve Snover, DC. Serrated adenomatous polyposis in humans. 1996, *Gastroenterology*, s. 748-755.
39. Snover, DC. Update on the serrated pathway to colorectal carcinoma. 2011, *Human Pathology*, s. 1-10.
40. O'Brien, MJ, et al. Comparison of microsatellite instability, CpG island phenotype, BRAF ve KRAS status in serrated polyps and traditional adenomas indicates separate pathways to distinct colorectal carcinoma end points. 2006, *Am J Surg Pathol*, s. 1491-1501.
41. Snover, DC, et al. Serrated polyps of the large intestine: a morphologic and molecular review of an evolving concept. 2005, *Am J Clin Pathol*, s. 380-391.
42. Snover, DC. Serrated polyps of the large intestine. 2005, *Semin Diagn Pathol*, s. 301-308.
43. East, JE, Saunders, BP ve Jass, JR. Sporadic and syndromic hyperplastic polyps and serrated adenomas of the colon: classification, molecular genetics, natural history and clinical management. 2008, *Gastroenterol Clin North Am*, s. 25-46.

44. Torlakovic, E, Gomez, JD ve Driman, DK et al. Sessile serrated adenoma (SSA) vs. traditional serrated adenoma (TSA). 2008, *Am J Surg Pathol*, s. 21-29.
45. Hyman, NH, Anderson, P ve Blasyk, H. Hyperplastic polyposis and the risk of colorectal cancer. 2004, *Dis Colon Rectum*, s. 2101-2104.
46. Ferrandez, A, et al. Phenotypic characteristics and risk of cancer development in hyperplastic polyposis: case series and literature review. 2004, *Am J Gastroenterol*, s. 2012-2018.
47. Rubio, CA, et al. Hyperplastic polyposis coli syndrome and colorectal carcinoma. 2006, *Endoscopy*, s. 266-270.
48. Spring, KJ, et al. High prevalence of sessile serrated adenomas with BRAF mutations: a prospective study of patients undergoing colonoscopy 2006, *Gastroenterology*, s. 1400-1407.
49. Cunningham, KS ve Riddel, RH. Serrated mucosal lesions of the colorectum. 2006, *Curr Opin Gastroenterol*, s. 48-53.
50. Noffsinger, AE. Serrated polyps and colorectal cancer: new pathway to malignancy. *Annu Rev Pathol*. 2009, s. 343-364.
51. Vakiani, E ve Yantiss, RK. Pathologic features and biologic importance of colorectal serrated polyps. *Adv Anat Pathol*. 2009, s. 79-91.
52. De novo crypt formation and juvenile polyposis on BMP inhibition in mouse intestine. Haramis, AP, Begthel, H, van der Barn, M ve al., et. 2004, *Science*, s. 1684-1686.
53. Higuchi, T, Sugihara, K ve Jass, JR. Demographic and pathological characteristics of serrated polyps of colorectum. 2005, *Histopathology*, s. 32-40.
54. Kokko, A, et al. EPHB2 germline variants in patients with colorectal cancer or hyperplastic polyposis. 2006, *BMC Cancer*, s. 145-151.

