

**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KOLOREKTAL KANSERLERDE BCL-2 VE COX-2
EKSPRESYONLARININ KLİNİKOPATOLOJİK
PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

**Dr. Mehmet Sıddık ŞENLİ
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ertuğrul SEYREK**

MERSİN 2008

**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KOLOREKTAL KANSERLERDE BCL-2 VE COX-2
EKSPRESYONLARININ KLİNİKOPATOLOJİK
PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

**Dr. Mehmet Sıddık ŞENLİ
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ertuğrul SEYREK**

MERSİN 2008

TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocalarıma, tezime yön veren ve hazırlanmasında büyük katkıları olan hocam Prof. Dr. Ertuğrul Seyrek'e, tezimin immünhistokimyasal boyama ve değerlendirmesinde gösterdiği hassasiyetten dolayı Yrd. Doç. Dr. Tuđba Karabacak'a, istatistiksel ve bilimsel değerlendirmede bilgilerinden yararlandığım Doç. Dr. Mehmet Horoz'a ve birlikte çalıőmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma ve her zaman desteğini yanımda hissettiğim aileme teőekkürlerimi sunarım.

Dr. Mehmet Sıddık ŞENLİ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
ABSTRACT	6
GİRİŞ VE AMAÇ	7
GENEL BİLGİLER	10
Kolonun Anatomisi	10
Epidemiyoloji	12
Görülme sıklığı ve Ölüm	12
Coğrafi Farklılıklar	13
Irk ve Etnik grup	14
Sosyoekonomik Faktörler	14
Anatomik lokalizasyon ve kayma	14
Etiyoloji	15
Çevresel Faktörler	15
Genetik Faktörler	19
Sporadik Kolorektal Kanserlerin Patogenezi	24
Tanı	25
Tarama	27
Evreleme	30
Prognostik Faktörler	34
Siklooksijenazlar ve Prostaglandin Sentezi	42
COX-2 Ekspresyonunun Moleküler Düzenlemesi	44
Kolorektal Kanser ve COX-2 Ekspresyonu	47
BCL-2 Proteini ve Kolorektal Kanser	51
GEREÇ VE YÖNTEMLER	54
BULGULAR	59
TARTIŞMA	73
SONUÇLAR	85
KAYNAKLAR	87
SİMGELER VE KISALTMALAR	97
ŞEKİLLER VE GRAFİKLER	99
TABLolar	100

ÖZET

Apoptozisi baskılayan bir gen olan BCL-2 ve siklooksijenaz-2 (COX-2) proteinlerinin çeşitli organların premalign ve malign lezyonlarında arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, kolorektal kanserli hastalarda BCL-2 ve COX-2 proteinlerinin ekspresyonunu ve çeşitli klinikopatolojik parametrelerle olan ilişkilerini incelemeyi amaçladık.

Aralık 2000 ile Mart 2006 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji Bilim Dalı tarafından takip ve tedavisi yapılan ve Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından patolojik evrelemesi yapılan 57 hastanın patolojik doku blokları retrospektif olarak değerlendirildi. Kolorektal kanserin patolojik doku örneklerinde BCL-2 ve COX-2 ekspresyonu, monoklonal antikor yöntemiyle immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Klinikopatolojik değişkenler üzerinde COX-2 ve BCL-2 ekspresyonunun etkileri araştırıldı.

Çalışmamızda COX-2 ekspresyonu olguların %89,5' inde, BCL-2 ekspresyonu ise %70,2' sinde pozitif. COX-2 ile BCL-2 ekspresyonu arasında pozitif yönde anlamlı ilişki vardı ($p=0,01$, $r=0,302$). İyi differansiye, lenf nodu tutulumu olmayan, erken evre tümörlerde hem BCL-2 hem de COX-2 ekspresyonu daha fazla idi (Tümünde $p<0,05$). COX-2 ile perinöral ve vasküler invazyon arasında zıt yönde anlamlı ilişki vardı (sırasıyla, $p=0,001$ $r=-0,417$ ve $p=0,01$ $r=-0,330$). BCL-2 ve COX-2' in genel sağkalım üzerinde etkileri saptanmadı.

Kolorektal kanserin erken evresinde COX-2 hem de BCL-2 ekspresyonlarının daha fazla olması, genel sağ kalım üzerinde etkilerinin olmaması nedeniyle kolorektal kanser gelişiminin erken dönemlerinde rol aldıklarını desteklemektedir. Kolorektal kanserin gelişmesinde ve klinikopatolojik parametreleri üzerinde, her iki proteinin etkilerini ve birlikteliğini ortaya koymak için daha geniş çalışma gruplarında araştırma yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: BCL-2, COX-2, kolorektal kanser

ABSTRACT

BCL-2, a tumor suppressor gene, and cyclooxygenase -2 (COX-2) have been shown to be increased in many premalign and malign conditions. In the present study, we aimed to investigate BCL-2 and COX-2 expression in patients with colorectal cancer.

Fifty-seven patients with colorectal cancer diagnosed between December 2000 March 2006 at the Department of Medical Oncology, Faculty of Medicine, Mersin University were included retrospectively in the present study. Colorectal cancer tissue samples obtained from those patients were analyzed for BCL-2 and COX-2 expression using anti-BCL-2 and anti-COX-2 monoclonal antibody, respectively. Then, the influences of BCL-2 and COX-2 expression on clinicopathologic features were investigated.

BCL-2 and COX-2 expression was observed in 70.2% and 89.5% of the patients, respectively. BCL-2 expression was positively correlated with COX-2 expression ($p < 0.05$, $r = 0,302$). Patients at early stage of colorectal cancer, with well differentiated colorectal cancer, without lymph node involvement had higher BCL-2 and COX-2 expression level compared to patients at late stage of colorectal cancer, with poor differentiated colorectal cancer and with lymph node involvement, respectively (all $p < 0.05$). COX-2 expression was negatively correlated with vascular invasion and perineural invasion (respectively, $p = 0,001$ $r = -0,417$, $p = 0,01$ $r = -0,330$). BCL-2 and COX-2 expression had no influence on overall survival ($p > 0.05$).

On the basis of our main findings that increased expression of BCL-2 and COX-2 at relatively early stages of colorectal cancers and the lack of influence of BCL-2 and COX-2 expression on overall survival, it can be suggested that BCL-2 and COX-2 expression seems, in part, to play a role especially in the early development of colorectal cancer. Further large scale prospective studies are needed to investigate the certain influences of BCL-2 and COX-2 expression on the development of colorectal cancer and the other clinicopathologic features of colorectal cancer.

Key words: BCL-2, colorectal cancer, COX-2

GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal Kanserler (KRK) dünyanın değişik toplumlarında farklı sıklıkta görülen onkolojik bir sorundur. Sanayileşmiş ülkelerde görülme sıklığı gelişmekte olan ülkelere göre daha fazladır. Düşük riskli bölgelerden yüksek riskli bölgelere göç edenlerde de kolorektal kanser görülme sıklığı artmaktadır. İstatistiksel verilerin güvenilir olduğu ABD’de kolorektal kanserler; erkeklerde prostat ve akciğer, kadınlarda meme ve akciğer kanserlerinden sonra üçüncü sırada görülmektedir. ABD’de kansere bağlı ölüm sebepleri arasında kolorektal kanserler üçüncü sırada yer almaktadır.^{1,2,3}

Ülkemizde de Sağlık Bakanlığı kanser kayıt verilerine göre gastrointestinal kanserler ikinci sıklıkta görülmektedir. Ancak, tüm kanserler içerisindeki KRK görülme oranı erkeklerde %4, kadınlarda ise %3,7 olarak belirlenmiştir.⁴

KRK’in erken evrelerinde prognoz iyi olmasına rağmen, tümör semptomatik hale geldiğinde genellikle ileri evrededir ve mortalitesi bu yüzden oldukça yüksektir. KRK’in gelişmesi ve ilerlemesi diğer kanserler gibi çoklu genetik değişimlerin bir sonucudur. KRK karsinogenezinin anlaşılması için tümör gelişimi esnasında oluşan moleküler değişikliklerin araştırılması gerekmektedir. Moleküler biyolojik yöntemlerin gelişimine paralel olarak, kolorektal kanser hastalarında pek çok prognostik belirteç adayı tanımlanmıştır. Ancak kolorektal kanserlerin değerlendirilmesinde tek bir belirtecin kullanılması yerine birbirleriyle etkileşim gösteren birçok belirtecin birlikte değerlendirilmesi önerilmektedir.⁵

Tümör kinetiği çalışmaları, tümör büyümesinin yalnızca artmış hücre proliferasyonu sonucu olmadığı aynı şekilde azalmış apoptozis oranının da etkisi olduğunu desteklemektedir. Spesifik onkogenlerin aktivasyonu veya tümör süpresör genlerin mutasyonu tümör agresifliği ve kötü klinik gidişat ile ilişkilidir.^{6,7}

Apoptozun (programlı hücre ölümünün) kontrolündeki anormallikler ve bozukluklar karsinogenezde önemli rol oynarlar. Apoptozis pek çok gen tarafından kontrol edilmektedir. Bunlardan biri de hücre siklusu regülasyonu ve apoptoziste önemli rol oynayan ve anti-apoptotik bir protein olan BCL-2

proteinidir. BCL-2 hem normal hem de transforme olan hücrelerde apoptozisi engelleyebilmektedir. BCL-2' nin kolorektal karsinogenezisin erken evrelerinde rolü olduğuna inanılmaktadır.⁸

Daha önce yapılan birçok çalışmada BCL-2 ekspresyonunun klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi olduğu saptanmıştır. Çalışmaların bazılarında BCL-2 ekspresyonu iyi klinik gidişat ile ilişkili olarak bulunmuştur.^{9,10,11,12} Bazılarında ise klinik gidişatla ilişkisi olmadığı görülmüştür.^{13,14}

Romatoid Artritli hastaların takiplerinde, bu hastalarda gastrointestinal kanserinin daha az görüldüğünü fark edilmiştir.¹⁵ Bu olguların ortak özellikleri yaygın olarak NSAİİ (Non-steroidal anti-inflamatuar ilaç) kullanmalarıdır. NSAİİ kullananlarda kolon kanseri sıklığındaki azalma fark edildikten sonra, NSAİİ' in kanser önleyici etkileri epidemiyolojik, gözlemsel ve kontrollü olarak yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Çalışmalar sonucunda KRK riskini % 40-50 oranında azalttığı bildirilmiştir.¹⁶ NSAİİ'lerin bu etkilerinin mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamış olup, kanser hücrelerinde neoplastik büyümeyi baskılayabilme özellikleri halen yoğun olarak araştırılmaktadır. NSAİİ' in en iyi bilinen farmakolojik özelliklerinden birisi prostoglandin (PG) sentezini katalizleyen siklooksijenaz (COX) enzimini bloke etmeleridir. COX enzimi izoformu olan COX-2 (siklooksijenaz-2) enziminin normal dokularda düzeyi az olmasına rağmen, inflamatuvar ve neoplastik dokularda salınmasının arttığı gösterilmiştir. Normal kolorektal epitelyumda COX-2 ekspresyonu olmamasına rağmen, kolorektal adenomlarda %50, karsinomlarda %85 ekspresyon olmaktadır.^{17,18,19}

COX-2 proteini ekspresyonu arttığında hücreler arası adezyon ve apoptozis azalmakta, anjiyogenez ve hücre çoğalması da artmaktadır. COX-2' nin bir çok organda premalign lezyonların malign lezyonlara dönüşümünde etkisi olduğu kanıtlanmıştır. NSAİİ' in kanserden koruyucu etkilerinin temel olarak, COX-2 enziminin baskılanması sonucu oluştuğu düşünülmektedir.^{20,21,22,23}

Birkaç çalışmada, intestinal epitelyal hücrelerde COX-2 ekspresyonunun karsinogenezis ile bağlantılı hücreyel yollarda değişikliklere yol açtığı saptanmıştır. Örneğin, rat intestinal epitelyal hücrelerde sodyum bütirat ile indüklenen COX-2 aşırı ekspresyonunun, BCL-2 seviyesini arttırdığı ve apoptozise direnci arttırdığı görülmüştür.^{24,25}

Başka bir çalışmada ise mide kanserli hastalarda COX-2 ve BCL-2'nin ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür.²⁶

COX-2 ve BCL-2 protein ekspresyonlarının KRK kanser prognozu üzerinde etkisi olduğu kesin olarak bilinmemektedir. KRK' de prognostik önemi bilinen lenf nodu sayısı, TNM sınıflaması, perivasküler invazyon gibi değişkenlerin yanında hastaların klinik gidişatını göstermede yön verecek olan ve immünohistokimyasal yöntemlerle kolaylıkla belirlenebilen COX-2 ve BCL-2 proteinlerinin klinikopatolojik parametrelerle olan ilişkisini ve prognostik etkilerini belirlemek amacıyla bu çalışma tasarlanmıştır.

Bu çalışmada, Aralık 2000 ve Mart 2006 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji Kliniğinde takibi yapılan 57 kolorektal kanserli hastanın patolojik materyali retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Mersin Üniversitesi Patoloji Bilim Dalı tarafından patolojik evrelemesi yapılan bu hastaların, doku bloklarında monoklonal COX-2 ve BCL-2 antikoları ile immünohistokimyasal boyama yapıldı. COX-2 ve BCL-2 immünreaktivitesi ile klinikopatolojik parametreler (yaş, cinsiyet, lokalizasyon, histolojik tümör tipi, diferansiyasyon, perinöral, vasküler invazyon, tümör invazyon derinliği, lenf nodu metastazı, uzak organ metastazı, Dukes evresi, tanı esnasındaki LDH, CEA seviyeleri, takip süreleri ve sağkalım) arasındaki ilişki incelenmiştir.

GENEL BİLGİLER

KOLONUN ANATOMİSİ

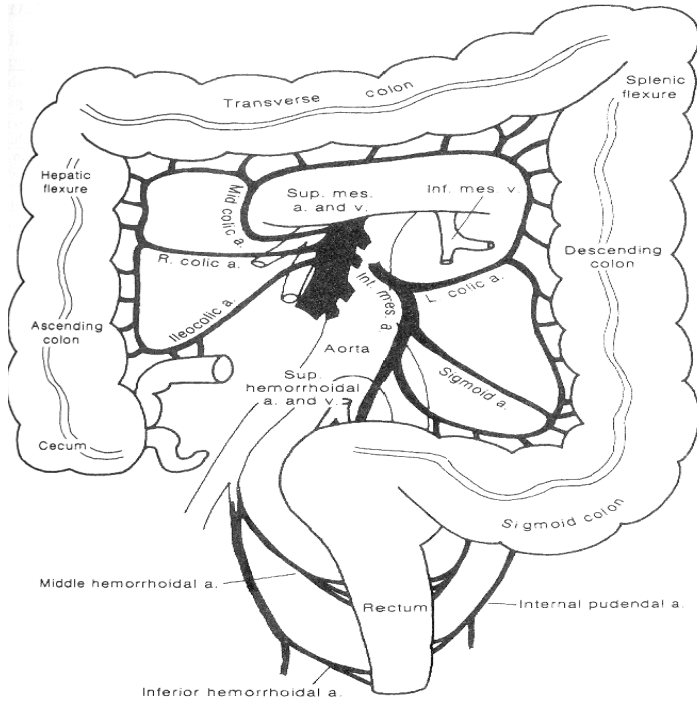
İleoçekal valvden anüse kadar olan barsak kısmı 150 cm kadar olup, geniş barsak olarak bilinir. Vasküler besleme, peritoneal ve retroperitoneal duruma göre 5 kısma ayrılır. Bunlar; çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumdur.

Kolonun ilk kısmı intraperitoneal olup uzunluğu farklıdır. Sağda hepatik fleksurada, solda splenik fleksuraya kadar uzanmaktadır. Hepatik ve splenik fleksuraların her ikisi de fiksedir. Hepatik fleksura safra kesesi fossasına bitişik iken, splenik fleksura dalak hilusunun önüne ve pankreas kuyruğuna kadar uzanır. İnen kolon bir daha yine retroperitoneal olur ve splenik fleksuradan sigmoid kolona kadar ki kısım olarak tanımlanır.

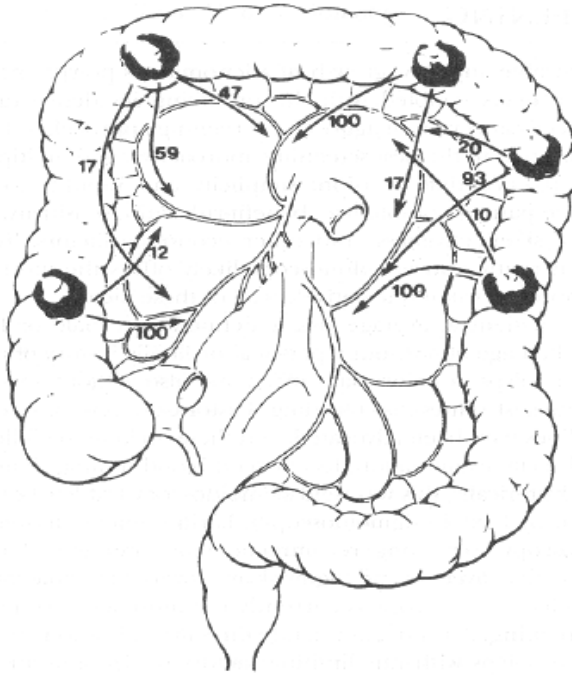
Sağ kolon, çekum ve çıkan kolondan oluşmaktadır. Sağ böbrek ve duodenumun önündedir. Süperior mesenterik arterin dalları (SMA) ile beslenmektedir. Transvers kolon ise SMA' nın orta kolik arter dallarıyla beslenir. İnen kolon, sol kolonun ilk segmenti olup, beslenmesi inferior mezenterik arter (IMA) ile sağlanır. Rektum ise internal iliak arterin inferior rektal arter dalı ile beslenmektedir (Şekil 1).

Kolonun venöz ve lenfatik drenajı arteriyel yapıya paraleldir ve tüm 3 yapıda kolonik mezokolon içinde seyreder ve ayrılırlar. Efferent lenfatik kanallar submukozadan başlayıp, intramüsküler ve subserozal fleksus ile epikolik nodlar olarak bilinen kolona bitişik lenf nodlarının (LN) içine dökülürler. Parakolik nodlar kolonun mezenterik tarafı boyunca uzanır ve metastazlarda sıklıkla tutulurlar. İntermediate nodlar mezokolonda SMA ve IMA' nın major dalları boyunca yerleşirler. Primer nodlar aortadan çıkan damarların çıkış yerlerinin etrafında bulunurlar ve retroperitoneal LN' larına dökülürler. Çıkan, transvers ve sigmoid kolonu drene eden süperior ve inferior mezenterik venler portal vene, rektum ise rektal dallarla vena kava inferiora drene olmaktadır (Şekil 2).

Kolon rezeksiyonunun genişliği vasküler destek ve lenf nodlarının yerleşimine göre tanımlanır. Kolonik yapının anatomisi, yapısı ve vasküler desteğinin tam olarak bilinmesi güvenli ve etkili kolon operasyonu yapmak için önemlidir.¹



Şekil 1. Damarsal kan desteğine göre kolonun anatomisi¹



Şekil 2. Kolon boyunca oluşan lezyonların lenfatik drenajı¹

EPİDEMİYOLOJİ

Son yıllarda kolorektal kanser (KRK) üzerinde yapılan çalışmalar sonucu önemli gelişmeler sağlanmıştır. Bu hastalığın moleküler temellerinin daha da anlaşılması, yeni tanı ve tedavi yaklaşımlarının gelişmesine de yol açmıştır.