55. Sheridan, TB, et al. Sessile serrated adenomas with low and high-grade dysplasia and early carcinomas: an immunohistochemical study of serrated lesions "caught in the act". 2006, Am J Clin Pathol, s. 564-571.
56. Goldstein, NS. Small colonic microsatellite unstable adenocarcinomas and high-grade epithelial dysplasias in sessile serrated adenoma polypectomy specimens: a study of eight cases. 2006, Am J Clin Pathol, s. 132-145.
57. Loeb, LA et al Multiple mutations and cancer.. 2003, Proc Natl Acad Sci USA, s. 776-.
58. Cho, KR ve Vogelstein, B.Genetic alterations in the adenoma carcinoma sequence. 1990, Cancer, s. 1727-1731.
59. Grady, WM ve Carethers, JM. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. 2008, Gastroenterology, s. 1079-1099.
60. Boland, CR, Thibodeau, SN ve Hamilton, SR et al.Institute workshop on microsatellite instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. 1998, Cancer Res., s. 5248-5257.
61. Costedio, M ve Church, J. Pathways of Carcinogenesis Are Reflected in Patterns of Polyp Pathology in Patients Screened for Colorectal Cancer. 2011, Dis Colon Rectum, s. 1224-1228.
62. Chan, AO, et al. Differing DNA methylation patterns and gene mutation frequencies in colorectal carcinomas from Middle Eastern countries. 2005, Clin Cancer Res, s. 8281-8287.
63. Hamelin, R, et al. Clinical and molecular consequences of microsatellite instability in human cancers. 2008, Bull Cancer, s. 121-132.
64. Toyota, M, et al. Distinct genetic profiles in colorectal tumors with or without the CpG island methylator phenotype. 2000, Proc Natl Acad Sci USA , s. 710-715.

65. Powell, SM, Zitz, N ve Beazer-Barclay, Y et al. APC mutations occur early during colorectal carcinogenesis. 1992, Nature, s. 235-237.
66. V Kumar, AK Abbas ve N Fausto. The Gastrointestinal Tract. [yazan] Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Philadelphia : Elsevier Saunders, 2008.
67. Bellizzi, AM ve Frankel, WL Colorectal cancer due to deficiency in DNA mismatch repair function: a review.. 2009, Adv Anat Pathol, s. 405-417.
68. Imai, K ve Yamamoto, H. Carcinogenesis and microsatellite instability: the interrelationship between genetics and epigenetics. 2008, Carcinogenesis, s. 673-680.
69. Sinn, DH, et al. Effectiveness of each Bethesda marker in defining microsatellite instability when screening for Lynch Syndrome. 2009, Hepatogastroenterology, s. 672-676.
70. Gatalica, Z ve Torlakovic, E. Pathology of the hereditary colorectal carcinoma. 2008, Fam Cancer, s. 15-26.
71. Jenkins, MA, et al. Pathology features in Bethesda guidelines predict colorectal cancer microsatellite instability: a population based study. 2007, Gastroenterology, s. 48-56.
72. Des, GG, et al. Does microsatellite instability predict the efficacy of adjuvant chemotherapy in colorectal cancer? A systematic review with meta-analysis. 2009, Eur J Cancer, s. 1890-1896.
73. Sinicrope, FA ve Sargent, DJ. Clinical implications of microsatellite instability in sporadic colon cancers. 2009, Curr Opin Oncol, s. 369-373.
74. Bertagnolli, MM, et al. Microsatellite instability predicts improved response to adjuvant therapy with irinotecan, fluorouracil, and leucovorin in stage III colon cancer: Cancer and Leukemia Group B Protocol 89803. 2009, J Clin Oncol, s. 1814-1821.

75. Perea, J, Lomas, M ve Hidalgo, M. Molecular basis of colorectal cancer: Towards an individualized management? 2011, REV ESP ENFERM DIG, s. 29-35.
76. Blume-Jensen, P ve Hunter, T Oncogenic kinase signaling. Oncogenic kinase signaling. Nature. 2001, Nature, s. 355-364.
77. Pawson, T. Regulation and targets of receptor tyrosine kinases. 2002, Eur J Cancer, s. 3-10.
78. Chappell, WH, et al. Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR inhibitors: rationale and importance to inhibiting these pathways in human health. 2011, Oncotarget, s. 135-164.
79. Grandal, MV ve Madhus, IH. Epidermal growth factor receptor and cancer: control of oncogenic signalling by endocytosis. 2008, J Cell Mol Med, s. 1527-1534.
80. Sheng, H, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase mediates proliferative signals in intestinal epithelial cells. 2003, Gut, s. 1472-1478.
81. Busse, D, et al. Reversible G(1) arrest induced by inhibition of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase requires up-regulation of p27(KIP1) independent of MAPK activity. 2000, J Biol Chem, s. 6987-6995.
82. Fransen, K, et al. Mutation analysis of the BRAF, ARAF and RAF-1 genes in human colorectal adenocarcinomas. 2004, Carcinogenesis, s. 527-533.
83. Silvetris, N, et al. The Dark Side of the Moon: The PI3K/PTEN/AKT Pathway in Colorectal Carcinoma. 2009, Oncology, s. 69-74.
84. Ekstrand, AI, et al. Frequent alterations of the PI3K/AKT/mTOR pathways in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. 2010, Familial Cancer, s. 125-129.
85. Pretlow, TP ve Pretlow, TG. Mutant KRAS in aberrant crypt foci (ACF): initiation of colorectal cancer? 2005, Biochim. Biophys. Acta, s. 83-96.

86. Chan, TL, et al. BRAF and KRAS mutations in colorectal hyperplastic polyps and serrated adenomas. 2003, *Cancer Res.*, s. 4878-4881.
87. Haigis, KM, et al. Differential effects of oncogenic K-Ras and N-Ras on proliferation, differentiation and tumor progression in the colon. 2008, *Nat Genet*, s. 600-608.
88. Smakman, N, et al. Control of colorectal metastasis formation by K-Ras. 2005, *Biochim Biophys Acta*, s. 103-114.
89. Rajagopalan, H, et al. Tumorigenesis:RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. . 2002, *Nature*, s. 934.
90. Tannapfel, A, et al. The Origins of Colorectal Carcinoma. 2010, *Dtsch Arzteblatt International*, s. 760-766.
91. De Roock, W, et al. KRAS, BRAF, PIK3CA, and PTEN mutations: implications for targeted therapies in metastatic colorectal cancer. 2011, *Lancet Oncol*, s. 594–603.
92. Alessi, DR, et al. Identification of the sites in MAP kinase kinase-1 phosphorylated by p74raf-1. 1994, *EMBO J*, s. 1610-1619.
93. Steelman, LS, et al. JAK/STAT, Raf/MEK/ERK, PI3K/Akt and BCR-ABL in cell cycle progression and leukemogenesis. 2004, *Leukemia*, s. 189-218.
94. Pouyssegur, J, Volmat, V ve Lenormand, P. Fidelity and spatio-temporal control in MAP kinase (ERKs) signaling. 2002, *Biochem Pharm*, s. 755-763.
95. Vivanco, J ve Sawyers, CL. The phosphatidylinositol 3-kinase AKT pathway in human cancer. 2002, *Nat Rev Cancer*, s. 489-501.
96. Sartore-Bianchi, A, et al. PIK3CA mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies. 2009, *Cancer Res*, s. 1851-1857.

97. Zhang, J, Roberts, TM ve Shivdasani, RA.Targeting PI3K Signaling as a Therapeutic Approach for Colorectal Cancer. 2011, Gastroenterology, s. 50-61.
98. Engelman, JA, Luo, J ve Cantley, LC. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. 2006, Nat Rev Genet, s. 606-619.
99. Zhao, L ve Vogt, PK. Class I PI3K in oncogenic cellular transformation. 2008, Oncogene , s. 5486-5496.
100. Samuels, Y, et al.High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. 2004, Science , s. 554.
101. Wood, LD, et al. The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. 2007, Science, s. 1108-1113.
102. Carson, JD, et al. Effects of oncogenic p110 α subunit mutations on the lipid kinase activity of phosphoinositide 3-kinase. 2008, Biochem. J, s. 519-524.
103. Baldus, SE, et al.Prevalence and heterogeneity of KRAS, BRAF, and PIK3CA mutations in primary colorectal adenocarcinomas and their corresponding metastases. 2010, Clin Cancer Res, s. 790-799.
104. Myers, MP, et al. PTEN, the tumor supressor from human chromosome 10q23, is a dual-specificity phosphatase. 1997, Proc Natl Acad Sci USA, s. 9052-9057.
105. Shen, WH, et al. Essential role for nuclear PTEN in maintaining chromosomal integrity. 2007, Cell, s. 157-170.
106. Zbuk, KM ve Eng, C. Cancer phenomics: RET and PTEN as illustrative models .. 2007, Nat Rev Models, s. 35-45.
107. Chalhoub, N ve Baker, SJ.PTEN and the PI3-kinase pathway in cancer. 2009, Annu Rev Pathol Mech Dis, s. 127-150.
108. Merg, A ve Howe, JR.Genetic conditions associated with intestinal juvenile polyps. 2004, Am J Med Genet C, s. 44-55.