Görülme sıklığı ve Ölüm

KRK, yaygın görülen ve öldürücü olan bir hastalıktır. Genel olarak tüm dünyada her yıl yaklaşık 800.000 yeni kolorektal kanserli vaka oluşmakta ve bunların da yaklaşık 450.000'i ölmektedir. ABD'de her yıl 106,680'i kolon kanseri olmak üzere, 148.610 kişiye yeni KRK tanısı konulmaktadır. ABD'de 1998'de 131.600 yeni KRK hastası saptanmış ve bunların 56.500'ü ölmüştür. 2001 yılında 135.000 kişiye yeni KRK tanısı konmuş ve bunların 57.000'i ölmüştür. Bu da kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %10-11'ini oluşturmaktadır. Kansere bağlı ölüm sıralamasında erkeklerde akciğer ve prostat kanseri, kadınlarda akciğer ve meme kanserinden sonra üçüncü sırada yer almaktadır. 2007'de ise 153,760 yeni KRK vakasının saptanması ve bunların da 52,180'nin KRK nedeniyle öleceği tahmin edilmektedir. Prevalans çalışmaları sonucu taranmamış 50 yaş ve üzeri bireylerde tahminen; %0,5-2 invaziv KRK, %1-1.6 in-situ karsinoma, %7-10 adenoma (1cm veya üzeri) ve %25-40 her hangi bir hacimdeki adenom olduğu düşünülmektedir.^{1,2,3,27}

Sporadik KRK gelişiminde yaş major risk faktörünü oluşturmaktadır. Sporadik kolorektal kanser sıklığı 45 veya 50 yaş üzerindeki yaş gruplarında dramatik olarak artmaktadır. ABD' de KRK 'ye ömür boyu yakalanma riski erkek ve kadınlarda %6 olarak belirlenmiştir. Bütün ırklar beraber değerlendirildiğinde KRK erkeklerde %40 daha fazla görülmektedir. Ancak yaşam boyu kolorektal kansere bağlı ölüm riski kadınlarda %2,7 iken, erkeklerde ise %2,6 olarak tahmin edilmektedir. Bu yaşa bağlı görülme sıklığı ve yaşam boyu kansere yakalanma riskleri arasındaki farklılık kadınların daha uzun yaşamasına bağlanmaktadır.¹

Ülkemiz mevcut kayıt sisteminin yeterli olmaması nedeniyle kanser görülme sıklığı hakkında yeterli bilgiye sahip değiliz. Gelişmiş ülkelerde bir yılda görülen kanser görülme sıklığı yüz binde 400'ler civarında iken sağlık bakanlığı kanser kayıt merkezince bildirilen kanser oranı 100.000'de 35-40 civarındadır. Ülkemizde de Sağlık Bakanlığı kanser kayıt verilerine göre KRK görülme sıklığı

erkeklerde %4, kadınlarda %3,7 olarak belirlenmiştir. 2003 verilerine göre; tüm kanserler içerisindeki KRK' in görülme oranı (Sağlık bakanlığı internet sitesi 2003 yılı kanser istatistikleri verilerinden kolon, rektosigmoid ve rektum kanser oranları toplanarak elde edildi) erkeklerde %6,25 iken, kadınlarda %4,94 olarak saptanmıştır. Ülkemizde gastrointestinal kanser oranları tüm kanserler içinde ikinci en sık görülen kanserler arasında olmasına rağmen, kolon ve rektum kanserlerinin görülme sıklığı ABD verilerinin oldukça altındadır.⁴

ABD' de KRK görülme sıklığı fazla olmasına rağmen ölüm oranları düşüktür. Tüm evreler beraber değerlendirildiğinde 5 yıllık yaşama şansı %61 iken, Doğu Avrupa' da %30, Çin'de %32' dir.²⁸

ABD'de yaşa bağlı görülme sıklığı ve ölüm oranlarında son yıllarda bir azalma olmuştur. 1985'den 1995'e kadar KRK sıklığında %20, KRK' ye bağlı ölüm oranlarında %23 kadar azalma olmuştur. Üstelik 5 yıllık sağkalımda da iyileşme olmuştur. Bu eğilim cins, ırk veya etnik gruba bakmaksızın görülmektedir. İlk bakışta diyetdeki ve yaşam stilindeki değişiklikler veya koruyucu ajanların kullanımlarından birine bağlı olabileceği düşünülse de, günümüzde kolonoskopi ve yapılan polipektomi oranlarındaki artışa bağlı olduğu görülmektedir.¹

ABD' de önemli etnik ve irksal farklılıklara rağmen, yılda 250.000 KRK' ye bağlı hastaneye yatış olmakta ve toplam 5 milyon dolar kadar maliyeti olduğu tahmin edilmektedir.¹

Coğrafi Farklılıklar

Çevresel faktörlerin kritik önemi anlaşıldıkça KRK görülme sıklığı üzerinde coğrafi farklılıklarında etkisi ortaya çıkmaktadır. En yüksek ve en düşük görülme sıklığı oranları arasında yaklaşık 30 ile 40 kat kadar farklılık görülmektedir. Örnek olarak; Alaskan yerlilerinde 100.000' de 70 sıklıkta görülürken, Gambia ve Algenia yerlilerinde 100.000' de 2 den daha az sıklıkta görülmektedir. ABD, Yeni Zelanda, Kanada, İsveç, Avustralya gibi gelişmiş ülkelerdeki KRK görülme sıklığı Hindistan, Güney Amerika ve Afrika gibi ülkelerden 30 kat daha fazladır.

İrk ve Etnik grup

Diyet ve yaşam tarzı gibi faktörler oldukça önemli olmasına rağmen, görülme sıklığının az olduğu Asya ve Afrika' da yine de ırksal ve etnik gruplar arasında farklılık vardır. Örneğin, Askenazi Yahudilerinde kalıtsal APC (Adenomatosis Polyposis Coli; Adenomatosis Poliposis Koli) geninde I1307K mutasyonu olması KRK görülme sıklığının daha yüksek olmasına neden olmaktadır. DNA onarım genlerindeki uygunsuz kalıtsal mutasyonlar Afrikalı Amerikalılarda daha yaygın olabilmektedir.¹

Sosyoekonomik Faktörler

Genel olarak kanser görülme sıklığı ekonomik olarak gelişmiş ülkelerde daha yüksektir. Bu da yüksek yağ, kırmızı et tüketimi ve şişmanlık ile sonuçlanan fiziksel aktivitenin az olması ile ilişkili olabilir. Bu da ölüm oranları arasındaki farklılıkların uzun zaman periyodundaki nedenleridir.¹

Anatomik lokalizasyon ve kayma

Klasik olarak kolon kanseri sol veya distal kolonun bir hastalığı olarak bilinir. En çok sigmoid kolonda (%36-38) yerleşim gösterir. Daha sonra çekum ve çıkan kolon (%24-27), rektum (%15) ve transvers kolonda (%10-16) yerleşir. Ancak Güney Amerika ve Avrupa'da sağ kolon veya proksimal kolon kanserinin sıklığı giderek artmaktadır. Benzer eğilim Asya ülkelerinde de görülmektedir. Bu anatomik kayma muhtemelen:

- 1) Yaşam süresinin artması,
- 2) Kolon ve rektumun farklı bölgelerinin luminal prokarsinojen ve karsinojenlere farklı yanıtı olması,
- 3) Genetik faktörler; proksimal kolon kanserlerinde mikrosatellit instabilite (MSI) ile sonuçlanan yanlış veya hatalı tamir genlerindeki bozukluklar baskın iken, kromozomal instabilite sola yerleşimli ve rektal kanserlerde baskın olmasıyla ilişkili olabilir.

Anatomik kaymadaki bu değişiklikler tarama prosedürlerini, kemoprevensiyona, kemoterapiye yanıtı ve sağkalımı da etkilemektedir.²⁹

ETİYOLOJİ

KRK' in etiyojisi karmaşık olup, çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimini kapsar. Normal mukozadan premalign adenomatöz polip ve kanserin gelişmesi uzun yıllar sonucunda oluşmaktadır.

ÇEVRESEL FAKTÖRLER

Kolorektal kanserin patogeneğinde genetik yatkınlık ve çevresel faktörlerin etkileşimi söz konusudur. Genetik yatkınlığı olanlarda çevresel faktörlerin etkisiyle kanser gelişme riskinin arttığı da ortaya konmuştur. Aşağıda kolon etiyojisini etkileyen çevresel faktörler Tablo 1' de özetlenmiştir.¹

Toplam Kalori

Obesite ve total kalori alımının yapılan çalışmalarla KRK için bağımsız risk faktörleri oldukları belirlenmiştir. Vücut Kitle İndeksi (VKİ) artışının kolon kanser riskini erkeklerde 2 kat arttırdığı gösterilmiştir.¹

Tablo 1. Kolon kanseri etiyojisi: Çevresel faktörler

Sıklığını arttıranlar	Sıklığını azaltanlar
Yüksek kalorili diyet	Antioksidan vitamin tüketimi
Kırmızı et tüketimi	Taze sebze ve meyve tüketimi
Aşırı pişmiş kırmızı et tüketimi	NSAİ ilaçlar
Fazla doymuş yağ tüketimi	Yüksek kalsiyumlu diyet
Fazla alkol tüketimi	
Sigara	
Sedanter yaşam	
Obesite	
Not: Kahve ve çay tüketimi görülme sıklığını etkilememektedir.	

Et, Yağ ve Protein

Kırmızı et tüketimi KRK riskini artırır. Beyaz et tüketiminde böyle bir risk tanımlanmamıştır. Kişi başına düşen kırmızı et tüketimi bağımsız güçlü bir risk faktörüdür. Kırmızı etin hiç yenilmemesinin KRK insidansında azalma yapıp yapmadığı belli değildir. Kızartma ve ızgara şeklinde pişirilmiş etlerin tüketiminin KRK riskini özellikle de rektal kanser riskini arttırmaktadır. Özellikle rektal kanserinde bu risk 6 kat artabilmektedir. Yüksek protein alınması karsinogenezi artırabilir. Ancak, kırmızı etin hiç alınmamasının KRK riskini azalttığı konusundaki bilgiler yetersizdir. Mekanik olarak, yüksek proteinli diyet hızlanmış epitel çoğalmasına yol açar.

Kırmızı etin yağ komponentleri tümörü artırabilir. Çünkü yağlar lüminal bakteriler ile karsinogenlere metabolize edilebilir. Buna bağlı olarak anormal kolonik epitel çoğalması olabilmektedir. Yağların tipinin önemli olup olmadığı tartışmalıdır. Bazı çalışmalar doymuş hayvansal yağların özellikle yüksek risk sağladığını desteklemesine rağmen, bazılarında ise total enerji alımından sonra diyetteki yağ içeriğinin risk açısından önemini olmadığını ileri sürmektedir.^{30,31}

Fiber

Klasik olarak yüksek fiberli diyetin düşük KRK görülme sıklığı ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalarda ileri sürülmüştür. Korunmanın buğday kepeği, sebze ve meyvelerin alınmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Aynı şekilde fiberli besinlerin karsinogenleri seyrelttiği, kolondaki transit süresini azalttığı ve uygun çevresel ortam oluşturduğu düşünülmektedir. Bu kuramsal kavramlar son yapılan geniş kontrollü çalışmalarla değişmeye başlamıştır. Fuchs ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; 16 yıl süreyle, 34-59 yaş arası ve yaklaşık 90.000 kadın katılımcıda fiber alımı ile hem adenomatöz polip hem de KRK görülme sıklığı arasında bir ilişkinin olup olmadığını araştırmışlar. Çalışma sonucunda her hangi bir ilişkinin olmadığı bildirilmiştir.³² Daha sonra yapılan geniş randomize kontrollü çalışmalarda da, belli bir süre içinde yüksek fiberli diyetin tüketilmesinin kolonoskopik saptanan poliplerin histolojik karakteristikleri, hacmi, sayısı üzerinde etkileri olmadığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak, diyetteki fiberin KRK gelişme riski üzerinde rol oynamadığı gösterilmiştir.^{33,34}

Sebze ve Meyveler

Sebze ve meyve tüketiminin genel olarak KRK' a karşı koruyucu bir etkiye sahip olduklarına inanılmaktadır. Bu durum çiğ yeşil turpgillerin tüketilmesinde gözlenmiştir.

Suda eriyen B vitamin ailesi üyesi olan folik asit DNA sentezi ve metilasyonunda görev alan esansiyel bir vitamindir. Endojenik sentezlenemediğinden mutlaka diyetle alınmalıdır ve en çok turunçgillerde, kök sebzelerinde ve kuru fasulyede bulunur. Nurses' Health çalışmasında, günlük 400 mikrogram folat alınmasının kolon kanseri gelişme riskini %31 azalttığı ve bu azalmanın 15 yıllık kullanım sonrası istatistiksel anlamlılık kazandığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada diyetle alınan folatın kolorektal adenom riskini de azalttığı bildirilmiştir.³⁵

Kalsiyum

Kalsiyum desteği kemopreventif müdahale için umut verici olarak ortaya çıkmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda kalsiyum alımı ile KRK görülme sıklığı arasında ters bir ilişki olduğu öne sürmüştür. Ancak bu ilişki zayıf olup istatistiksel anlamlılığı da tutarsızdır. Kolorektal adenomlu 930 hastaya günlük 3 gram kalsiyum karbonat (1200 miligram elementel kalsiyum) verilmiş. Hastalar endoskopik olarak birinci ve dördüncü yılda değerlendirilmiş. Adenom tekrarlama riskinde istatistiksel olarak anlamlı ancak hafif bir azalma olduğu görülmüştür. Takip analizlerinde, kalsiyumun bu etkisini vitamin D seviyesinin etkilediği ve kalsiyum desteğinin fayda sağladığı olgularda vitamin D düzeyinin yüksek olmasıyla bu etkinin arttığı bildirilmiştir. Kalsiyumun bu etkilerini, safra asitlerini ve barsak lümenindeki diğer karsinogenleri bağlayarak gösterdiği tahmin edilmektedir. Ayrıca, direkt etki ile tüm epitel boyunca kalsiyuma hassas reseptörleri aktive ederek hücrelerin büyümesini ve farklılaşmasını engellediği düşünülmektedir. Bu teori hücre kültür modelleriyle desteklenmiştir.³⁵

Yaşam Tarzı

Fiziksel hareketsizlik rektumdan çok kolon kanseri ile ilişkilidir. Sedanter yaşam stili, mekanizması belli olmamasına rağmen KRK riskini arttırabilmektedir.

Çoğu çalışmada alkol kullanımının KRK riski üzerinde minimal pozitif etkisi olduğu saptanmıştır. Erkeklerde alkol tüketimi ile rektal kanser riski arasındaki ilişki daha çöktür. Uzun süreli sigara içimi KRK riskini arttırabilir. 20 paket-yıldan uzun süre sigara içilmesi adenoma riskini arttırırken, 35 paket-yıldan uzun süre sigara içilmesi KRK riskini arttırmaktadır. Hem kahve hem de çayın kronik tüketimi ile KRK riski arasında ilişki yoktur.¹

Non Steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAİ)

NSAİ ilaçların, kolon kanser hücre kültüründe apoptozisi indükleyerek ve hücre siklusunun G1 fazında hücre ölümüne neden olarak hücre büyümesini baskıladığı gösterilmiştir. KRK hayvan modellerinde de hem non-selektif hem de selektif COX-2 inhibitörlerin epitelyal hücre proliferasyonunu ve apoptozisi etkiledikleri görülmüştür.³⁶

NSAİ ilaçlar en iyi çalışılan farmakolojik kemopreventif ajanlardır. Aspirin ve diğer NSAİ ilaçların kemopreventif potansiyellerine olan ilgi, kronik NSAİ ilaç kullananlar arasında KRK görülme sıklığının az olduğunun fark edilmesiyle başlamıştır. Daha sonra yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, NSAİ ilaç kullanımının KRK sıklığını %40-50 kadar azalttığı görülmüştür. En geniş katılımlı epidemiyolojik kanserden korunma çalışması, 662,424 katılımcının 7 yıl süre ile takip edildiği çalışmadır. Bu çalışmada, düşük doz aspirin kullanımının (en az bir yıl ve ayda 16 veya daha fazla tablet kullanan) KRK mortalitesi üzerinde %40' a varan göreceli risk azalması yaptığı bildirilmiştir.³⁶

Nurses' Health çalışmasında, 20 yıl ve üzerinde devamlı olarak aspirin kullanan 88,756 kadın üzerinde yapılmış. Çalışmada aspirin kullananlarda KRK görülme sıklığı %44 azalmıştır. Health Professionals Follow-Up çalışmasında da, haftada 2 veya daha fazla aspirin kullanan 47.900 erkek katılımcı da KRK görülme sıklığında %32 azalma olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalar ve diğerleri aspirin ve diğer NSAİ ilaçların KRK'i önleyebildiğini desteklemektedir. Çalışmaların sonucunda risk azalması tutarlı olmasına rağmen sık ve devamlı kullanımının gerekliliği betimlenmektedir.

Kolorektal adenomaların tedavisinde aspirin dozu ve süresi ile ilgili 27,077 katılımcının olduğu diğer bir gözlemsel çalışmada, haftada 2 veya daha fazla aspirin kullanan kadınlarda adenom gelişimi %25' den daha az olarak bildirilmiştir. Kısa ve uzun süre kullanıcılar arasında benzer risk azalması

bulunmasına rağmen, en fazla koruyucu etki çok daha yüksek dozlarda (haftada 14 aspirin tabletinden daha çok) kullananlarda gözlenmiş. Koruyucu etki adenoma hacmi ve histolojisinden bağımsız olarak benzer bulunmuştur.

Bu verilere rağmen NSAİ ilaçların kullanımı ile görülen anti-tümör etkilerinin mekanizmaları tam olarak anlaşılmamıştır. Sikloksijenaz enzimi (COX) en iyi belirlenen moleküler hedef olmasına rağmen NSAİ ilaçların hem COX-bağımlı hem de COX-bağımlı olmayan etkileri olduğu belirlenmiştir. NSAİ ilaçların kemopreventif özellikleri geleneksel olarak COX inhibisyonuna ve PG seviyelerindeki azalmaya bağlanmaktadır.³⁵

GENETİK FAKTÖRLER

Kolorektal kanserlerin kalıtsal özellikleri yüzyılı aşkın süredir dikkati çekmektedir. İlk kez 1895'de kalıtsal kolon kanseri gündeme gelmiş ve daha sonraki yıllarda ailesel sendromlar tanımlanmıştır. Kolon kanserlerinin %5-10'u ailesel eğilimi olanlarda görülür. KRK hastalarının birinci derece akrabalarında yaklaşık 1/3 oranında kanser öyküsü olduğu bilinmektedir.