109. Danielsen, SA, et al. Novel mutations of the suppressor gene PTEN in colorectal carcinomas stratified by microsatellite instability and TP53 mutation status. 2008, Hum Mutat Erratum, s. 252-262.
110. . Laurent-Puig, P, et al. Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer 2009, J Clin Oncol, s. 5924–5930.
111. Bellacosa, A, et al. Structure, expression and chromosomal mapping of c-akt: relationship to v-akt and its implications. 1993, Oncogene, s. 745-754.
112. Sun, M, et al. AKT1/PKB alpha kinase is frequently elevated in human cancers and its constitutive activation is required for oncogenic transformation in NIH3T3 cells. 2001, Am J Pathol, s. 431-437.
113. Maroulakou, IG, et al. Akt1 ablation inhibits, whereas Akt2 ablation accelerates, the development of mammary adenocarcinomas in mouse mammary tumor virus (MMTV)-ErbB2/neu and MMTV-polyoma middle T transgenic mice. 2007, Cancer Res , s. 167-177.
114. Bae, SS, et al. Isoform-specific regulation of insulin-dependent glucose uptake by Akt/protein kinase B . 2003, J Biol Chem, s. 49530-49536.
115. Vogt, PK, et al. A random walk in oncogene space: the quest for targets. 1999, Cell Growth Differ, s. 777-784.
116. Nicholson, KM ve Anderson, NG. The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy. 2002, Cell Signal, s. 381-395.
117. Chan, S. Targeting the mammalian target of rapamycin (mTOR): a new approach to treating cancer. 2004, Br J Cancer, s. 1420-1424.
118. Slomiany, MG, et al. IGF-1 induced vascular endothelial growth factor secretion in head and neck squamous cell carcinoma. 2006, Biochem Biophys Res Commun, s. 851-858.

119. Kim, D, et al. Akt/PKB promotes cancer cell invasion via increased motility and metalloproteinase production. 2001, *Faseb J*, s. 1953-1962.
120. Chun, KH, et al. Effects of deguelin on the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway and apoptosis in premalignant human bronchial epithelial cells. 2003, *J Natl Cancer*, s. 291-302.
121. Wiedmann, MW ve Caca, K. Molecularly Targeted Therapy for Gastrointestinal Cancer. 2005, *Curr Cancer Drug Targets*, s. 171-193.
122. Yu, G, et al. Overexpression of Phosphorylated Mammalian Target of Rapamycin Predicts Lymph Node Metastasis and Prognosis of Chinese Patients with Gastric Cancer. 2009, *Clin Cancer Res*, s. 1821-1829.
123. Shor, B, et al. Requirement of the mTOR Kinase for the Regulation of Maf1 Phosphorylation and Control of RNA Polymerase III-dependent Transcription in Cancer Cells. 2010, *Journal of Biological Chemistry*, s. 15380-15392.
124. Kambara, T, et al. BRAF mutation is associated with DNA methylation in serrated polyps and cancers of the colorectum. 2004, *Gut*, s. 1137-1144.
125. Yang, S, et al. BRAF and KRAS mutations in hyperplastic polyps and serrated adenomas of the colorectum: relationship to histology and CpG island methylation status. 2004, *Am J Surg Pathol*, s. 1452-1459.
126. Domingo, E, et al. Activated BRAF targets proximal colon tumors with mismatch repair deficiency and MLH1 inactivation . 2004, *Genes Chromosomes Cancer*, s. 138-142.
127. Torlakovic, E, Skovland, E ve Snover, DC et al. Morphologic reappraisal of serrated colorectal polyps. 2003, *Am J Surg Pathol*, s. 65-81.
128. . McCubrey, JA, et al. Roles of the RAF/MEK/ERK and PI3K/PTEN/AKT pathways in malignant transformation and drug resistance 2006, *Adv Enzyme Regul*, s. 249–279.

- 129.** Krens, LL, et al. Therapeutic modulation of k-ras signaling in colorectal cancer. 2010, Drug Discovery Today, s. 502-516.
- 130.** Penna, C ve Nordlinger, B. Colorectal metastasis (liver and lung). 2002, Surg Clin North Am, s. 1075-1090.
- 131.** Cejas, P, et al. KRAS Mutations in Primary Colorectal Cancer Tumors and Related Metastases: A Potential Role in Prediction of Lung Metastasis. 2009, PlosOne, s. 1-6.
- 132.** Lockhart, AC ve Berlin, JD. The epidermal growth factor receptor as a target. 2005, Semin Oncol, s. 52-60.
- 133.** Jean, GW ve Shah, SR. Epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies for the treatment of metastatic colorectal cancer. 2008, Pharmacotherapy, s. 742-754.
- 134.** Tanoue, T ve Nishida, E. Molecular recognitions in the MAP kinase cascades. 2003, Cell Signal, s. 455-462.
- 135.** Schaeffer, HJ ve Weber, MJ. Mitogen-activated protein kinases: specific messages from ubiquitous messengers. 1999, Mol Cell Biol , s. 2435-2444.
- 136.** Lugli, A, et al. Role of the mitogen-activated protein kinase and phosphoinositide 3-kinase/AKT pathways downstream molecules, phosphorylated extracellular signal-regulated kinase and phosphorylated AKT in colorectal cancer- A tissue microarray-based approach . 2006, Human pathology, s. 1022-1031.
- 137.** Lee, SH, et al. Colorectal tumors frequently express phosphorylated mitogen-activated protein kinase. 2004, APMIS, s. 233-238.
- 138.** Schubbert, S, Shannon, K ve Bollag, G. Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. 2007, Nat Rev Cancer, s. 295-308.

- 139.** Castagnola, P ve Garetti, W. Mutant KRAS, chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer. 2005, *Biochim Biophys Acta*, s. 115-125.
- 140.** Guerra, C, et al. Tumor induction by an endogenous K-Ras oncogene is highly dependent on cellular context. 2003, *Cancer Cell*, s. 112-120.
- 141.** Duhamel, S, et al. Sef downregulation by RAS causes MEK1/2 to become aberrantly nuclear localized leading to poliploidy and neoplastic transformation. 2012, *Cancer Res*, s. 626-635.
- 142.** Hoshino, R, et al. Constitutive activation of the 41-/43-kDa mitogen-activated protein kinase signaling pathway in human tumors. 1999, *Oncogene*, s. 813-822.
- 143.** Voisin, L, et al. Activation of MEK1 or MEK2 isoform is sufficient to fully transform intestinal epithelial cells and induce the formation of metastatic tumors. 2008, *BMC Cancer*, s. 337-354.
- 144.** Roberts, PJ ve Der, CJ Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer.. 2007, *Oncogene* (2007) 26, 3291–3310, s. 3291-3310.
- 145.** Mandell, JW. Phosphorylation state-specific antibodies applications in investigative and diagnostic pathology. 2003, *Am J Pathol*, s. 1687-1698.
- 146.** Jaaro, H, et al. Nuclear translocation of mitogen-activated protein kinase kinase (MEK1) in response to mitogenic stimulation. 1997, *Proc Natl Acad Sci U S A*, s. 3742-3747.
- 147.** Levidou, G, et al. ERK/pERK expression and B-raf mutations in colon adenocarcinomas: correlation with clinicopathological characteristics. 2012, *World Journal of Surgical Oncology*, s. 47-64.
- 148.** Yuen, ST, et al. Similarity of the phenotypic patterns associated with BRAF and KRAS mutations in colorectal neoplasia. 2002, *Cancer Res*, s. 6451-6455.