Ailesel faktörler sporadik KRK riskinde önemlidir. KRK aile öyküsü, yaşam boyu KRK yakalanma riskini artırır. Bu risk artışı aile öyküsünün durumuna göre değişmektedir. Ailesel faktörler sporadik KRK kanser riskini, birinci veya ikinci derecede yakınında olması ve KRK' in başlangıç yaşına bağlı olarak önemli değişiklik göstermektedir. Birinci derece ve en az bir yakınında KRK olan bir kişide KRK riski iki kat artmaktadır. İlaveten 60 yaşından önce KRK' ye yakalanma öyküsü varsa bu risk daha da artmaktadır. KRK' sı kanseri olan bir kişinin, birinci derece akrabalarında premalign adenom veya KRK olma olasılığı da artmaktadır. National polyp study verilerine göre; adenomlu hastaların birinci derece akrabalarında göreceli risk 1,8 iken, aile öyküsü veren kişide 60 yaşından önce adenom saptandıysa risk 2,6 'ya çıkmaktadır.^{37,38,39,40}

KRK' e neden olan ailesel ve ailesel olmayan predispozan faktörler Tablo 2' de özetlenmiştir.

Ailesel Adenomatöz Polipozis

FAP (Familial Adenomatous Polyposis; Ailesel Adenomatöz Poliposis Koli), otozomal dominant ve neredeyse %100 penetrasyon gösteren bir sendromdur. Bununla birlikte, hastaların yaklaşık %30' unda yeni gelişen

mutasyonlar söz konusudur ve aile öyküleri yoktur. Tüm KRK' in %1'ini oluşturur. Tüm kolonu tutmaktadır. Binlerce kolorektal polip içeren ve total kolektomi yapılmazsa KRK' in kaçınılmaz olduğu bir bozukluktur.

Tablo 2. Kolorektal kanserin ailesel ve ailesel olmayan nedenleri

ADENOMATÖZ POLİPLİ SENDROMLAR	
<i>APC</i> gen mutasyonları (%1)	
Familiyal adenomatozis polipozis (FAP)	
Attenüe APC	
Turcot's sendromu (ailelerin üçte ikisi)	
<i>MMR</i> gen mutasyonları (%3)	
Hereditör nonpolipozis kolorektal kanser tip I ve II	
Muir-Torre sendromu	
Turcot's sendromu (ailelerin üçte biri)	
HAMARTAMATÖZ POLİPLİ SENDROMLAR (< %1)	
Peutz-Jeghers (<i>LKB1</i>)	
Jüvenil polipozis (<i>SMAD4, PTEN</i>),	
Cowden (<i>PTEN</i>)	
Bannayan-Ruvalcaba-Riley sendromu	
Mikst polipozis	
DİĞER AİLESEL NEDENLER (%20-25)	
Adenomatöz polipli aile öyküsü (<i>MHY</i>)	
Kolon kanseri aile öyküsü	
	50 yaş altında kolon kanserli bir veya iki birinci derecede akraba
	İkinci derece akraba varsa risk 2 kat
Ailesel kolon-meme kanseri	
AİLESEL OLMAYAN NEDENLER	
Bireysel adenomatöz polip öyküsü	
Bireysel kolorektal kanser öyküsü	
İnflamatuvar barsak hastalığı (Ülseratif kolit, Crohn koliti)	
Radyasyon koliti	
Üreterosigmoidostomi	
Akromegali	
Cronkhite-Canada sendromu	

Ekstrakolonik bulgular çeşitlidir ve belirgin olanları şunlardır;

- Retinal pigment epitelinin konjenital hipertrofisi
- Mandibular osteomlar
- Normalden daha çok diş olması
- Epidermal kistler
- Adrenokortikal adenomlar
- Desmoid tümörler (Bunlar obstrüksiyona yol açabilir)
- Tiroid tümörleri
- Gastrik ve ince barsak polipleri ile %5-10 duodenal veya ampulla adenokarsinomu veya her ikisi
- Beyin tümörleridir.⁴¹

Karyotip analizinde esas 5q kromozomundaki yapısal delesyon ve takiben genetik bağlantı analizi FAP' den sorumlu genin 5q21'deki APC bölgesi olduğu gösterilmiştir. Erken başlangıçlı FAP hastaları, APC genin mutasyonlu kopyasını kazanırlar ve kolorektal kansere hızlıca ilerlerler. İlginç olarak, APC gen mutasyonu ile retinal pigmentin konjenital hipertrofisi, dermoid tümörler gibi belli klinik bulgular arasında ilişki fazladır. APC geni, 15 exon ve 2850 aminoasitten oluşan 310 kD (Kilodalton) ağırlığında bir proteini kodlamaktadır. APC genindeki tüm germline mutasyonlar sonucu oluşan küçük proteinler, moleküler tanı yöntemleriyle saptanabildiğinden genetik danışmanlık içine alınabilir. Etkilenen hastaların ve yüksek riskli aile üyelerinin genetik taramasının yapılması önerilmektedir.¹

Hereditör Nonpolipozis Kolorektal Kanseri

HNPCK (Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer; Hereditör Nonpolipozis Kolorektal Kanseri), otozomal dominant ve % 80 kalıtsal geçiş gösteren bir sendromdur. Tüm kolorektal kanserlerin yaklaşık %3' ünü oluşturur. Göze çarpan özellikleri en fazla 100'e ulaşan kolonik polipler (bu nedenle non-polipozis olarak tanımlanır) olması ve öncelikli olarak sağ veya proksimal kolonda (%70) yerleşim göstermesidir. Tip 1 HNPCK hastalarında KRK gelişmesi yavaş olup, ortalama görülme yaşı 43'tür. Tip-2 HNPCK' de mide, incebarsak, safra yolu, renal pelvis, üreter, safra kanseri, uterus ve overler, deri ve bazen de pankreastan orijin alan tümörler de gelişebilir. HNPCK' de yaşam boyu kanser görülme riski; KRK için %80, endometriyal kanser için %40, diğer

kanserler için %10'dan azdır. Deri tümörlerini içeren HNPKK' in bir formu Muir-Torre sendromu olarak tanımlanır. HNPKK' nin tanısı Amsterdam tanı kriterlerine göre yapılmaktadır (Tablo 3).¹

Tablo 3. HNPKK için tanısal kriterler

AMSTERDAM I KRITERLERİ
En az üç akrabada kolorektal kanser olmalı
Bu 3 kişiden birinin diğer 2 kişinin 1. derecede akrabası olması
En az iki ardıl kuşakta tutulum olmalı
Ailede 50 yaş altında kolorektal kanser tanısı alan en az bir kişi olmalıdır.
Familyal adenomatozis polipozis (FAP) ekarte edilmelidir.
KRK tanısı histopatolojik olarak doğrulanmış olmalıdır.
AMSTERDAM II KRITERLERİ
En az üç akrabada HNPKK ilişkili kanser (kolorektal, endometrial, ince
En az iki ardıl kuşakta tutulum olmalı
Ailede 50 yaş altında en az bir vaka olmalıdır
Familyal adenomatozis polipozis (FAP) ekarte edilmelidir
Tümörler histopatolojik olarak doğrulanmalıdır

Genetik ve biyokimyasal araştırmalar HNPKK' de sorumlu MMR genlerinin (Mismatch Repair genes; hatalı onarım genleri) keşfine yol açmıştır. Bu MMR genlerindeki germline mutasyonlar MSI (Microsatellit Instability; Mikrosatellit Düzensizlik) ile sonuçlanır. MSI, HNPKK ile ilişkili tümörlerin ve diğer tümörlerin oluşmasında hedef genler olan, *TGFβII reseptör*, *bax*, *IGF tip-2 reseptör* genlerinin somatik mutasyonu için ortam oluşturmaktadır. HNPKK' deki germline mutasyonların %60' ı hem MLH1 (human mutL homolog 1) geninde hem de hMSH2 (human mutS homolog 2) geninde bulunur. Ancak ailenin diğer üyeleri olan hMSH6 (human mutS homolog 6), hPMS1 ve hPMS2 (human postmeiotic segregation 1 ve 2) genlerinde mutasyon nadirdir.¹

Hamartomatöz Polipozis Sendromları

Hamartomatöz polipozis sendromları nadirdir ve çoğunlukla pediatrik veya adolesan çağıdaki populasyonu etkilerler. Kolorektal kanserlerin %1' den azını oluştururlar.

Peutz-Jeghers sendromu (PJS), bir serin treonin kinaz olan STK11 (serine threonine kinase 11) geniyle ilgili otozomal dominant bir hastalıktır. Polipler sesil ya da saplı, lobullü, bazen erode, hemorajik yüzeyli, 5-50 mm. boyutlarında ve yuvarlaktır, sayıları az veya 100' ün üzerinde olabilir. Bu polipler, GİS kanama veya obstrüksiyon ile bulgu verirler. KRK dönüşme riskleri de vardır. Polipler submukozadan bir düz kas ile ayrılırlar. Polipler %64 ince barsak, %64 kolon, %49 mide ve %32 rektumda dağılım gösterirler. Ayırt edici klinik özellikleri dudak kenarında, bukkal mukozada ve periorbital bölgede görülen çillenmedir. Diğer özellikleri sinüs, bronşiyal, safra kesesi polipleri ve hastaların yaklaşık %5-10 kadarında görülen seks kord tümörleridir. Hastalarda akciğer ve pankreatik adenokarsinomlarda gelişebilir.

Jüvenil polipozis ile PJS' nin klinik bulguları çakışabilir. Ancak jüvenil polipoziste polipler kolona sınırlı olma eğilimindedir. Polipler tek sıra epitelyumla örtülü olup düz kas içermezler. Gastrik ve incebarsak polipleri olan vakalarda saptanmıştır. Bunlarda KRK riski artmıştır. Ekstra kolonik tutulum yaygın değildir. Poligenik bir hastalıktır. Kromozom 18q' da lokalize *SMAD4/DPC4* geninde (tümör supressor gen) mutasyon ve allel kaybı söz konusudur. Ayrıca PTEN, BMPR1'deki germline mutasyonlar ve diğer yeni genler daha yeni saptanmıştır.

Cowden's Hastalığı otozomal dominant geçiş gösteren, gastrointestinal sistemin herhangi bir yerinde ve deride görülen 1-4 mm'lik hamartomatöz polipler ile karakterizedir. Sıklıkla rektosigmoide yerleşirler. KRK riski artmamıştır. Bununla birlikte hastaların yaklaşık %10' unda tiroid tümörleri ve yaklaşık %50' sinde meme tümörleri gelişir. Germline PTEN mutasyonları bildirilmiştir. ¹

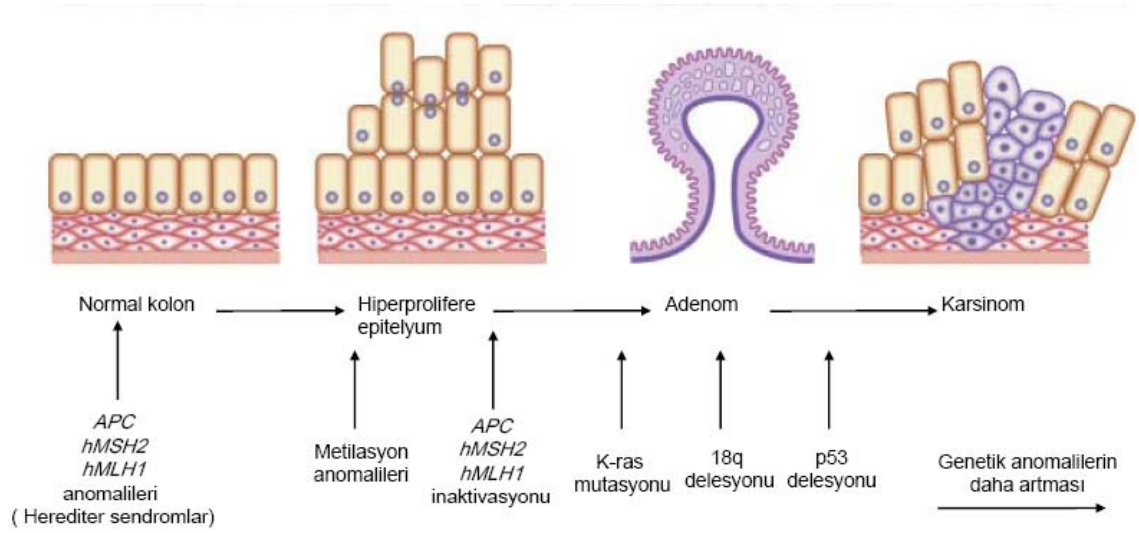
Ailesel Kolorektal Kanser

Kolorektal kanserli hastaların yaklaşık %20-30'u bilinen sendromlardan ayrı olarak genetik eğilim gösterirler. Ailesel kanser sendromlarındaki gibi birinci derece akrabasında kolorektal kanser olanlarda kanser riski artmaktadır.

Kanserin başlangıç yaşı ve tutulan akraba sayısına göre risk 1.8-8 kat artabilmektedir. Birinci derece ve bir kişide kanser öyküsü varsa risk 1.8 kat, iki veya daha fazla birinci derece akrabada kanser öyküsü varsa risk 2.75 kat artmaktadır. 45 yaşından önce birinci derece akrabada kanser öyküsü olan kişilerde ise KRK riski 5.37 kat artmaktadır.⁴²

SPORADİK KOLOREKTAL KANSERLERİN PATOGENEZİ

Düzenli yapılan çalışmalar sonucu, KRK oluşumu ile ilgili bilgileri de arttırmıştır. Normal kolon mukozasından adenomatöz polip ve kanser gelişimi ortalama 10-15 yıl kadar sürmektedir. Bunun için çeşitli mutasyonlar gerekmektedir.



Şekil 3. Kolorektal kanserin gelişmesindeki genetik değişimler.

Yapılan araştırmalar sonucu kolorektal tümörögeneziste iki genetik yol tanımlanmıştır.

Birinci yol; Adenomatöz poliplerin neredeyse %80'i *APC* gen mutasyonu sonucu meydana gelmektedir. *APC*, *wnt* sinyal yolu, intraselüler adhesyonu, iskelet stabilizasyonunda, hücre siklusu düzenlenmesinde ve apoptosiste önemli rolü ile geniş 312 kD proteini kodlayan bir tümör supressör genidir. *APC* proteini, koruyucu fonksiyona sahip olup bu genin disfonksiyonu kromozomal instabiliteye (CI; Chromosomal Instability) neden olmaktadır. Kromozomal instabilite yolağı ilk yol olarak tanımlanmıştır. *APC* proteini sitoplazmada, β -

katenin onkoproteini ile birleşiktir. APC ile birlikte glikojen sentaz kinaz-3 β (GSK-3 β), hedef olarak β -katenini transfosforile ederek parçalanmasına neden olur. Ya wnt sinyali ile GSK-3 β inhibisyonu olursa ya da APC geninde mutasyon varsa, β -katenin degradasyondan kurtulur ve hücre çekirdeğine transloke olur. Burada LEF (lymphoid enhancer factor)/TCF (T cell Factor; T-hücre faktörü) gibi transkripsiyonel faktörlerle birleşip, c-myc, siklin D1, PPAR- δ (peroxisome proliferator-activated receptor δ), COX-2 gibi hedef genleri aktive eder. Bu yüzden, APC normal intestinal homeostazın devamı için önemli bir düzenleyicisidir (Şekil 3A).

Vakaların %40-50'inde Ras onkogeninde akkiz mutasyonlar vardır. Ras aracılı sinyal yolları oldukça fazladır. Bu yollar hücrelerin proliferasyon, büyüme ve değişiminde kritik rol alırlar (Şekil 3B).

KRK vakalarının yaklaşık %80'i, p53 ve SMAD4 tümör süpressör genlerindeki mutasyonlarla ilişkilidir. Normalde wild-tip p53 hücre siklus ilerlemesi, apoptozisin regülasyonu ve genotoksik strese karşı sınırlayıcıdır. SMAD4 ise TGF- β sinyal yolağında kritik rol oynayan bir gendir.

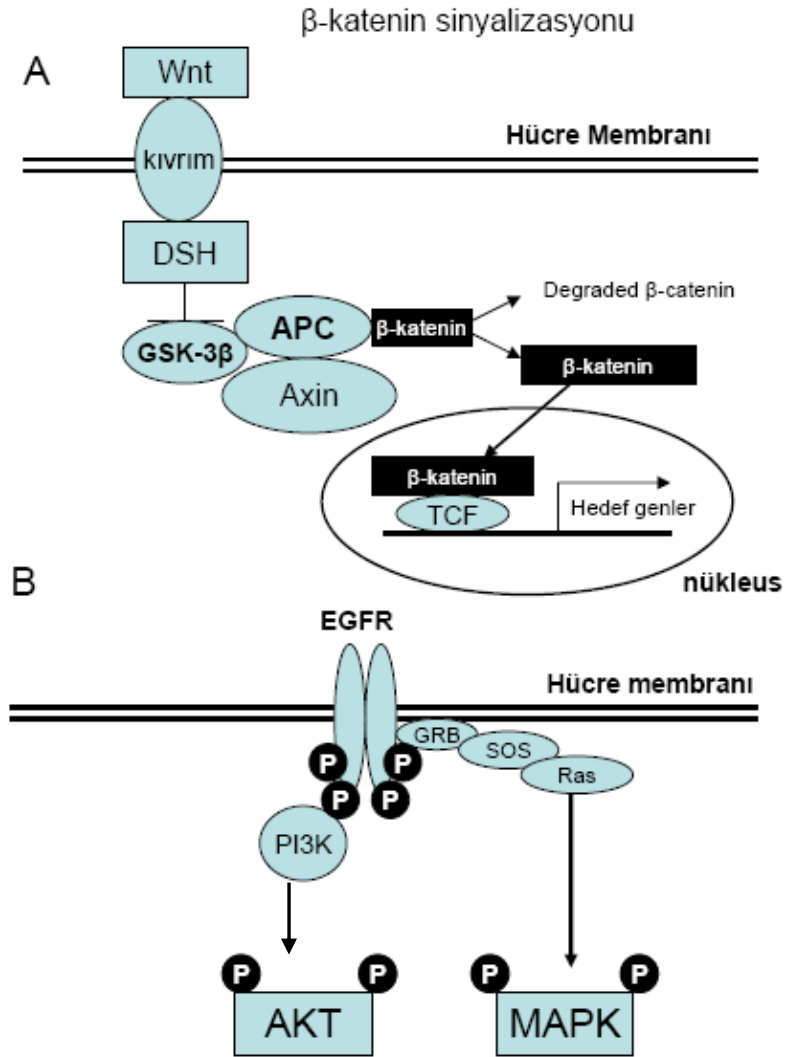
Karsinogenezde onkogenlerin aktivasyonu ve tümör süpressör genlerin inaktivasyonu arasında karmakarışık bir etkilenme olmaktadır. Genetik değişimlerin birikimini ve bunların durumundaki düzen bu yolda önemlidir. KRK' in ve adenomatöz poliplerin %70-80'inde COX-2 ekspresyonu olmaktadır. COX-2 apoptozisi inhibe eder ve anjiyogenezisi artırır.

İkinci yol; Sporadik KRK' in yaklaşık %15'i alternatif bir yol olan MSI (Mikrosatellit İnstabilite) yolağı ile gelişmektedir. MSI tümörlerinde ortaya çıkan mutasyonlar akkizdir. Mutasyonlar, sapmış hücrel çoğalmaya ve kanser gelişmesine yol açar.¹

TANI

KRK'in semptomları kanama, barsak alışkanlığında değişiklikler, karın ağrısı, kilo kaybı, iştah değişikliği ve güçsüzlük olup, özellikle obstrüksiyon alarm semptomudur. Bununla birlikte obstrüktif semptomlar hariç diğer semptomlar hastalığın evresinden bağımsızdır ve özellikle tanısal açıdan fikir verici değillerdir. Fizik muayene ile ele gelen kitle, rektumda taze kan bulaşığı (genellikle sol kolon kanserlerini) veya melena (sağ kolon kanserlerinde) ve gizli kanama bulgusu olarak gaitada gizli kan saptanabilir. Adenopati,

hepatomegali, sarılık ve pulmoner bulgular metastaza bağlı olabilir. Kolon kanserinin yaptığı obstrüksiyon daha çok sol kolon ve sigmoid kolon tutulumunda ortaya çıkmaktadır. Ancak, sağ kolon kanserleri çok daha sinsi seyrederek. Akut gastrointestinal kanama, akut obstrüksiyon, perforasyon ve uzak organ metastazına bağlı komplikasyonlar görülebilir.



Şekil 4. Sporadik kolorektal kanser patogenezindeki moleküler yollar.

A: Wnt sinyali ve APC/β-katenin. **B:** Ras onkogeni ve sinyal kaskadı. EGFR, epidermal büyüme faktör reseptörü; GSK-3β, glikojen sentaz kinaz-3β; MAPK, mitojen-aktive eden protein kinaz; PI3K, fosfatidilinositol 3 kinaz; TCF, T-hücre faktörü.

Laboratuvar yöntemleriyle demir eksikliği anemisi, elektrolit dengesizlikleri ve karaciğer fonksiyon bozuklukları saptanabilir. Preoperatif hastaların yaklaşık % 20' sinde CEA düzeyi yükselebilir. Cerrahi sonrası normale gelirse postoperatif takip için oldukça önemli bir belirteçtir.

Değerlendirme tam öykü, aile öyküsü, fizik muayene, laboratuvar testleri, kolonoskopi ile yapılmalıdır ve tanı konulduktan sonra metastaz şüphesi varsa, tüm vücut tomografisi çekilmelidir. Tanı ve evrelemede rektum kanserinde endoskopik ultrasonografi de kullanılabilir.

Moleküler biyolojik tekniklerin gelişmesi sonucu gaita testleri ve kan testleri ile genomik DNA veya protein izole edilerek genetik tarama yapılmasını sağlayan yöntemlerin gelişmesine olanak sağlayacaktır. Geniş boyutta çalışmalar devam etmektedir. Geniş adenomatöz polipleri veya KRK olduğu bilinen hastalarda sınırlı genetik değişikliklerin aynısı gaita örneklerinde bulunabilir. Gaita aracılı tanılar için ilgi çekici özellik; KRK' lı hastaların yüksek, orta ve düşük riskli olarak sınıflandırılmalarına ve bunların tarama şeklini ve sıklığını belirlemede yardımcı olmasındaki beklentilerdir.¹

TARAMA

Adenomatöz polipler ve KRK' in değişken büyüme davranışı, sıklığının gittikçe artması ve erken tanının sağkalım üzerinde olan etkileri beraber alındığında yoğun tarama yaklaşımları gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Adenomatöz polipler, invaziv kolorektal kanser için iyi tanımlanmış öncül lezyonlardır. Genel popülasyonda adenom gelişme riski % 19 ve bu sporadik poliplerden invaziv kansere dönüşüm oranı %2-5' dir.

Genel popülasyondaki ortalama risk tanımı; kişisel veya ailesel adenomatöz polip veya KRK öyküsü olmayan, gizli veya akut GİS kanaması olmayan ve 50 yaş üzerindeki erkek ve kadınlar olarak belirlenmiştir.

En iyi tarama metodu basit, hızlı, hassas, maliyet açısından avantajlı olanıdır. Günümüzde en çok kullanılan tarama yöntemleri rektal tuşe, gaitada gizli kan (GGK), sigmoidoskopi, baryumlu kolon grafisi ve kolonoskopidir. KRK kanser taramasında sonuç olarak bu faktörlerin hepsi göz önüne alındığında en etkin yaklaşım günümüzde kolonoskopi gibi görünmektedir.

Dijital rektal muayene genel fizik muayenenin bir parçası olmalıdır. Rektal tuşe esnasında anorektal kitlelerin % 5-10'u ele gelebilir.

GGK tarama testi kolay, maliyeti düşük, hastaya ek risk getirmeyen, kontrol grubuna göre mortalitede azalma sağladığı gösterilmiş yararlı bir tarama yöntemidir. Test edilenlerde genel pozitiflik oranı %2-6 arasında değişir. Pozitif prediktif değeri adenomlar için %20 iken, kanser için bu oran %5-10'dur. Tüm kolorektal kanserler kanama yapmayacağı gibi, tüm kanamalar da kansere bağlı olmayabilir. Bazı kanserler aralıklı kanamaya yol açabilir. Bilinen kolorektal kanseri olanlarda % 20-30 yanlış negatif sonuçlar bildirilmiştir. Randomize çalışmalar ile yıllık GGK taramasının, iki yılda bir yapılan taramadan daha etkili olduğunu göstermiştir. Kırmızı et ve peroksidaz aktivitesine sahip belli sebzeler içeren diyet, aspirin kullanımı yanlış pozitif sonuca yol açabilir. Yine C vitamini kullanımı da yanlış negatif sonuca yol açabilir. Bu nedenlerle tam sağlıklı sonuç için üç ardışık dışkı tetkiki önerilmektedir.

Optik kolonoskopi günümüzde tarama için en uygun ve en hassas yöntemdir. Avantajları direkt görülmesi, anatomik yerleşim, hacim gibi hız sınırlayıcı faktörlerle poliplerin alınması ve biyopsi yapılabilme olanağı olmasıdır. Dezavantajları; hazırlık gerektirmesi, invaziv bir yöntem olması, perforasyon (% 1'den az) gibi yan etkilerinin olmasıdır. Yapılan çalışmalarda ilerlemiş proksimal yerleşimli tümörlerin %50' sinde distal tümör olmadığı ancak, distal tümörü olmayanların %2' sinden azında ilerlemiş proksimal tümör varlığı görülmüştür.

Fleksible sigmoidoskopi sedasyon ve hemodinamik takibi gerektirmez ve rektum, sigmoid kolon ve inen kolon splenik fleksuraya kadar görüntülenebilir. Sigmoidoskopi tarama yöntemi olarak kullanıldığında, kolorektal kanser mortalitesinde %60-80 azalma görülmüştür. Fleksible sigmoidoskopi ile kolorektal kanserlerin yaklaşık %50' si tespit edilebilir. Fleksible sigmoidoskopi tek başına tarama için önerilmemektedir, baryumlu kolon grafisi ile birlikte değerlendirilmesi daha çok tercih edilmektedir.

Çift kontrastlı kolon grafisi ile tüm kolon görülmesine rağmen, rektum iyi değerlendirilemez. Avantajları; hazırlığın kolay olması, sedasyon gerekmemesi, hemodinamik takibin gerekmemesi ve polip ile kitlelerin görülebilmesine olanak sağlamasıdır. Bununla birlikte, 1cm ve altındaki küçük polipler kolaylıkla atlanabilir. Bundan başka, eğer luminal polip veya kitle saptanmışsa biyopsi, polipektomi veya her ikisi için kolonoskopi gerekli olmaktadır.

Yeni invaziv olmayan yöntemler ile ilgili çalışmalar devam etmektedir ve klinik çalışmalarda yapılmaktadır. Bunlardan biri BT kolonografi ve MR kolonografidir. Yapılan çalışmalar sonucunda optik kolonoskopi ile karşılaştırıldığında tutarlı sonuçlar alınmış olmasına rağmen geniş boyutlu populasyon çalışmaları gerekmektedir.¹

Normal Populasyonda Kolorektal Kanser Taraması

Asemptomatik, aile öyküsü olmayan, 50 yaş üzeri populasyonda yıllık dijital muayene ve GGK, 5 yılda bir fleksible sigmoidoskopi önerilmektedir. Alternatif olarak 10 yılda bir kolonoskopi ve 5-10 yılda bir baryumlu grafi de önerilmektedir.^{43,44}

Yüksek Riskli Gruplarda Kolorektal Kanser Taraması

60 yaşından önce kolon kanseri veya adenomatöz polip tanısı almış birinci derecede akrabası olanlar, herhangi bir yaşta KRK tanısı almış birinci derecede iki akrabası olanlarda 40 yaşında kolonoskopi taraması yapılması önerilmektedir. Ya da ailede en erken KRK tanısı konulan kişinin tanı yaşından 10 yıl önce kolonoskopi taraması yapılmalı ve her 5 yılda bir tekrarlanmalıdır.

FAP aile öyküsü olanlarda fleksible sigmoidoskopi ile taramaya 10-12 yaşında başlanmalı ve genetik test yapılmalıdır. FAP' lılarda her 1-3 yılda bir endoskopi de yapılmalıdır.

HNPCK aile öyküsü olanlarda 20-25 yaşında veya ailede en erken tanı konulan yaştan 10 yıl önce kolonoskopik tarama başlamalıdır. Genetik test yapılmalıdır. HNPCK' sı olan hastalarda histeroskopi ve transvajinal ultrasonografi ile over ve endometrium kanserleri de taranmalıdır.

Malign veya büyük ve sapsız bir veya daha fazla adenomatöz polipi olan kişilerde veya kolonoskopisi tam yapılmayanlarda kısa zamanda kolonoskopi ile takip edilmelidirler. Üç veya daha fazla polip varsa 3 yılda bir kolonoskopi, bir veya iki polip (< 1 cm) varsa 5 yılda bir kolonoskopi yapılmalıdır.

KRK öyküsü olan hastalarda obstrüksiyona bağlı tanı esnasında kolonoskopi tam yapılmadıysa cerrahi rezeksiyondan 6 ay sonra tekrar kolonoskopi yapılmalıdır. Eğer tanı esnasında kolonoskopi tam yapıldıysa, kolonoskopi 3 yıl içinde tekrarlanmalıdır. Eğer normal ise her 5 yılda bir kolonoskopi tekrarlanmalıdır.⁴⁴

EVRELEME

Rekürrens ve sağkalımı etkileyen birçok prognostik faktör olmasına rağmen en önemlisi evrelemedir. KRK' in evrelemesinde American Joint Comitte on Cancer (AJCC) ve international Union Against Cancer (UICC)'in TNM sınıflandırması kullanılmaktadır.

DUKES Sınıflaması ve Modifikasyonları

1930 yılında İskoçyalı bir patolog olan Cuthert Dukes kendi adını taşıyan ve ağırlıklı olarak rektal kansere yönelik bir sınıflandırma geliştirdi. Bu sistem cerrahi olarak çıkarılan materyallerin patolojik değerlendirilmesinden elde edilen verilere göre yapılmış ve yaygın olarak uzun yıllar kullanılmıştır. Tümörler önce A,B,C olarak sınıflandırılmış daha sonra C evresi modifiye edilmiştir.

Evre A: Tümör barsak duvarına sınırlı,

Evre B: Barsak duvarı boyunca tutulum

Evre C: Lokal veya bölgesel lenf nodu yayılımı

C1: Lokal lenf nodu tutulumu

C2: Bağlantı noktasındaki lenf nodu tutulumu

Evre D: Uzak organ metastazı

1949' da Kirklin ve arkadaşları Evre A' yı mukoza ve submukoza ile sınırlı tümör olarak sınırladılar. B evresini de;

B1, muskularis propia tutulumu (tam olarak penetre etmemiş)

B2, eski B evresi yani tam barsak penetrasyonu olarak sınıflandırdılar.

1954'te Astler ve Coller pozitif lenf nodu olan hastalarda tümör penetrasyon düzeyine göre Evre C' yi;

C1: Nod pozitif ve tümör barsak duvarına sınırlı

C2: Nod pozitif ve tümör barsak duvarının tüm katlarını infiltre etmiş olarak ayırdılar.

Gunderson ve Sosin, Astler-Coller sistemini daha da modifiye ederek;

B2m-C2m: Mikroskobik tümör varlığı

B2m+g /C2m+g: Gros tümör varlığı

B3-C3: Diğer yapılara lokal invazyon olarak sınıflandırdılar.

Dukes sistemi veya modifikasyonlarının dezavantajı nodal örneklemenin yeterli yapılmaması ve lenf nodu tutulumu yaygınlığının değerlendirilmemesidir.

National Surgical Adjuvant Breast ve Bowel Program (NSABP), 844 nod pozitif hastanın analiz raporunda iki önemli prognostik faktöre dikkat çekmiştir. Bunlar; tümörün penetrasyon derinliği ve lenf nodu pozitifliği. Lenf nodu pozitifliği 1-4 olan hastalarda prognoz iyi, 4'ün üzerinde nod pozitifliği olanlarda prognoz daha kötü olarak bildirilmiştir. Yapılan analiz sonucunda nod pozitifliği sayısı tek ve en önemli prognostik faktör olarak gösterilmiştir. Diğer bir dezavantajı da tümör gradı ve diğer patolojik özellikleri içermemesidir.¹

TNM (TÜMÖR, NOD, METASTAZ) Sınıflaması

AJCC-UICC, kolorektal kanser evrelemesi için TNM sistemini önermektedir. TNM sınıflamasında, primer tümörün invazyonunu (hacim değil) T evresi olarak, lokal veya bölgesel lenf nodu tutulum sayısını N evresi, uzak metastaz varlığını M evresi olarak sınıflandırmayı içermektedir.¹

Tümör invazyon derinliği (T Evresi)

In-situ adenokarsinoma (Tis): Glandüler bazal membrana veya lamina propiyaya sınırlı tümör.

T1: Tümör submukozayı invaze etmiş ancak geçmemiştir.

T2: Tümör muskularis propiyayı invaze etmiş ancak geçmemiş.

T3: Tümör tüm submukoza ve muskularis propiyayı invaze etmiştir veya peritoneal olmayan perikolik veya perirektal dokuları invaze etmiştir.

T4a: Tümör diğer organ veya yapıları invaze etmiş

T4b: Visseral peritonu tutmuş.

V ve L sembolleri vasküler veya lenfatik invazyonları tanımlamak için kullanılır. "p" ön eki patolojik değerlendirme olup, "y" eki ise neoadjuvan kemoterapi sonrası cerrahi olarak müdahale edilen tümörleri tanımlamak için kullanılır.¹

Lenf nodu tutulumu (N Evresi)

Lenf nodu tutulumu önemli bir prognostik gösterge olduğundan TNM sınıflamasında en az 4-7 lenf nodu değerlendirmesi yapılması önerilmektedir.

N0: Lenf nodu tutulumu yok

N1: 1-3 arasında bölgesel lenf nodu tutulumu var.

N2: 4 veya daha fazla lenf nodunda tutulumu var.

Evre II' de T evresi prognostik önem taşımaktadır ve T3N0 Evre IIa olarak sınıflandırılırken T4N0 Evre IIb olarak sınıflandırılır.

N1 kategorisindeki hastalarda (1-3 nod pozitif) T evresi oldukça önemli bir prognostik etkidir. T1 veya T2 olanlarda prognoz, T3 ve T4 olanlara göre daha iyidir. N2 (4 veya daha fazla nod pozitif) olan hastalar, N1 hastaların her iki altgrupundan da daha kötü bir prognoz sergilerler. N2 durumunda ise T evresi prognostik önem taşımamaktadır.¹

Uzak organ tutulumu (M Evresi)

Uzak metastazın kanıtı olmadığında hastalar M0 olarak belirtilir. Uzak metastaz saptanırsa M1 olarak sınıflandırılır. Eksternal iliak, common iliak, paraaortik, supraklavikular veya diğer lokal olmayan lenf nodlarının tutulumu uzak metastaz (M1) olarak sınıflandırılır.¹

Histolojik Diferansiyasyon

Adenokarsinomların %80'den fazlası orta derecede diferansiyasyon gösterirler. Bunların da yaklaşık %60'ı rektum, sigmoid ve rektosigmoid bölgede görülmektedir. Az diferansiyasyon gösteren tümörlerde lenf nodu metastaz riski %81, iyi differansiyasyon gösteren tümörlerde ise %30' dur. Sağkalım üzerinde tümör diferansiyasyonunun önemli ve bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterilmesine rağmen, evrensel olarak kabul gören bir derecelendirme sistemi yoktur. Evreleme sistemlerinin çoğu;

Grade 1: İyi diferansiye

Grade 2: Orta diferansiye

Grade 3: Kötü diferansiye

Grade 4: Undiferansiye olarak ayırmaktadır.⁴⁵

Tablo 4. Kolorektal Kanserin TNM sınıflaması

Evre	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4	N0	M0
IIIA	T1-T2	N1	M0
IIIB	T3-T4	N1	M0
IIIC	Herhangi T	N2	M0
IV	Herhangi T	Herhangi N	M1

Tablo 5. Kolorektal kanserdeki farklı evreleme sistemlerin karşılaştırılması

	Dukes	Astler-Coller	TNM
Mukozaya sınırlı tümör invazyonu	A	A	Tis, N0
Submukozaya sınırlı tümör invazyonu, lenf bezi tutulumu yok.	A	B1	T1, N0
Submukozaya sınırlı tümör invazyonu, lenf bezi tutulumu mevcut.	C	C1	T1,N1-3
Kas tabakasına sınırlı tümör invazyonu, lenf bezi tutulumu yok	A	B2	T2,N0
Kas tabakasına sınırlı tümör invazyonu, lenf bezi tutulumu mevcut	C	C1	T2,N1-3
Kas tabakasının tamamı boyunca tümör tutulumu, lenf bezi tutulumu yok	B	B2	T3,N0
Kas tabakasının tamamı boyunca tümör tutulumu, lenf bezi tutulumu mevcut	C	C2	T3,N1-3
Tümör komşu organları tutmuş, lenf bezi tutulumu yok	B	B2	T4,N0
Tümör komşu organları tutmuş, lenf bezi tutulumu mevcut	C	C2	T4,N1-3
Diğer faktörlere bakılmaksızın uzak metastaz varlığı	D	D	T1-4,N0-3,M

PROGNOSTİK FAKTÖRLER

Kolorektal kanserli hastalarda ruhtemel klinik seyri belirlerine konusunda bilgi veren klinik ve patolojik özelliklere prognostik faktörler denir. Başka bir ifade ile tanı veya cerrahi sonrasında mevcut olup, adjuvan tedavi yapılmadığı durumda hastaliksız ve genel sağkalımla ilişkili bulunan her türlü faktör prognostik faktör olarak adlandırılır.

CAP (College of American Pathologists ; Amerikan Patolojistleri Birliği) kolorektal karsinomada prognostik ve prediktif değeri olduğu düşünülen faktörlerle ilgili olarak bir bildiri yayınlamıştır. CAP tarafından prognostik etkisi olduğu düşünülen ve çalışılan tüm değişkenler göz önüne alınarak I' den IV' e kadar olan kategorilerde sınıflandırmışlardır.⁴⁶

Kategori I; Çok sayıda sağlıklı istatistiksel analiz ile prognostik önemi saptanmış ve yayınlanmış çalışmaların olduğu prognostik faktörler. AJCC-UICC evreleme sisteminin T,N ve M sınıflamasının tümü, kan veya lenfatik damar invazyonu, küratif cerrahi sonrası rezidüel tümör ve preoperatif CEA yükselmesi de bu kategori içinde değerlendirilmiştir.