149. Rosenberg, DW, et al. Mutations in BRAF and KRAS differentially distinguish serrated versus non-serrated hyperplastic aberrant crypt foci in humans. 2007, *Cancer Res*, s. 3551-3554.
150. Chan, AO, et al. CpG island methylation in aberrant crypt foci of the colorectum . 2002, *Am J Pathol*, s. 1823-1830.
151. Kobayashi, M, et al. Dedifferentiation of adenocarcinomas by activation of phosphatidylinositol 3-kinase. 1999, *Proc Natl Acad Sci U S A*, s. 4874–4879.
152. Cantley, LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. 2002, *Science* , s. 1655-1657.
153. Philp, AJ, et al. The phosphatidylinositol 3'-kinase p85 α gene is an oncogene in human ovarian and colon tumors. 2001, *Cancer Res* , s. 7426–7429.
154. Roy, HK, et al. AKT proto-oncogene overexpression is an early event during sporadic colon carcinogenesis. 2002, *Carcinogenesis*, s. 201-205.
155. Kazlauskas, A, et al. GTPase-activating protein and phosphatidylinositol 3-kinase bind to distinct regions of the platelet-derived growth factor receptor beta subunit. 1992, *Mol Cell Biol*, s. 2534-2544.
156. Chiarugi, P, et al. New perspectives in PDGF receptor downregulation: the main role of phosphotyrosine phosphatases. 2002, *J Cell Sci*, s. 2219-2232.
157. Zhang, SQ, et al. Receptor-specific regulation of phosphatidylinositol 3'-kinase activation by the protein tyrosine phosphatase Shp2. 2002, *Mol Cell Biol*, s. 4062-4072.
158. Johnson, SM, et al. Novel Expression Patterns of PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway Components in Colorectal Cancer. 2010, *J Am Coll Surg*, s. 767-778.
159. Perren, A, et al. Mutation and expression analysis reveals differential subcellular compartmentalization of PTEN in endocrine pancreatic tumors compared to normal islet cells. 2000, *Am J Pathol*, s. 1097-1103.

160. Gimm, O, et al. Differential nuclear and cytoplasmic expression of PTEN in normal thyroid tissue and in benign and malignant epithelial thyroid tumors. 2000, *Am J Pathol*, s. 1693-1700.
161. Fujita, K, et al. Sessile Serrated Adenoma With Early Neoplastic Progression: A Clinicopathologic and Molecular Study. 2011, *Am J Surg Pathol*, s. 295-304.
162. Zhou, XP, et al. PTEN mutational spectra, expression levels and subcellular localization in microsatellite stable and unstable colorectal cancers. 2002, *Am J Pathol*, s. 439-447.
163. Miyaki, M, et al. Mutations of the PIK3CA gene in hereditary colorectal cancers. 2007, *Int J Cancer*, s. 1627-1630.
164. Cantley, LC ve Neel, BG. New insights into tumor suppression; PTEN suppresses tumor formation by restraining phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway. 1999, *Proc Natl Acad Sci U S A*, s. 4240-4245.
165. Colakoglu, T, et al. Clinicopathological significance of PTEN loss and the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway in sporadic colorectal neoplasms: is PTEN loss predictor of local recurrence. 2008, *Am J Surg*, s. 719-725.
166. Downward, J. Ras signalling and apoptosis . 1998, *Curr Opin Genet Dev*, s. 49-54.
167. Ahmed, NN, et al. Transduction of IL-2 antiapoptotic and proliferative signals via Akt protein kinase . 1997, *Proc Natl Acad Sci U S A*, s. 3627–3632.
168. Myers, MP, et al. The lipid phosphatase activity of PTEN is critical for its tumor suppression. . 1998, *Proc Natl Acad Sci U S A*, s. 13513-13518.
169. Suzuki, J, et al. High cancer susceptibility and embryonic lethality associated with mutation of PTEN tumor suppressor gene in mice. 1998, *Curr Biol*, s. 1169-1178.