Kategori IIA; Hem biyolojik hem de klinik açıdan çalışılmış ve defalarca sonuç açısından prognostik veya prediktif değeri olduğu saptanmış, ancak istatistiksel geçerliliği kanıtlanmamış faktörler. Tümör gradı, neoadjuvan tedavi sonrası rezidüel tümör ve tümörün radial sınır durumu.

Kategori IIB; Ümit verici, ancak yeterli çalışmanın olmadığı prognostik faktörler. Histolojik tip, konak lenfoid yanıtı, MSI' in yüksek derecesi (MSI-H), heterozigot INT0114' un kaybı, tümör sınırının düzenliliği.

Kategori III; Prognostik değerini saptamak için yeterli çalışmanın olmadığı faktörler. DNA içeriği, 18q DCC dışındaki moleküler belirteçler, perinöral invazyon, mikrodamar dansitesi, tümör hücresi ile ilişkili protein ve karbonhidratlar, peritümöral fibrozis, peritümöral inflamatuvar cevap, fokal nöroendokrin diferansiyasyon, proliferasyon.

Kategori IV; Prognostik önemi olmayan faktörler. Tümör boyutu ve kaba tümör görünümü (gros konfigürasyon).

Kan ve Lenfatik Damar İnvazyonu

Literatürdeki yayınlar çelişkili olmasına rağmen, CAP ortak bildirisine göre daha kötü prognoz göstergesi olduğunu destekleyen güçlü kanıtların daha

fazla olduğunun gösterilmesi nedeniyle kan ve lenfatik damar invazyonu kategori I prognostik faktör olarak kabul edilmektedir. Patolojik raporlanan damar tutulumunda yöntem açısından önemli bir heterojenlik vardır. İncelenen kesitlerin sayısı ile damar tutulumunun bulguları artmaktadır. Ayrıca lenfatiklerin post kapiller venüllerden ayırt edilmesi de sıklıkla olanaksızdır. Günümüzde, tümörün en az üç blokunun her birinde ve en az bir kesitinde damarların tümör invazyonunu saptamak için hemotoksilen eozin ile inceleme yapılması önerilmektedir. Damarlar venüller veya lenfatikler olarak kesin bir şekilde yorumlanamıyorsa anjiyolenfatik damarlar olarak raporlanabilir.¹

Histolojik Tip

Kolorektal kanserin birkaç spesifik tipi başlı başına prognostik önem taşımaktadırlar. Taşlı yüzük hücreli karsinomalarda, intrasellüler musin birikimiyle sitoplazma ve nükleusun periferite itilmesi ile oluşan taşlı yüzük görünümü hücrelerin %50' sinden fazlasında görülmektedir. Bu histolojik tipin prognozu kötüdür.⁴⁷

Musinöz karsinomların (%50 den fazlası musin içeren) prognostik önemi ise tartışmalıdır. Küçük hücreli (akciğer dışı oat cell) tümörler açık olarak kötü prognostik özellikler gösteren yüksek dereceli nöroendokrin tümörlerdir. Ancak fokal nöroendokrin diferansiyasyonunun prognostik önemi belirsizdir. (CAP kategori III) Ancak fokal olmayan nöroendokrin diferansiyasyonunun kötü prognoz göstergesi olduğu gösterilmiştir.⁴⁸

Medüller karsinom, glandüler yapı içermeyen ve daha önce undiferansiye olarak sınıflandırılmış farklı büyüme paterni ile karakterize bir alt tiptir. Tipik olarak lenfositlerle ile infiltridir. Bu histolojik alt tip yüksek-MSI (MSI-H) ile bağlantılı olarak daha ılımlı prognoz taşımaktadır.⁴⁹

Mikrosatellite İstabilite (MSI)

Sporadik kolorektal kanserlerin patogeneğinde iki farklı mutasyon yolağı vardır; MSI ve CI yolakları. Mikrosatellitler daha çok dinükleotidler şeklinde çok sayıda tekrarlanan nükleotidlerden oluşan kısa zincirli DNA parçalarıdır. MSI, mikrosatellitlerin tekrarlayan ünitelerinin az olması veya fazla olması durumunda bir frame-shift mutasyonu, baz-çifti değişikliği veya her ikisi ile oluşmaktadır. Kolorektal kanserlerin yaklaşık %15' inde bu mutasyonlar görülmektedir.

Genetik destabilizasyonun bu formu tipik olarak MMR genlerinde bozukluğa yol açar. HNPKK tümörlerinde MLH-1 ve MSH-2 gibi MMR genlerinde mutasyonlar saptanmıştır. Bu genler hatalı onarılan nükleotidlerin proteinlerini kodlarlar. MMR defekti olan tümörlerin fenotipi “ *yüksek frekanslı MSI fenotipi* ” (MSI-H) olarak adlandırılmaktadır.

Kolorektal kanserli hastaların çoğu (yaklaşık % 85) tipik olarak LOH (Allelic loss; allel kaybı), kromozomal amplifikasyon ve kromozomal translokasyonları içeren Cl yolağı ile gelişen kanserlerdir. Bunlar mikrosatellit-stabil (MSS) tümörleri olarak bilinirler. MSI-H tümörleri, düşük-MSI (MSI-L) veya MSS kolorektal tümörlerden göreceli olarak farklılıkları taşırlar. MSI-L ve MSS tümörleri benzer davranış gösterme eğilimindedirler.

MSI-H tümörler daha çok sağ tarafa yerleşim gösterirler. Yüksek grad ve musinöz tipte olma eğilimindedirler. Karakteristik olarak peritümöral lenfositik infiltrasyonda artış vardır ve diploid yapı göstermektedirler. Buna karşılık MSS tümörleri anoploid yapıdadırlar. MSI-H kolorektal kanserli hastaların tanı esnasında, primer tümörlerinin geniş olma ve nod negatif olma olasılığı daha fazladır. MSI-H kolorektal kanserli hastaların uzun dönemdeki prognozu eş evredeki MSS kolorektal kanserli hastalardan daha iyidir.⁵⁰

Watanabe ve arkadaşları, yüksek riskli Evre II ve Evre III tümörü olan ve daha önce fluorourasil bazlı kemoterapi alan 460 hastada MSI durumunu, 18q, 17p ve 8p allel kayıpları ve potansiyel prognostik özelliği olan p53 ile p21^{WAF1 / CIP1} proteinlerinin hücresel düzeylerini araştırmışlar. Hastaların %21’ inde MSI-H saptamış. MSI-H tümörlerinin de %61’ inde TGF-β1’in Tip-II reseptör geninde mutasyon saptanmış. Bu çalışmada MSI-H’in 5 yıllık hastalıksız sağkalım üzerindeki etkisi olumlu bulunmuş (p=0.002). Tüm sağkalım üzerinde olumlu prognostik eğilimi olduğu da görülmüş ancak, istatistiksel anlamlılığa ulaşamamıştır (p=0.2). Bununla birlikte MSI-H tümürlü hastalar arasında 5 yıllık sağkalım TGF- β1 Tip-II reseptör geninde mutasyonu olanlarda %74, mutasyon olmayanlarda ise %46 olarak bulmuş (p=0.004). MSI-H hücreler in-vitro göreceli olarak 5-fluorourasile (5-FU) dirençlidir. Watanabe çalışmasında tüm hastalara 5-FU verilmişti. TGF-β1, hücre siklusunu G1 geç fazında durdurarak tümör çoğalmasını baskılamaktadır. Bu yüzden mutasyona uğramış TGF-β1 Tip II reseptör geni varlığında TGF-β1 yolağı fonksiyonu durmaktadır.

Bu da tümörde artmış proliferasyona neden olarak kemoterapiye duyarlılığı arttırdığı düşünülmektedir.⁵¹

Ribic ve arkadaşları, Evre II ve Evre III hastaları içeren beş çalışmada toplam 570 hastada FU bazlı kemoterapinin faydalı olduğunun bir göstergesi olarak MSI durumunun etkinliği araştırmışlar. MSI-H %16,7 hastada, MSI-L %10,5 hastada ve MSS %72,8 hastada saptanmıştır. Adjuvant kemoterapi almayan 287 hastada ise MSI-H tümörü olan hastalarda 5 yıllık sağkalım MSI-L ve MSS olan hastalardan daha yüksek olarak bulunmuş (OR, 0,31; p=0,004). Adjuvant kemoterapi alan grupta ise MSI-H tümürlü hastalar ile MSI-H olmayan tümürlü hastalar arasında sağkalım açısından farklılık saptanmamıştır (p=0,8). MSI-L veya MSS tümürlü hastalarda kemoterapi alan ve almayanlar karşılaştırıldığında kemoterapinin sağkalım üzerinde iyileşme sağladığı görülmüştür (OR, 0,72; p=0.04) Bununla birlikte kemoterapinin MSI-H tümürlü hastalarda sağkalım üzerinde etkisi olmadığı saptanmıştır. Kemoterapi, MSS veya MSI-L sergileyen hem Evre II hem de Evre III tümürlü hastaların sonuçlarında düzelme sağlamıştır. Evre II olan hastalarda risk oranı 0,67 (%95 GA, 0,39-1,15), evre III olan hastalarda ise risk oranı 0.69 (%95 GA, 0,47-1,01) olarak bulunmuştur. Buna karşılık, MSI-H tümürlü hastalarda kemoterapi sağkalımda iyileşme sağlamadığı gibi, evre II (ölüm riski 3,28) ve evre III hastalarda (ölüm riski 1,42) ölüm riskinde artışa neden olmuştur. Bu bulgular MSI-H' in, hasta yönetimi, hasta seçimi ve farklı tedavi seçeneklerini belirleme açısından potansiyel olarak güçlü bir belirteç olduğunu göstermektedir.⁵²

18q Allel Kaybı (DCC gen kaybı)

Allel kaybı (LOH) tüm kolorektal kanserlerin yarısından fazlasında ortaya çıkan 18 kromozomun uzun kolundaki kayıptır. 18q allel kaybı tipik olarak DCC (deleted in colon cancer) genini kapsar. Yine bu bölgede kolorektal kanserle ilişkili olabilen SMAD2 ve SMAD4 gibi diğer bazı genlerde mevcuttur. DCC gen ekspresyonu birçok kolorektal kanserde büyük ölçüde azalmış veya yoktur. DCC' nin kaybı metastaz ve kötü prognoz ile ilişkilidir. DCC geninin spesifik ürünü Netrin-1 reseptörü olduğu saptanmıştır. Normal durumlarda bu reseptör nöronal aksonların göçüne aracılık etmektedir. Netrin-1 bağlanması olmadığında DCC apoptozisi uyarmaktadır. Bağlanma olduğunda ise apoptozis bloke olur. 18q allel kaybı sonucu olarak DCC kaybı olması ve apoptozisin

bozulması beklenebilir. Böyle durumda ise kemoterapiye direnç gelişmesi söz konusu olmaktadır. 18q gen kaybı mekanizması hipotezi ilgi çekici olmasına rağmen, 18q allel kaybı durumunda DCC genişliğinin ne kadar olduğu tamamıyla açık değildir.

Watanabe ve arkadaşları Natioal İntergroup Adjuvant çalışmalarından (INT 0035 veya INT 0089) birinde tedavi almış hastaların patolojik tümörlerinde potansiyel prognostik bir belirteç olarak 18q allel kaybını değerlendirmişler. MSI durumu ve 17p, 8p ve p53 ile p21^{WAF1 / CIP1} proteinlerin seviyelerini de değerlendirilmiş. 18q allel kaybı hastaların %49' unda saptanmış. 18q allel kaybı olan evre III tümürlü hastalarda 5 yıllık sağkalım %50 iken, allel kaybı olmayanlarda ise %69 olarak bulunmuş (p=0,005). Bu analizde diğer markerlerde değerlendirilmiş ve prognostik önemleri görülmemiştir.⁵¹

Evre II ve evre III kolon kanserli 118 hasta üzerinde yapılan diğer bir çalışmada, yine 18q allel kaybının kötü prognostik etkisi olduğu bulunmuştur. Evre II olan hastalarda 5 yıllık hastaliksız sağkalım %54 olarak saptanmış. 18q allel kaybı olmayan Evre II olanlarda ise daha iyi klinik sonuçlar elde edilmiş ve 5 yıllık hastaliksız sağkalım %96 olarak saptanmıştır. Çok yönlü yapılan bir analizde de 18q allel kaybının hem 5 yıllık hastaliksız sağkalım hem de tüm sağkalım üzerinde kötü prognostik etki gösterdiği belirlenmiştir.⁵³

Konak Lenfoid Yanıtı

Lenfositik infiltrasyon olumlu bir prognostik faktör olarak tanımlanmaktadır. Bağımsız bir belirteç olup olmadığı belli değildir. Çünkü bu bulgu, iyi bir prognostik faktör olan MSI-H ile birliktelik göstermektedir.¹

Tümör Sınır Konfigürasyonu

Tümörün sınır yapısı bağımsız bir prognostik faktör olarak görülmektedir. Yapılan çok yönlü bir çalışmada tümör sınır yapısının düzensiz olmasının negatif prognostik etki gösterdiği görülmüştür.¹

Karsinoembriyjenik Antijen (CEA)

Karsinoembriyjenik antijenin (CEA) preoperatif yüksek seviyesi kanser rekürrensi için kötü bir prognostik faktördür. CEA seviyesi ile ilgili mevcut veriler değişik olmasına rağmen prognostik cut-off olarak saptanan preoperatif düzeyin

5ng/ml üzerinde olması CAP' a göre kategori I kötü prognostik faktör olarak değerlendirilmektedir. Preoperatif CEA seviyesi yüksek olan hastalarda potansiyel olarak küratif bir cerrahi sonrası normale gelmemişse risk artmaktadır. CEA' nın bağımsız bir prognostik faktör olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Preoperatif CEA seviyesinin prognostik önemini olduğu göz önüne alındığında, operasyon öncesi serum CEA düzeyinin ölçülmesi önerilmektedir.¹

Obstrüksiyon ve Perforasyon

Obstrüksiyon ve perforasyon ile komplike olan kolorektal kanserlerin daha kötü bir prognoz sergiledikleri kabul edilmektedir. NSABP çalışmasında Dukes B ve C kolorektal kanserli 1021 hasta değerlendirilmiş ve barsak obstrüksiyonunun prognozu oldukça etkilediği görülmüştür. Yapılan bir retrospektif değerlendirmede obstrüksiyonla başvuran hastalarda toplam 5 yıllık sağkalım %31 iken, kontrollerde %59 olarak saptanmıştır. Lokalize perforasyonu gelişen hastalarda 5 yıllık sağkalım %44 olarak saptanmıştır. Gastrointestinal Tümör Çalışma grubunun (GITSG) yaptığı çok yönlü bir analizde de obstrüksiyonun tümörün Dukes evresinden bağımsız olarak önemli bir prognostik faktör olduğunu, perforasyonun da yalnızca hastalısız sağkalım üzerinde kötü prognostik etki gösterdiğini bulmuşlardır.¹

Kategori III Faktörleri

CAP' a göre kategori III (prognostik değerini gösteren yeterli çalışma yok) içinde DNA ploidi ve proliferasyon indeksleri, MSI ve 18q delesyonları dışındaki Timidilat Sentaz (TS), dihidropirimidin dehidrogenaz (DPD) ve p53 mutasyon durumu gibi tüm moleküler belirteçler alınmıştır. Perinöral invazyon, mikrovasküler yoğunluk, tümör hücresi proteinleri veya karbonhidratları, peritümöral fibrozis, peritümöral inflamatuvar yanıt ve fokal nöroendokrin diferansiyasyonda bu grupta yer almaktadır.⁴⁶

Perinöral İnvazyon

Daha önce yapılan çalışmalarda perinöral invazyonla rekürrens riskinin arttığı ve 5 yıllık sağkalımda kötüleşme olduğu ileri sürülmüştür. Çok yönlü

yapılan analizlerde ise perinöral invazyonun prognostik öneminin yeterli düzeyde olmadığı görülmüştür.

Tümör Büyüklüğü ve Konfigürasyonu

Yapılan çalışmalarda hem tümör büyüklüğünün hem de konfigürasyonunun prognostik önem taşımadığı gösterilmiştir. Yayınlanan bir derlemede 319 hasta incelenmiş ve Dukes B2 olan tümörlerinin ortalama çapı C2 ($p<0.001$) ve D ($p<0.05$) olan tümörlerden daha büyük olarak saptanmış. Ancak 5 yıllık sağkalıma etkisi olmadığı saptanmıştır.

Tümör konfigürasyonu ekzofitik (mantarimsı), endofitik (ülseratif), diffüz infiltratif (linitis plastika) veya annüler olarak tanımlanmaktadır. Çalışmaların çoğunda bu konfigürasyonların hiç birisinin bağımsız prognostik önem taşımadığı gösterilmiştir. Linitis plastika kötü prognoz ile ilişkili olmasına rağmen, taşlı yüzük hücreli karsinom ile birlikte daha çok görüldüğünden bu etki primer tümörün özelliklerine bağlanmaktadır.¹

Hemoraji ve Rektal Kanama

Kanama ile kendini gösteren tümörlerin, daha erken saptandığı ve bu nedenle daha iyi bir prognozla seyredebilecekleri bir spekülasyon olarak ortaya atılmıştır. Ancak verilerle bu doğrulanmamıştır. GITSG çalışmasında yapılan çok yönlü analizin sonucunda, melena veya rektal kanama ile başvuran hastalarda uzun vadedeki sağkalım üzerinde olumlu prognostik etkinin olduğu görülmesine rağmen istatistiksel açıdan anlamlılık saptanmamıştır. Yapılan bir geniş çalışmada tek yönlü analiz ile prognostik önemi gösterilmesine rağmen, çok yönlü analizlerde gösterilmemiştir. Sonuç olarak, kanamanın prognostik önem taşımadığı görülmektedir.¹

Primer Tümör Yerleşim Yeri

NSABP verilerine göre sağ tarafa yerleşen tümörlerin sola yerleşen tümörlerden daha kötü prognoz gösterdikleri ileri sürülmüştür. Ancak bazı çalışmalarda da solda yerleşim gösterenlerin daha kötü prognoz sergiledikleri bildirilmiştir. Birkaç çalışmada ise primer tümör lokalizasyonunun prognostik önemi olmadığı gösterilmiştir. GITSG çalışmasında da tümör yerleşiminin prognostik değeri az olarak bulunmuştur.¹

Vücut Kitle İndeksi (VKİ)

Obesite, kolon kanseri gelişiminde olası bir risk faktörü olarak bilinmektedir. Yüksek riskli Evre II ve Evre III kolon kanserli 3759 hastada VKİ' in uzun dönemdeki sonuçları ve tedavi toksisitesi ile olan ilişkisi araştırılmış. VKİ yüksek olan kolon kanserli kadınlarda ölüm oranları anlamlı derecede daha kötü olarak bulunmuş. Erkek hastalarda ise VKİ' in kolon kanserinin uzun dönem sonuçları üzerinde etkisi olmadığı saptanmıştır. VKİ yüksek olan erkek ve kadın hastalarda 3. ve 4. derece lökopeni ile 3. derece veya daha ağır diğer toksisitelerin görülme sıklığı normal kilolu olan hastalardan daha az görülmektedir.⁵¹

Diyabetes Mellitus (DM)

Kolon kanserli benzer hasta gruplarında DM'in uzun dönem sonuçlar üzerindeki etkileri araştırılmış. 5 yıllık takip sonucunda DM' si olan hastalarda DM olmayan hastalara göre sağkalım oranları daha kötü olarak bulunmuştur (%48'e karşılık %59, $p < 0.0001$). DM' si olan hastalarda tüm sağkalım (%57' ye karşılık %66, $p < 0.0001$) ve hastalısız sağkalım da daha kötü olarak saptanmıştır (%56' ya karşılık %64, $p = 0,012$). Diyabetik hastalarda ortalama yaşam süresi 6 yıl iken, diyabetik olmayanlarda ise 11,3 yıl bulunmuş.⁵⁴

Kan Transfüzyonu

Perioperatif kan transfüzyonu ile kolorektal kanserde rekürrens arasındaki ilişki tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar transfüzyon gereken hastalarda hastalısız yaşam süresinin daha kötü olduğunu bildirirken, çok yönlü yapılan bir prospektif çalışmada ise kan transfüzyonun böyle bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Yapılan bir retrospektif analizde de Evre II veya Evre III kolorektal kanserli 1051 hasta değerlendirilmiş. Kan ürünlerinin hastalık rekürrensini etkilemediği ve transfüzyon gerekliliğinin altta yatan hastalığa bağlı olduğu bulunmuştur.¹

MOLEKÜLER BELİRTEÇLER

Moleküler biyolojik yöntemlerin gelişimine paralel olarak, kolorektal kanser hastalarında pek çok prognostik belirteç adayı tanımlanmıştır. Ancak kolorektal kanserlerin değerlendirilmesinde tek bir belirtecin kullanılması yerine birbirleriyle etkileşim gösteren birçok belirtecin birlikte değerlendirilmesi önerilmektedir.⁶

Şimdiye kadar araştırılan markerlerin hiçbiri klinik kullanımda rutin uygulanacak kadar yeterli değildir. Ancak moleküler markerlerin çalışmaları artarak devam etmektedir. Bunlardan en çok araştırılan moleküler belirteçler; TS (Timidilat Sentaz) ve p53 genidir.

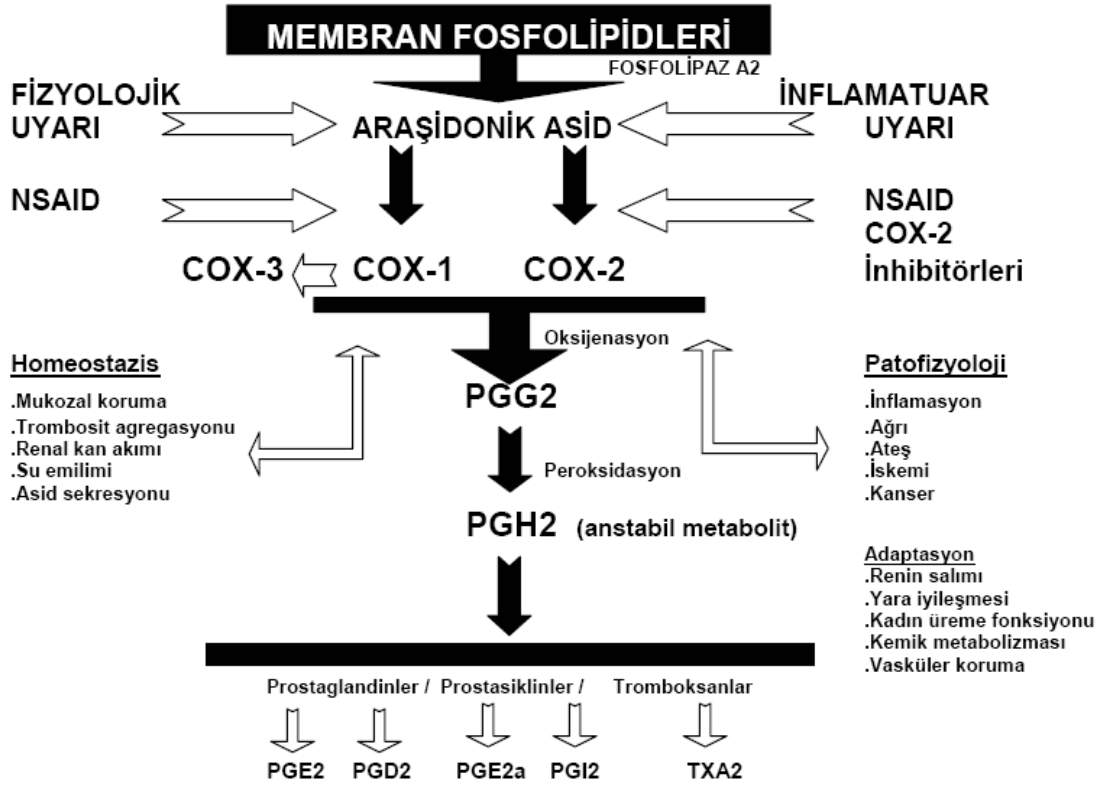
Prognostik önemi üzerinde çelişkiler olmasına rağmen, başlangıçta yapılan çalışmalarda TS seviyesinin yüksek olması 5-FU içeren kemoterapilere direncin bir göstergesi olabileceği ileri sürülmüştür.

p53 geni, 17. kromozom üzerinde yerleşmiş tümör baskılayıcı gen olarak bilinmektedir. Anormal p53 kolorektal karsinogenezde rol almaktadır. Buradaki mutasyon hücre siklusunda durmaya ve apoptozisten kaçmaya neden olarak, çoklu genetik değişimler ile tümörün büyümesine neden olabilmektedir. Evre II ve evre III opere olan kolorektal kanserli 141 hastanın verilerinin incelediği bir derlemede p53 mutasyonunun evre II olan hastalarda ölüm riskini 2.82 kat arttırdığı, evre III kolon karsinomlu hastalarda ise ölüm riskini 2.39 kat arttırdığı saptanmıştır. Southwest Oncology Group (SWOG) çalışmasında evre II kolon karsinomlu 66, evre III 163 hastanın %63'ünde p53 ekspresyonu saptanmış ve evre III olan hastalarda iyi prognozla ilişkili olduğu saptanmış. Benzer etki evre II hastalarında gözlenmemiştir. Sonuç olarak p53'ün prognostik faktör olarak yararı tartışmalıdır.⁵⁵

SİKLOOKSİJENAZLAR VE PROSTOGLANDİN SENTEZİ

Siklooksijenazlar (COX), prostoglandin (PG) sentezinde rol oynayan anahtar enzimlerdir. Hücre membranına bağlı araşidonik asit (5,8,11,14-eikosatetraenoik asit) fosfolipaz A2 tarafından katalize edilmektedir. Serbest kalan araşidonattan PG sentezini sağlayan COX enzimlerinin siklooksijenaz ve peroksidaz aktiviteleri vardır. Serbest araşidonik asitten COX enziminin siklooksijenaz etkisiyle ilk önce kararsız bir molekül olan prostoglandin G2 (PGG2) oluşur. PGG2, COX enziminin peroksidaz aktivitesiyle hızlıca PGH2'ye

dönüşür. Bundan sonraki adımda ise PGH2 öncü molekülünden spesifik izomerazlar ile PGE2, PGF2 α , PGD2, PGI2 ve Tromboksan A2 (TxA2) sentezlenir (Şekil 5). PG'lerin farklı dokulardaki spesifik izomeraz yoğunluğuna göre sentezleri değişmektedir. PG'ler hücrenin diferansiyasyon ve proliferasyonunu etkileyen önemli otokrin ve parakrin mediatörlerdir.



Şekil 5. COX enzimleri ve Eikosanoitlerin sentezi. Fizyolojik ve patofizyolojik etkileri.

COX enziminin, COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki izoformu bulunur. Bir diğer form olan COX-3 serebral kortekste bulunur ve asetaminofene duyarlı bir COX-1 varyantı olarak bilinir. COX-1 ve COX-2 enzimleri yaklaşık 68 kDa ağırlığında proteinlerdir. Her iki enzimde aminoasit dizilimi %60 benzer olmasına rağmen COX-2' de 120. pozisyondaki izolösin yerine valin aminoasiti yer almaktadır. Bu da COX-2' nin uyarılması ve selektif COX-2 inhibitörleri etkisi için özel "yan cep" oluşmasını sağlamaktadır. Bu "yan cep" COX-2 'ye daha aktif olan bir bölge sağlamaktadır. COX enzimleri endoplazmik retikulum lümenal yüzeyinde ve çekirdek zarında bulunan membrana bağlı hemeproteinlerdir.⁵⁶

COX-1, 9. kromozomun uzun kolu üzerinde yerleşmiş 11 eksondan oluşan, 2.8 kb mRNA üreten, 576 aminoasit içeren proteini kodlayan bir gen dir. Yaklaşık 68 kD ağırlığında protein sentezler. COX-1 dokuların çoğunda devamlı eksprese olmaktadır ve daha çok fizyolojik işlevlerde görev alan PG' lerin sentezini sağlamaktadır. Örneğin; gastrointestinal sistemi koruma (PGE2,PGI2), renal kan akımını ayarlama (PGE2, PGI2), vasküler kan akımını ayarlama (PGI2,TxA2), rahim fonksiyonları, embriyo implantasyonu ve doğum (PGF2), uyku ve uyanıklık döngüsü (PGD2), vücut ısısının (PGE2) ayarlanması gibi.⁵⁷

COX-2, 1. kromozomun uzun kolunda yerleşmiş 10 ekson ve 587 aminoasitten oluşan 8 kb' lık bir gen dir. Promotor bölgeleri TATA sekuansı ve inflamatuvar mediatörlere duyarlı transkripsiyon faktörü taşırlar. Bu nedenle hızlıca uyarılabilmektedir. COX-2 enzimi inflamasyon ve neoplastik dokularda daha çok eksprese olmakta ve inflamasyonda görev alan PG' lerin sentezine aracılık etmektedir. Normal dokularda aktivitesi ölçülemeyecek kadar az olmasına rağmen bazı dokularda inflamasyondan bağımsız etikleri de vardır. Normal şartlar altında hücrelerde COX-2 aktivitesi bulunmazken bakteriyel, lipopolisakkaritler, sitokinler (IL-1, IL-2, IL-8) ve TNF alfa gibi uyarılardan sonra makrofajlarda, monositlerde, sinovyal hücrelerde, kondrositlerde, fibroblastlarda ve endotel hücrelerinde saatler içinde COX-2 ekspresyonu 10-80 kat artabilir (Tablo 6). COX-2 nin bunun dışında bazı noninflamatuvar dokularda da eksprese edilebilir (Tablo 7).^{58,59,60}

COX-2 Ekspresyonunun Moleküler Düzenlemesi

COX enzimleri arasındaki en önemli fark; COX-1 enziminin amino terminalinde fazla 17 aminoasit zinciri olması, COX-2 enziminde ise karboksi terminal uçta 18 aminoasitten oluşan ek zincir olmasıdır. COX-1 ve COX-2 izoenzimlerin regülasyonu hem transkripsiyon hem de translasyon seviyesinde birbirinden farklıdır. COX-2 tipik olarak 3'-translasyon olmayan Shaw-Kamen zincirlerinin birkaç kopyasını içerir. Bu da mRNA parçalanmasını hızlandırmaktadır. Bu yüzden COX-2 kopyaları hızlıca parçalanmaktadır. Ancak inflamatuvar yanıtlar esnasında, proinflamatuvar sitokinler ile bu kopyaların stabilizasyonu olmakta ve COX-2 protein seviyesi de artmaktadır. COX-2' in transkripsiyonal ve translasyonel regülasyonu ekspresyonunun kontrolünde önemlidir.⁶¹

Tablo 6. COX-1 ve COX -2' nin temel özelliklerin karşılaştırılması

Özellik	COX-1	COX-2
Ekspresyon	Sürekli	İndüklenebilir
Protein büyüklüğü	68 kDa	72 kDa
Gen büyüklüğü	22 kb	8 kb
mRNA	2.8 kb	4,5 kb ve AU' dan zengin bölgeler
Kromozom	9q32-q33.3	1q25.2-q25.3
Yerleşim	Endoplazmik retikulum ve çekirdek zarı	Endoplazmik retikulum ve çekirdek zarı
Ekspresyon	Trombosit, böbrek, mide ve pek çok doku	Böbrek korteksi, beyin bazı bölgeleri, aktive makrofajlar, inflamasyon esnasında (TNF α , IL1 β , Epidermal büyüme faktörü ...) pek çok doku veya hücreden

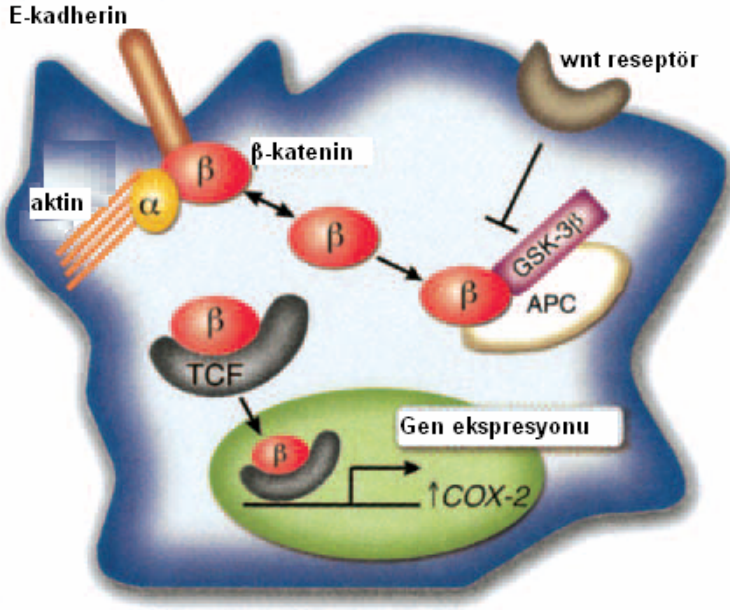
Tablo 7. COX-2' nin inflamasyon dışı fonksiyonları

Doku	COX-2 ekspresyonu	Olası fonksiyonlar
Böbrek	Jukstaglomerüler aparat	İntravasküler volüm regülasyonu
Beyin	Endotelial hücreler	Ateş yanıtı (?)
	Kortikal nöronlar	Nöronlar arası bağlantı, SSS gelişmesi, öğrenme ve hafıza
Kemik	Osteoblastlar	Osteoblastik differansiyasyon Kemik remodeling' nin düzenlemesi
Gastrointestinal sistem	İntestinal Epitel	Mukozal sıvı salgılama
	Mide	Ülser iyileşmesi
Uterus	Embriyo implantasyonu	?

Onkogenler, büyüme faktörleri, sitokinler, kemoterapi ilaçları, tümör promoterleri gibi bir çok uyarı ile COX-2 ekspresyonu artırmaktadır. COX-2' nin uyarılması kolon, akciğer, meme, prostat, safra kesesi, mide ve özefagus gibi organların epitel orijinli değişik premalign ve malign lezyonlarda görülmektedir. Kolorektal kanserlerinde COX-2 proteininin aşırı ekspresyonu birkaç farklı mekanizma ile olmaktadır. Bunlardan biri, COX-2 vasküler endotelial hücrelerde hipoksi ile aktive olan NF κ B ile regüle olabilir. Kanserli epitel hücrelerinde COX-2 aşırı ekspresyonu normal APC aracılığıyla da indüklenebilmektedir. Wild-tip APC' nin temel rolü β -katenine bağlanma ve indirgemektir. β -katenin sitoplazmada hem serbest hem de membrana bağlı olarak bulunabilir. Membrana bağlı β -katenin fonksiyonlarını, transmembran glikoprotein E-kadherin adhezyon molekülü aracılığıyla yapmaktadır. E-kadherin, epitel hücre-hücre, hücre-matriks adezyon ve migrasyonundan sorumludur. Normal şartlarda sitozolik β -katenin, wild-tip APC protein ve yardımcı iki protein (aksin ve glikojen sentaz kinaz -3) ile birlikte oluşan kompleksin aktivasyonu ile parçalanmaktadır. APC geni mutasyonunda, APC proteinin β -katenin bağlama bölgelerinde fonksiyon bozukluğu gelişmektedir. Bu da serbest β -kateninin artmasına ve çekirdeğe transloke olmasına yol açmaktadır. Burada T-cell faktör 4 (TCF-4, bir lenfoid geliştiren faktör [LEF-1]) ile birlikte bir transkripsiyon faktörü gibi etki göstererek adenomdan-karsinom gelişimine kadar ki süreç boyunca kompleks etki gösterir (Şekil 6).^{62,63}

Transkripsiyonal olarak aktif β -katenin ve TCF kompleksleri, c-myc, siklin D1, PPAR δ ve COX-2 gibi spesifik genlerin ortak bağlanma bölgesi olan TCF-4' e bağlanmaktadır. COX-2, wild-tip APC indüksiyonu ile azalırken (down-regülasyon), mutant APC durumunda β -katenin nükleer birikimi ile artmaktadır (up-regülasyon).⁶³

Kolon kanser hücrelerinde COX-2 ekspresyonu transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel mekanizmalarla düzenlenmektedir (Şekil 7).⁶³

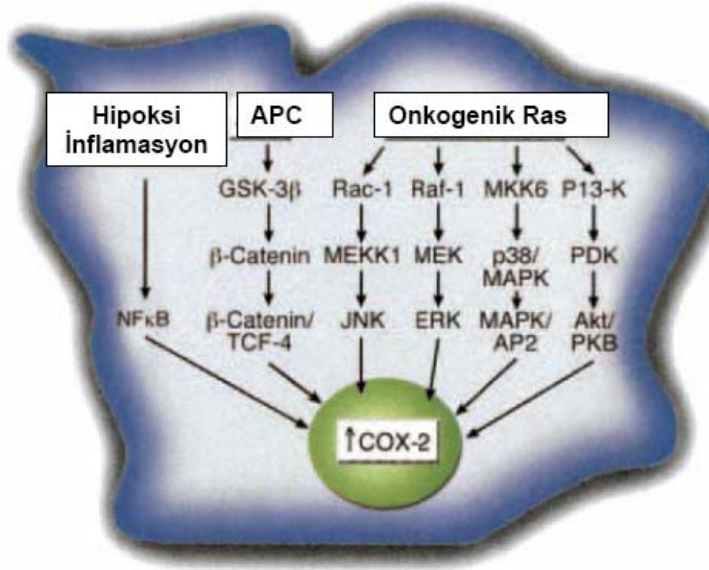


Şekil 6. COX-2 ve APC yolağı. APC ve COX-2. Sitoplazmik β -kateninin, wild-tip adenomatöz polipozis koli (APC) protein, yardımcı proteinler kompleksi (aktin ve glikojen sentaz kinaz [GSK]-3 β) ile degradasyonu. APC mutasyonu protein sentezine yol açar ve serbest β -kateninin nükleusa geçişine izin verir. COX-2, siklooksijenaz-2; wnt, *wingless* and *Int-1* genleri.