170. Khaleghpour, K, et al. Involvement of PI-3 kinase signaling pathway in progression of colon adenocarcinoma. 2004, *Carcinogenesis*, s. 241-248.
171. Sangale, Z, et al. A Robust Immunohistochemical Assay for Detecting PTEN Expression in Human Tumors. 2011, *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, s. 173–183.
172. Ginn-Pease, ME ve Eng, C. Increased nuclear phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10 is associated with G0-G1 in MCF-7 cells. 2003, *Cancer Res*, s. 282-286.
173. Opitz, I, et al. PTEN expression is a strong predictor of survival in mesothelioma patients. . 2008, *Eur J Cardiothorac Surg* , s. 502-506.
174. Cedrés, S, et al.Exploratory analysis of activation of PTEN–PI3K pathway and downstream proteins in malignant pleural mesothelioma (MPM). 2012, *Lung Cancer*, s. 1-7.
175. Jang, KS, et al. Clinicopathological significance of nuclear PTEN expression in colorectal adenocarcinoma. 2010, *Histopathology*, s. 229–239.
176. Hsu, CP, et al. Clinical significance of tumor suppressor PTEN in colorectal carcinoma. 2011, *EJSO*, s. 140-147.
177. Chen, WC, et al. Survey of molecular profiling during human colon cancer development and progression by immunohistochemical staining on tissue microarray. 2007, *World J Gastroenterol*, s. 699-708.
178. Dicuonzo, G, et al.Colorectal carcinomas and PTEN/MMAC1 gene mutations. 2001, *Clin Cancer Res*, s. 4049–53.
179. Sawai, H, et al. Loss of PTEN expression is associated with colorectal cancer liver metastasis and poor patient survival. 2008, *BMC Gastroenterol*, s. 56-63.
180. Li, X-H, et al.PTEN expression and mutation in colorectal carcinomas. 2009, *Oncology Reports*, s. 757-764.

- 181.** Rychahou, PG, et al. Targeted molecular therapy of the PI3K pathway. Therapeutic significance of PI3K subunit targeting in colorectal carcinoma. 2006, *Ann Surg*, s. 833-844.
- 182.** Shaw, RJ ve Cantley, LC. Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth. 2006, *Nature*, s. 424–430.
- 183.** Brugge, J, Hung, MC ve Mills, GB. A new mutational AKTivation in the PI3K pathway. . 2007, *Cancer Cell*, s. 104–107.
- 184.** Itoh, N, et al. Phosphorylation of Akt/PKB is required for suppression of cancer cell apoptosis and tumor progression in human colorectal carcinoma. 2002, *Cancer*, s. 3127–3134.
- 185.** Rychahou, PG, Murillo, CA ve Evers, BM. Targeted RNA interference of PI3K pathway components sensitizes colon cancer cells to TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) . 2005, *Surgery*, s. 391–397.
- 186.** Rychahou, PG, et al. Akt2 overexpression plays a critical role in the establishment of colorectal cancer metastasis. 2008, *Proc Natl Acad Sci U S A*, s. 20315–20320.
- 187.** Guertin, DA ve Sabatini, DM. Defining the role of mTOR in cancer. 2007, *Cancer Cell*, s. 9-22.
- 188.** Courtney, KD, Corcoran, RB ve Engelman, JA. The PI3K pathway as drug target in human cancer. 2010, *J Clin Oncol*, s. 1075-1083.
- 189.** Ma, WW ve Adjei, AA. Novel agents on the horizon for cancer therapy. 2009, *CA Cancer J Clin*, s. 111-137.
- 190.** Grant, S. Cotargeting survival signaling pathways in cancer therapy. 2008, *J Clin Invest*, s. 3003-3006.