Kolorektal Kanser ve COX-2 Ekspresyonu

Romatoid artritli hastaların takipleriyle yapılan çalışmalar, bu hastalarda gastrointestinal kanserinin daha az görüldüğünü ortaya çıkartmıştır. Bu olguların ortak özellikleri yaygın olarak NSAİ ilaç kullanmalarıdır. Bu sebeple NSAİ ilaçların bu olgulardaki kolon kanseri görülme sıklığındaki azalıştan sorumlu olabileceği düşünülmüştür. NSAİ ilaçların antineoplastik etkileri gözlemsel ve kontrollü olarak yapılan çalışmalarda, kolorektal kanser riskini % 40-50 oranında azalttığını gösteren epidemiyolojik çalışmalarla desteklenmiştir.^{15,16,17,18}

NSAİ ilaçların bu fonksiyonlarının mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Kansere hücrelerinde neoplastik büyümeyi inhibe edebilme özellikleri halen yoğun olarak araştırılmaktadır. NSAİ ilaçların en iyi bilinen farmakolojik özelliklerinden birisi prostaglandin sentezini katalizleyen COX enzimini inhibe etmeleridir.^{19,20,21}



Şekil 7. COX-2 aktivasyon yolları. NFκB, nuclear factor κB; APC, adenomatozis poliposis coli; GSK, glikojen sentaz kinaz; TCF, T-hücre factör 4; ras, rat sarcoma; MAPK, mitogen-aktive eden protein kinaz; ERK, ekstraselüler regüle eden kinaz; MKK, MAPK kinaz; MEK, MAPK/ERK kinaz; JNK, c-Jun NH2-terminal kinaz; PI3-K, fosfatidilinositol 3'-kinaz; PDK, 3-fosfoinositide-bağlı kinaz; Akt, protein kinaz B (PKB).

COX-2, mRNA ve proteini seviyesi epitel ve epitel olmayan dokulardan gelişen premalign ve malign dokularda yüksek olarak saptanmıştır. Gastrik, hepatik, özefagial, pankreatik, baş boyun, akciğer, safra kesesi, serviks, endometrium, deri ve kolorektal kanserlerde artmış COX-2 ekspresyonu gösterilmiştir. Daha önceki yapılan çalışmalarda hem COX-1 hem de COX-2' in normal mukozal epitel hücrelerinde, mononükleer hücrelerde, vasküler endotel hücrelerde ve düz kas hücrelerinde eksprese olduğu gösterilmiştir. Ancak normal mukozayla karşılaştırıldığında malign dokularda COX-2 ekspresyonunun bariz arttığı görülmüştür. Fakat COX-1 düzeyinde değişiklik olmamıştır. COX-2 kolorektal poliplerin %40-50' sinde KRK' in %85-90' ında eksprese olmaktadır. Laboratuar deneylerinde azoksimetanla uyarılan fare kolonik tümör modelinde COX-2 ekspresyonunun normal kolonik dokuya göre 50 kat daha fazla eksprese olduğu görülmüştür. Ratlarda intestinal epitel hücrelerinde COX-2 gen ekspresyonunun onkojenik potansiyeli arttırdığı gözlenmiştir. Adenomatozis poliposis coli (APC^{delta716}) farelerde yapılan

çalışmada COX-2 overekspresyonu ile kolon karsinogenezi arasında özel bir neden-sonuç ilişkisi olduğu saptanmıştır.^{63,64,65,66}

COX-2' nin uyarılmasının araşidonik asit oksidasyonunu katalize etmesi sonucunda prostaglandinlerin ve diğer reaktif yan ürünlerin karsinogenezi başlattığı yönünde düşünceler artmaktadır. Bazı çalışmalarda prostaglandin yapımından bağımsız olarak yüksek konsantrasyonda serbest araşidonik asidin apoptozisi uyardığı gösterilmiştir. Bu nedenle, COX-2 düzeyinin yükselmesi hücre içindeki serbest araşidonik asit düzeyini azaltır ve apoptozis baskılanır.⁶⁷

COX-2'nin enzimatik fonksiyonu ile ortaya çıkan prostaglandinlerin, hücre büyümesi, apoptoz, anjiogenez veya kansere neden olan diğer basamakları etkilemektedir. Prostaglandinlerin hücre gelişimin birçok aşamasında rol aldığı ve hücre büyüme ve diferansiyasyonunda belirleyici rolü olduğu gösterilmiştir. Örneğin COX-2'nin uyarılması sonucunda intestinal epitel hücrelerinde adezyonun arttığı ve apoptotik uyarılara yanıtın azaldığı gösterilmiştir.^{24,64}

Sonuç olarak COX-2'nin tümör gelişiminde etkisi olduğu ve yapılan çalışmalarla bu etkilerini; PGE2 üretimine bağımlı ve PG' den bağımsız olarak göstermektedir.

PGE2 üretiminden bağımsız etkiler

- Karsinogenezin aktivasyonu
- Malondialdehid üretimi
- Serbest araşidonik asit düzeylerinin azalması

PGE2 üretimine bağımlı etkiler

- Hücre proliferasyonunun uyarılması
- Apoptozis inhibisyonu
- Anjiogenezin uyarılması
- Hücre motilitesinin artması
- Metastatik potansiyelin artması
- Lokal immünsüpresyonun uyarılması

PGE2 üretiminden bağımsız mekanizma; ilk olarak COX-2, kolorektal karsinogenezis gelişiminde direk olarak karsinogenezi aktive eder. Fenoller,

halojenize pestisitler, aflatoksin ve polisiklik hidrokarbonlar COX-2 peroksidaz aktivitesini etkileyebilir. İkinci olarak ise PGH₂, malondialdehide dönüşebilir ve bu direk mutajen olarak deoksinukleosidi etkileyebilir. Sonuç olarak, proapoptotik aktiviteye sahip ve COX substratı olan serbest araşidonik asid seviyeleri COX-2 aktivasyonu tarafından azaltılmaktadır.⁶⁷

PGE₂ üretimine bağımlı mekanizma; kolorektal kanserlerde PGE₂ düzeyi artar. PGE₂ hücre proliferasyonunu sağlayarak tümörün gelişimine neden olur. Hücre proliferasyonuna sekonder olarak PGE₂, epidermal growth faktör reseptör transaktivasyonunu ve BCL-2 ekspresyonunu arttırarak ve apoptozisi inhibe eder. İlave olarak PGE₂, kanser hücrelerinin metastatik potansiyelini ve hareketlerini artırır. Aynı zamanda PGE₂ lokal immunsupresiftir. Bu da tümör gelişimi için önemlidir. Sonuç olarak, COX-2 ekspresyonu anjiogenezisi indükler. Bu etki de tümör anjiogenezisini sağlar ve bunun sonucunda da tümör büyüyüp metastaz yapar. COX-2 aynı zamanda, VEGF (vascular endothelial growth factor; vasküler endotelial büyüme faktör) gibi proanjiogenik faktörlerin salınmamsa sebep olur. Tümörde COX-2 ekspresyonu, VEGF salınımı ve mikrodamar yoğunluğu ile ilişkilidir.^{65,66}

Fujita ve arkadaşları, KRK hastalarında COX-2 ve PGE₂ düzeyleri ile lenf nodu ve/veya uzak metastaz, tümör içindeki mikrovasküler dansite (MVD) ve vasküler VEGF ekspresyonu arasında ilişki olduğunu bulmuşlar.⁶⁸

İmmünohistokimyasal çalışmalar hastanın yaşam süresi ile artmış COX-2 ekspresyonu arasında belirgin bir ilişki olduğunu göstermektedir. COX-2 varlığının kolon kanserlerinde kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmektedir.⁶³

Sheehan ve arkadaşları, COX-2 ekspresyonu az olan tümörlerde sağkalımın daha uzun olduğunu ve ekspresyonun fazla olduğu tümörlerde prognozun daha kötü olduğunu bulmuşlar.⁶⁹

Tomozawa ve arkadaşları da, COX-2 ekspresyonu ile hematojen metastaz arasında bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Son klinik çalışmalar insan akciğer, mide ve meme kanserlerinde de COX-2 ekspresyonunun kötü klinik prognozla ilişkisini desteklemektedir. Genel olarak COX-2 ekspresyonu iyi-orta differansiye kolorektal kanserlerde daha fazla olmaktadır.⁷⁰

BCL-2 PROTEİNİ VE KOLOREKTAL KANSER

Tümör kinetik çalışmaları, tümör büyümesinin yalnızca artmış hücre proliferasyonu sonucu olmadığı aynı şekilde azalmış apoptozis oranının da etkisi olduğunu desteklemektedir. Spesifik onkogenlerin aktivasyonu veya tümör süpressör genlerin mutasyonu tümör agresifliği ve kötü klinik gidişat ile ilişkilidir.^{6,7}

Apoptozun kontrolündeki anormallikler ve bozukluklar karsinogenezde önemli rol oynarlar. Apoptozis pek çok gen tarafından kontrol edilmektedir. Bunlardan biri de hücre siklusu regülasyonu ve apoptoziste önemli rol oynayan ve anti-apoptotik bir protein olan BCL-2 proteindir. BCL-2 hem normal hem de transforme olan hücrelerde apoptozisi engelleyebilmektedir. BCL-2' nin kolorektal karsinogenezin erken evrelerinde rolü olduğuna inanılmaktadır. BCL-2 ekspresyonu ilk olarak folliküler B-hücreli lenfomalarda saptanmıştır. BCL-2 proteini 26 kD ağırlığında ve 239 aminoasitten oluşan, başta mitokondri olmak üzere hücre içi organellerin membranlarında bulunan integral bir membran proteindir. Gen 18. kromozomda yerleşmiştir (18q21) fakat 14. kromozomdaki immunglobulin ağır zincir lokusuna transloke t(14:18)(q32-q31) olarak aktif hale gelir.⁷¹

Apoptozun regülasyonu BCL-2 /Bax gen ailesi ile sağlanır. Bu ailenin 20 üyesi tanımlanmıştır; bunlardan bazıları BCL-2, Bcl-xL, Bcl-w, Boo, Mcl-1 gibi apoptoz inhibitörüdür (antiapoptotik), bazıları ise apoptozu uyarır ve proapoptotik genler olarak tanımlanır. Proapoptotik genler: Bax (Bax, Bak ve Bok) ve BH3 (Bik, Blk, Hrk, BNIP3, Bad, Bid gibi) olmak üzere iki alt aileye sahiptir. Bcl-2/Bax gen ailesinin ürünleri, mitokondri ve çekirdek zarlarının yanı sıra endoplazmik retikulum zarının üzerinde de yer alırlar ve homodimer ya da heterodimerler şeklinde kompleks oluşturarak çalışırlar. Genel olarak, antiapoptotik proteinler mitokondri dışı zarında bulunurken, proapoptotik proteinler ise sitoplazmada bulunurlar. Örneğin; BCL-2' in Bax ile olan etkileşiminde BCL-2' in oranının daha yüksek olması hücrenin yaşamını sürdürmesini sağlarken, Bax'ın daha fazla olması durumunda hücre ölüme gitmektedir. Çeşitli malignitelerde (tiroid, prostat, endometrium ..) BCL-2 ekspresyonunun arttığı bilinmektedir.^{72,73,74}

Yoğun proliferasyon gösteren ve apoptozise karşı duyarlı olan hücrelerde BCL-2 yoğun iken, terminal dönemdeki diferansiye hücrelerde ise yoğunluğu

azalmaktadır. Hücre proliferasyonunu etkilemeden apoptozisi bloke ederek hücrenin yaşam süresini uzatır. Böylece genetik mutasyonların birikimine izin vererek neoplastik gelişime katkıda bulunduğu düşünülmektedir.⁸

Tümör gelişimi ilgili daha önce yapılan çalışmalarda daha çok hücre proliferasyonundaki anormalliklere odaklanmıştır. BCL-2 geninin keşfedilmesi ile hücre ölümü kontrolündeki anormalliklerinde önemi ortaya çıkmıştır. Normal kolon hücresinde BCL-2 protein ekspresyonu kriptin alt yarısında yoğunlaşmaktadır. Bu durum proliferasyon olan (stem cell) kök hücrelerin korumasına yönelik etkisi olduğunu düşündürmektedir. Gastrointestinal sistem tümörlerinde tümöre bitişik mukozada genelde BCL-2 ekspresyonu izlenmezken, displastik ve hiperplastik epitelde ise yoğun ekspresyonu olmaktadır.⁹

KRK' de BCL-2 ekspresyonu ile ilgili yapılan ilk çalışmalarda ekspresyonun fazla olduğu bildirilmiştir. Fakat, daha sonraki yapılan çalışmalarda ise oran giderek azalmaktadır. Ancak çalışmaların çoğunda adenomlarda BCL-2 ekspresyonu fazla iken, karsinomlarda ise bu oranın belirgin azaldığı görülmüştür. BCL-2' in adenomlarda daha çok görülmesi ise azalan apoptozisin karsinom patogeneğinde etkin bir rol oynadığını, kolorektal epitelde apoptozis regülasyonunun başka faktörler tarafından yapıldığını göstermektedir.

Diğer birkaç çalışmada ise BCL-2' nin karsinomlardaki ekspresyon düzeyi adenomlardan daha az olarak bulunmuştur. BCL-2 proteininin adenoma-karsinoma dönüşümünde tamamen yok olarak tespit etmelerine rağmen, BCL-2 mRNA hücresel ekspresyonunun displazi/adenoma-karsinoma dönüşümünde ekspresyonunun arttığını bildirmişlerdir.^{74,75}

Sinicrope ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada BCL-2 proteinini immünohistokimyasal boyama ile intestinal bazal epitelde ve hiperplastik mukozada tespit ederlerken; karsinomlarda ve displastik poliplerde ise yüzey ve parabazal hücrelerde göstermişlerdir. BCL-2 yüksek oranda bulunan karsinomlarda spontan apoptozisin az olduğunu göstermişler. Anormal BCL-2 gen aktivasyonunun erken evre kolorektal karsinogenezde rol aldığını ve apoptozisi inhibe ederek tümör gelişmesini arttırdığını ortaya koymuşlardır.⁷⁶

Kaklamanis ve arkadaşları 224 kolorektal kanserli hastada BCL-2 ekspresyonunu %67 olarak bulmuşlardır. Aynı çalışmada tüm evrelerde BCL-2

ekspresyonunun iyi prognostik etkisi olduğunu saptamışlar. Dukes A ve B evresindeki hastalarda BCL-2 ekspresyonunun daha fazla olduğu bildirilmiştir.¹⁰

Daha önce yapılan birçok çalışmada, KRK' de BCL-2 ekspresyonunun klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi olduğu bildirilmiştir. Çalışmaların bazılarında BCL-2 ekspresyonu iyi klinik gidişat ile ilişkili olarak bulunmasına rağmen, bazılarında ise klinik gidişata etkisi olmadığı bildirilmiştir.^{8,9,10,11,12,13}

Kolorektal kanserlerde COX-2 enzimi etkisiyle en çok üretilen prostanoid PGE2' dir. COX-2 ekspresyonu olan tümörlerde PGE2 etkisiyle indüklenen BCL-2 ekspresyonunun katkısıyla apoptozise direnç geliştiği ileri sürülmüştür. İnsan kolon kanser hücrelerinde zorlanmış COX-2 ekspresyonu ile PGE2 düzeyinde artma olmuştur. Beraberinde BCL-2 düzeyinde 4-5 kat artış olmuştur.²⁴

Daha sonra yapılan bir başka çalışmada ise insan kolon kanser hücresi kültürlerinde COX-2 ekspresyonu olan hücrelerde selektif bir COX-2 inhibitörü olan SC-58125 verilmesiyle apoptozisin arttığını bulmuşlar. Aynı çalışmada, PGE2 tedavisiyle apoptozisin gerilediği ve BCL-2 protein seviyesini de 4-5 kat arttığı gözlenmiştir. Bu nedenle, BCL-2 protein ekspresyonunun COX-2 ürünü olan PGE2 ile düzenlendiği ileri sürülmüştür.²⁶

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, PGE2 ile EGFR (Epidermal growth factor receptor; Epidermal Büyüme Faktör Reseptör) kolon kanser hücrelerinin büyüme ve migrasyonunda sinerjistik etki gösterdikleri kanıtlanmıştır. Bu sonuçlar da COX-2/PGE2 oranının pro-onkogenik etkilerini bir reseptör tirozin kinaz sinyal yolu üzerinden gösterdiklerini desteklemektedir. Eksojen PGE2 verilmesinin ve COX-2 ekspresyonunun BCL-2 seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir. BCL-2, intrinsik apoptotik yolu bloke etmek için mitokondri kaynaklı proapoptotik proteinlerin serbestleşmesini baskılamaktadır. BCL-2 ve Bcl-xL proteinlerin aşırı salınması, normal kolonik kriplere göre kolorektal adenomların çoğunda görülmektedir. Kolonik kriplerin sadece bazalinde yerleşen kök hücrelerde BCL-2 ekspresyonu vardır.⁷⁷

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Aralık 2000 ile Mart 2006 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji Bilim Dalı tarafından takip ve tedavisi yapılan ve Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından patolojik evrelemesi yapılan 73 hasta üzerinde, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı ile retrospektif olarak yapılmıştır. Çalışmaya alınan hastaların demografik (yaş, cinsiyet), biyokimyasal (CEA, LDH düzeyleri) ve patolojik (tümör lokalizasyonu, tümör boyutu, histolojik tip, diferansiyasyon, vasküler ve perinöral invazyon, patolojik, klinik evreleme, takip süresi ve sağkalım) özellikleri Medikal Onkoloji Bilim Dalı tarafından oluşturulan özel dosya ve Patoloji Anabilim Dalı tarafından arşivlenen kayıtlardan alındı. Uygun hastaların patoloji numaralarından Patoloji Anabilim Dalında arşivlenen eski parafin doku blokları çıkartıldı. Bu doku bloklarından uygun olan 57 hastanın doku bloklarında BCL-2 ve COX-2 enzim aktiviteleri, uzman patolog tarafından immünohistokimyasal boyama yapılarak değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal İnceleme

Çalışma grubu olarak belirlenen 73 olguya ait hematoksilen eosin boyalı preparatlar, ışık mikroskopunda yeniden değerlendirildi ve 57 uygun parafin blok seçildi. Bu bloklardan hazırlanan beş mikron kalınlığındaki kesitlere, Avidin Biotin Kompleks immün peroksidaz yöntemi ile monoklonal mouse antikoru, bcl-2 Ab-3 (kullanıma hazır, MS-597-R7, Neomarkers, Labvision, Fremont, ABD) ve epitop spesifik rabbit antikoru COX-2 (kullanıma hazır, RB-9072-R7, Neomarkers, Labvision, Fremont, ABD) uygulandı. İmmünohistokimyasal boyama yönteminde Lab-Vision, Ultravision Large Volume Detection System Anti-Polyvalent, HRP (Kullanıma hazır) biyokimyasal kit ve pozitif kontrol olarak bcl-2 için tümör çevresindeki lenfositler, COX-2 için normal kolon mukozasındaki kript epitel hücreleri kullanıldı. Hazırlanan boyalı preparatlar ışık mikroskopik düzeyde değerlendirildi.

Boyama Evreleri

Kesitler deparafinize edilip alkollerden geçirildikten sonra distile suda yıkandı. Her kesitin çevresi dikkatlice kurulandı. Kesitler nemli ortama konuldu. Bu evreden başlayarak her basamakta kurutma işlemi tekrarlandı.