- 191.** Li, R, et al. Prognostic value of Akt-1 in human prostate cancer: a computerized quantitative assessment with quantum dot technology. 2009, Clin Cancer Res, s. 3568-3573.
- 192.** Tomita, Y, et al. Prognostic significance of activated AKT expression in soft-tissue sarcoma. 2006, Clin Cancer Res, s. 3070-3077.
- 193.** Dai, DL, Martinka, M ve Li, G. Prognostic significance of activated Akt expression in melanoma: a clinicopathologic study of 292 cases. 2005, J Clin Oncol, s. 1473-1482.
- 194.** Cappuzzo, F, et al. Akt phosphorylation and gefitinib efficacy in patients with advanced nonsmall-cell lung cancer. 2004, J Natl Cancer, s. 1133-1141.
- 195.** Nam, SY, et al. Akt/PKB activation in gastric carcinomas correlates with clinicopathologic variables and prognosis. 2003, Apmis, s. 1105-1113.
- 196.** Shah, A, et al. Phospho-akt expression is associated with a favorable outcome in nonsmall cell lung cancer. 2005, Clin Cancer, s. 2930-2936.
- 197.** Kato, S, et al. PIK3CA mutation is predictive of poor survival in patients with colorectal cancer. 2007, Int J Cancer, s. 1771-1778.
- 198.** Schmitz, KJ, et al. Activation of extracellular regulated kinases (ERK1/2) but not AKT predicts poor prognosis in colorectal carcinoma and is associated with k-ras mutations. 2007, Virchows Arch, s. 151-159.
- 199.** Baba, Y, et al. Phosphorylated AKT Expression Is Associated With PIK3CA Mutation, Low Stage, and Favorable Outcome in 717 Colorectal Cancers. 2011, Cancer, s. 1399-1407.
- 200.** Henderson-Jackson, Evita B, et al. Correlation between Mcl-1 and pAKT protein expression in colorectal cancer. 2010, Int J Clin Exp Pathol, s. 768-774.
- 201.** Shor, B, et al. Targeting mTOR globally in cancer. 2009, Cell Cycle, s. 3831-3837.

- 202.** Alvarez, B, et al. Phosphoinositide 3-kinase activation regulates cell division time by coordinated control of cell mass and cell cycle progression rate. 2003, J Biol Chem, s. 26466-26473.
- 203.** Kaper, F, Dornhoefer, N ve Giaccia, AJ. Mutations in the PI3K/PTEN/TSC2 pathway contribute to mammalian target of rapamycin activity and increased translation under hypoxic conditions. 2006, Cancer Res, s. 1561-1569.
- 204.** Ma, XM ve Blenis, J.. Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control 2009, Nat Rev Mol Cell Biol, s. 307-318.
- 205.** Chiang, GG ve Abraham, RT. Phosphorylation of mammalian target of rapamycin (mTOR) at Ser-2448 is mediated by p70S6 kinase . 2005, J Biol Chem , s. 25485–25490.
- 206.** Gulhati, P, et al. Targeted inhibition of mTOR signaling inhibits tumorigenesis of colorectal cancer. 2009, Clin Cancer Res, s. 7207-7216.
- 207.** Populo, H, Lopes, JM ve Soares, P.The mTOR Signalling Pathway in Human Cancer. 2012, Int J Mol Sci, s. 1886-1918.
- 208.** Zhang, Y ve Zhang, XF. Expression of mammalian target of rapamycin in colon cancer and its effect on proliferation and apoptosis of human colon cancer HT-29 cells. 2011, Zhonghua Yi Xue Za Zhi, s. 2899-2902.
- 209.** Zhang, Y, et al. mTOR signalling pathway is a target for the treatment of colorectal cancer. 2009, Ann Surg Oncol, s. 2617-2628.
- 210.** Giovannucci, E ve Ogino, S. DNA methylation, field effects, and colorectal cancer, J Natl Cancer Inst. 2005, s. 1317-1319.