- 1- Kesitler, içerisinde “peroksidaz blocking reagent” (%3 Hidrojen peroksidaz solusyonu) bulunan şalelerin içerisinde 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Burada amaç, endojen peroksitleri yok ederek non-spesifik zemin boyanmasını azaltmaktı.
- 2- Kesitler üç defa distile su içerisinde beşer dakika süre ile yıkandı.
- 3- Kesitlerin etrafı kurulandıktan sonra içerisinde 0.01 M sitrat buffer (pH 6.0) bulunan şalelerin içerisine yerleştirildi. Mikrodalga fırında Orta (Medium) derecede 5 dakika ısıtıldı. Burada amaç, antijenlerin yeniden kazanılması idi. Kesitler mikrodalga fırından çıkartıldıktan sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı.
- 4- Kesitler soğuduktan sonra üç defa distile suda beşer dakika süreyle yıkandı. Daha sonra önceden hazırlanmış olan fosfat buffered tampon solüsyonunda (PBS 0.01 PH 7.2) üç defa beşer dakika süreyle yıkandı.
Kesitlerin etrafı özel kalemle çizildi.
- 5- Kesitler buharlı kabine dizilerek üzerlerine kesitlerin üzerini tamamen kapatacak şekilde Large Volume Ultra V Block solüsyonu damlatıldı ve 10 dakika bekletildi. Burada amaç non-spesifik antikor bağlanmasını engellemektir.
- 6- Kesitlerin üzerindeki fazla solüsyon dökülerek, PBS solüsyonunda üç defa beşer dakika süreyle yıkandı. Doku çevresindeki fazla solüsyon silinerek uzaklaştırıldı.
- 7- Kesitler buharlı kabine dizilerek üzerlerine kesitlerin üzerini tamamen kapatacak şekilde primer antikor [anti β -katenin primer poliklonal rabbit antikor (dilüsyon 1:100)] damlatıldı. Oda sıcaklığında, nemli ortamda 90 dakika bekletildi.
- 8- Kesitlerin üzerindeki fazla solüsyon dökülerek, PBS solüsyonunda üç defa beşer dakika süreyle yıkandı. Doku çevresindeki fazla solüsyon silinerek uzaklaştırıldı.

- 9- Kesitler buharlı kabine dizilerek üzerlerine, kesitlerin üzerini tamamen kapatacak şekilde sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-Polyvalent) damlatıldı ve 20 dakika bekletildi.
- 10-Kesitlerin üzerindeki fazla solüsyon dökülerek, PBS solusyonunda üç defa beşer dakika yıkandı. Doku çevresindeki fazla solüsyon silinerek uzaklaştırıldı.
- 11-Kesitler buharlı kabine dizilerek üzerlerine, kesitlerin üzerini tamamen kapatacak şekilde Streptavidin Peroksidaz damlatıldı ve 30 dakika bekletildi.
- 12-Kesitlerin üzerindeki fazla solüsyon dökülerek, PBS solusyonunda üç defa beşer dakika yıkandı. Doku çevresindeki fazla solüsyon silinerek uzaklaştırıldı.
- 13-Kesitlere tarife göre hazırlanan AEC subsrat içinde AEC kromojen (3-amino-9 ethyl karbazol) (AEC Subtrate System) bol miktarda damlatıldı ve 10 dakika bekletildi.
- 14- Kesitler PBS solüsyonunda, ardından da distile suda yıkandı.
- 15- Mayer Hematoksilen ile 30-60 saniye süreyle zemin boyanması yapıldı.
- 16- Kesitler çeşme suyunda yıkandı.
- 17-Oda sıcaklığında kurumaya bırakılan kesitler özel kapama maddesiyle (Large volume ultramaount) ile kapatılarak mikroskopik incelemeye hazır hale getirildi.

İmmunreaktivitenin Değerlendirilmesi

Tümör hücrelerinde sitoplazmik BCL-2 boyanma şiddeti değerlendirilirken stromada bulunan lenfositlerin boyanma şiddeti 3+ olarak belirlendi. Normal glandüler epitelde apikal sitoplazmadaki zayıf boyanma 1+ olarak değerlendirilirken, bu ikisi arasındaki boyanma şiddeti 2+ olarak kabul edildi. Seçilen olgulara ait BCL-2 ekspresyonu da semikantitatif olarak bu derecelendirme sistemine göre değerlendirildi.

Tümörlerin istatistiksel analizi için BCL-2 boyanması olmayanlar 0, hafif şiddette boyanması olanlar 1, orta şiddette olanlar 2, kuvvetli boyanması olanlar 3 olarak kodlandırılarak değerlendirildi. Daha sonra BCL-2 boyanması olanlar pozitif, boyanması olmayanlar negatif şeklinde kodlanarak gruplandırıldı.

COX-2 ekspresyonu tümör hücrelerinde sitoplazmik ve membran boyanması şeklinde izlendi. Pozitif boyanan tümör hücrelerindeki boyanma oranı semikantitatif olarak derecelendirildi ve aşağıdaki skalaya göre skorlandı; Boyanma oranı: 0: (% 0-4), 1: (%5-29), 2: (%30-59), 3: (% 60-100). Boyanma şiddeti: 0: negatif, 1+: (zayıf), 2+ (orta derece), 3+ (kuvvetli boyanma). Pozitif boyanan hücrelerin oranı ve boyanma şiddetlerinin toplamı ile toplam skor elde edildi.

COX-2 verileri hem boyanma oranlarına, hem de boyanma şiddetine göre kayıt edildi. Daha sonra boyanma oranı ve boyanma şiddeti toplanarak toplam skor elde edildi. Toplam skora göre de hastalar; toplam skoru 2 ve üzerinde olanlar pozitif, altında olanlar ise negatif olarak gruplandırıldı.

İstatistiksel Veri Kodlama

Hastaların bilgileri bilgisayar ortamında SPSS 11.5 for windows paket programına kayıt edildi ve düzenlendi.

Yaşlarına göre hastalar 50 yaş altı ve 50 yaş ve üzeri olarak gruplara ayrıldı. Cinsiyetlerine göre hastalar kadın ve erkek olarak iki grupta incelendi. Tümörlerin yerleşimi önce çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid ve rektosigmoid kolon şeklinde kodlandırıldı. Daha sonra kolonunun vasküler beslenmesine göre, sağ taraf kolon kanserleri (çekum, çıkan kolon, transvers kolon) proksimal kolon, sol taraf kolon kanserleri (inen kolon, sigmoid kolon, rektosigmoid) distal kolon ve rektum olarak kodlanarak gruplandırıldı. Aynı şekilde kolon ve rektum şeklinde de gruplara ayrılarak kayıt edildi.

Tümör boyutları önce gerçek boyutları ile kayıt edildi. Daha sonra 5 cm altı ve üstü şeklinde kodlanarak gruplandırıldı.

Diferansiyasyon derecelerine göre tümörler iyi, orta ve kötü olarak gruplara ayrıldı.

Tümörlerdeki vasküler ve perinöral invazyon durumu var-yok şeklinde kodlanarak kayıt edildi.

Hastaların patolojik raporlarından TNM sınıflamasına göre, patolojik T evresi; submukoza invazyonu gösterenler pT1, muskularis propriaya kadar invazyon gösterenler pT2, perirektal dokuya ve serozaya kadar tam kat invazyon gösterenler pT3, komşu yapılara invazyon gösterenler de pT4 olarak

sınıflandırılarak kayıt edildi. Lenf nodu sayısına göre, lenf nodu tutulumu yoksa N0, 1-3 lenf nodu tutulumu varsa N1, 4 ve üzerinde lenf nodu tutulumu N2 şeklinde kodlanarak kayıt edildi. Ayrıca lenf nodu tutulumu varsa pozitif yoksa negatif şeklinde kodlanarak gruplara ayırdık. Tanı esnasında metastaz saptananlar M1, metastaz saptanmayanlar M0 olarak kodlandırıldı.

Preoperatif CEA düzeyleri sayısal değerleri ile önce kayıt edildi. Daha sonra 4,3 ng/ml üzerinde olanlar yüksek, altında olanlar normal şeklinde gruplandırıldı. Aynı şekilde preoperatif LDH (laktik dehidrogenaz) düzeyleri sayısal değerleri ile önce kayıt edildi. Daha sonra 480 U/L sınır alınarak üzerinde olanlar yüksek, altında olanlar normal şeklinde iki kategoride gruplandırıldı.

İstatistiksel Değerlendirme

Sürekli değişkenler arasındaki korelasyonlar Spearman rank korelasyon testi ile, iki kategorik değişken arasındaki ilişkinin test edilmesinde ki-kare analizi, bağımsız iki grup karşılaştırılmalarında Mann Whitney u testi, bağımsız ikiden fazla grup karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi, kategorik bir değişken üzerine etkili faktörlerini ortaya koymak amacı ile lojistik regresyon analizleri kullanılmıştır. Yaşam süresi üzerine etkili olan faktörleri ortaya koymak amacı ile Cox regresyon analizi ve ayrıca hayatta kalma eğrilerini oluşturmak için Kaplan Meier yöntemi kullanılmıştır ve Kaplan Meier yaşam eğrilerinin karşılaştırılmasında ise Log-rank istatistiğinden faydalanılmıştır. Analizler SPSS 11.5 for windows paket programında yapılmıştır. $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmamızda 18-72 yaş arası, 57 hastanın patolojik preparatları tekrar değerlendirildi. Hastaların cinsiyete göre yaş dağılımı tablo 8' de özetlenmiştir. Hastaların medyan yaşı 58 idi. Kadınlarda yaş aralığı 18-72, ortanca yaş 57 idi. Erkeklerde yaş aralığı 31-72, ortanca yaş 58 idi. Erkek / Kadın oranı 1,85 idi.

Tablo 8. Cinsiyete göre yaş dağılımı

Cinsiyet	N	%	Ortalama yaş ± SD
Kadın	20	35,1	57.5 ± 16.36
Erkek	37	64,9	55,68 ± 10.27
Toplam	57	100	54,86 ± 12,65

Tümörlerin lokalizasyonuna göre hasta dağılımı Tablo 9' da özetlenmiştir.

Tablo 9. Tümörlerin lokalizasyonu

Tümör lokalizasyonu	N	%
KOLON		
Çekum	3	5,3
Çıkan kolon	11	19,3
Transvers kolon	5	8,8
İnen kolon	5	8,8
Sigmoid kolon	9	15,8
Rektosigmoid	9	15,8
Toplam	42	73,7
REKTUM	15	26,3
Toplam	57	100,0

Tablo 10' da cinsiyete göre tümör yerleşiminin dağılımı gösterilmiştir. Cinsiyet ile tümör yerleşimi arasında istatistiksel anlamlı ilişki yoktu (p=0,2).

Tablo 10. Cinsiyete göre tümör lokalizasyonu

Tümör yerleşimi	Erkek		Kadın		Toplam	
	N	%	N	%	N	%
Prok. kolon	15	26,3	4	7	19	33,3
Distal kolon	14	24,6	9	15,8	23	40,4
Rektum	8	14,0	7	12,3	15	26,3
Toplam	37	64,9	20	35,1	57	100,0

Tümör boyutu en küçük 1 cm iken, en büyük tümör boyutu 13 cm idi. Ortalama tümör boyutu 5.4 ± 2.58 cm idi.

Hastalar 50 yaş altı ve üzeri olarak gruplara ayrıldı. Yaş grupları ile diğer klinikopatolojik parametreler arasında istatistiksel anlamlı birliktelik yoktu. Cinsiyet ile diğer parametreler karşılaştırıldığında da anlamlı ilişki yoktu.

Vasküler invazyon ile perinöral invazyon arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon vardı ($p=0,000$ $r=0,892$).

Hastaların genel demografik özellikleri Tablo11'de özetlenmiştir. Tablo 11'deki vasküler ve perinöral invazyon dışındaki parametreler arasında yapılan korelasyon analizlerinde istatistiksel anlamlı birliktelik saptanmadı.

Tablo 11. Genel demografik özelliklerine göre hasta dağılımı

	N	%
Yaş		
<50	17	29,8
≥50	40	70,2
Cinsiyet		
Kadın	20	35,1
Erkek	37	64,9
Lokalizasyon		
Proksimal kolon	19	33,3
Distal kolon	23	40,4
Rektum	15	26,3
Patolojik tip		
Adenokarsinom	51	89,5
Musinöz adenokarsinom	3	5,3
Taşlı Yüzük Hücreli	3	5,3
Diferansiyasyon		
İyi	31	54,4
Orta	16	28,1
Kötü	10	17,5
Vasküler invazyon		
Yok	34	59,6
Var	23	40,4
Perinöral invazyon		
Yok	33	57,9
Var	24	42,1
Tümör boyutu		
< 5 cm	20	35,1
≥ 5 cm	37	64,9
LDH düzeyi		
Normal	49	86,0
Yüksek	8	14,0
CEA düzeyi		
Normal	42	73,7
Yüksek	15	26,3

Hastaların patolojik evrelendirmesi TNM sınıflamasına göre; tümör invazyon derinliği (T), lenf nodu sayısı (N) ve tanı esnasındaki metastaz durumuna (M) göre hastalar gruplandırıldı (Tablo 12).

Tablo 12. Tümörlerin TNM ve Dukes sınıflamasına göre dağılımları

	N	%
Tümör invazyon derinliği (T evresi)		
pT1	1	1,8
pT2	3	5,3
pT3	33	57,9
pT4	20	35,1
Lenf nodu sayısı (N evresi)		
N0	30	52,6
N1	14	24,6
N2	13	22,8
Metastaz (M evresi)		
M0	34	59,6
M1	23	40,4
Duces' Evre		
B	25	43,9
C	20	35,1
D	12	21,1

İmmünohistokimyasal boyama sonucu tümörlerdeki BCL-2 ekspresyon düzeyi; boyanma olmayanlar negatif, boyanması olanlar ise pozitif olarak değerlendirildi. BCL-2 boyanmasına göre hasta dağılımı Tablo 13' de gösterilmiştir.

Tablo 13. BCL-2 boyanma durumuna göre hasta dağılımı

	N	%
BCL-2 boyanması		
- (yok)	17	29,8
+1 (hafif)	21	36,8
+2 (orta)	12	21,1
+3 (kuvvetli)	7	12,3

Tablo 14. COX-2 boyanma özelliklerine göre hasta dağılımı

	N	%
COX-2 boyanma oranı		
0-4	6	10.5
5-29	23	40.4
30-59	19	33.3
60-100	9	15.8
COX-2 boyanma şiddeti		
0 (yok)	6	10.5
+1 (hafif)	18	31.6
+2 (orta)	24	42.1
+3 (kuvvetli)	9	15.8
COX-2 boyanma skorları		
0	6	10,5
2	11	19,3
3	15	26,3
4	12	21,1
5	12	21,1
6	1	1,8

COX-2 boyanma oranı %5' in altında olanlar negatif, %5 ve üzerinde boyanması olanlar ise pozitif olarak değerlendirildi. Boyanma oranı ve boyanma şiddetinin toplamı ile COX-2 skorları hesaplandı. COX-2 boyanması olmayanlar vakaların %10.5' i oluşturuyordu (Tablo 14).

Tümörlerdeki BCL-2 protein ekspresyonu ile COX-2 proteini ekspresyonu düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki olduğu gözlemlendi (Tablo15).

Tablo 15. BCL-2 ve COX-2 boyanma oranı, şiddeti ve skorunun ilişkisi

	BCL-2 boyanması				P
	-	+1	+2	+3	
Cox-2 boyanma oranı					
0-4	5	1	0	0	P=0,02
5-29	6	9	6	2	
30-59	5	7	4	3	
60-100	1	4	2	2	
Cox-2 boyanma şiddeti					
0 (yok)	5	1	0	0	P=0,03
+1 (zayıf)	4	6	5	3	
+2 (orta)	7	12	4	1	
+3 (kuvvetli)	1	2	3	3	
COX-2 boyanma skorları					
0	5	1	0	0	P=0,01
2	4	5	2	0	
3	2	5	6	2	
4	4	4	1	3	
5	2	6	2	2	
6	0	0	1	0	

COX-2 ve BCL-2 boyanması pozitiflik düzeyleri derecelendirilmeden klinik ve patolojik parametrelerle olan ilişkisi değerlendirildi (Tablo 16).

Tümör yerleşim yeri ile BCL-2 ve COX-2 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki yoktu. Kolon ve rektum tümörleri şeklinde ayrıldıktan sonra yapılan analizde de anlamlı farklılık saptanmadı. Kolon kanserinde BCL-2 ekspresyonu %69 iken, rektum kanserlerinde ise %73,3 idi ($p=0,755$). COX-2 ekspresyonu kolon kanserinde %88,1 iken, rektum kanserinde %93,3 idi ($p=0,570$).

Tümör boyutu ile BCL-2 ve COX-2 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,272$ ve $p=0,211$).

Tümörlerin patolojik tipleri ile BCL-2 arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki vardı ($p= 0,007$). Musinöz karsinomlu 3 hastanın birinde BCL-2 pozitif iken, taşlı yüzük hücreli tümörlerin 3'ünde de BCL-2 ekspresyonu yoktu. Musinöz ve taşlı yüzük hücreli karsinomların hepsinde COX-2 boyanması pozitif olarak saptandı. Ancak istatistiksel açıdan anlamlı değildi. ($p=0,674$)

Tümör diferansiyasyonu ile BCL-2 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardı ($p= 0,000$). Aynı şekilde tümör diferansiyasyonu ile COX-2 ekspresyonu arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı ($p= 0,004$). Diferansiyasyonu iyi olan tümörlerde BCL-2 ve COX-2 ekspresyonu daha fazla idi. Diferansiyasyon azaldıkça BCL-2 ve COX-2 ekspresyonu da azalmaktaydı. İyi diferansiye olan tümörlerde BCL-2 ekspresyonu kötü diferansiye olan tümörlere göre 27 kat, COX-2 ekspresyonu ise 20 kat daha fazla olma olasılığı saptandı (sırasıyla $p=0,03$ ve $p=0,021$).

COX-2 ekspresyonu ile vasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($p= 0,009$). Ancak vasküler invazyon ile BCL-2 ekspresyonu arasında istatistiksel böyle bir ilişki saptanmadı ($p= 0,064$). Lojistik regresyon analizinde ise bu anlamlı ilişki kayboluyordu (COX-2 için $p=0,072$, BCL-2 için $p=0,436$).

Benzer şekilde perinöral invazyon ile COX-2 ekspresyonu arasında da anlamlı ilişki saptanırken ($p=0,002$), BCL-2 ekspresyonu ile perinöral invazyon arasında böyle bir ilişki yoktu ($p= 0,096$).

Tablo 16'da BCL-2 ve COX-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametrelerin karşılaştırılması özetlenmiştir.

Tablo 16. COX-2 ve BCL-2 pozitifliği ile klinikopatolojik değişkenler

	COX-2			BCL-2		
	Negatif	Pozitif	P	Negatif	Pozitif	P
Yaş						
<50	1	16	p=0,503	3	14	p=0,793
≥50	6	34		14	26	
Cins						
Erkek	5	32	p=0,924	10	27	p=0,530
Kadın	2	18		17	13	
Lokalizasyon						
Proksimal kolon	3	16	p=0,645	9	10	p=0,102
Distal kolon	2	21		4	19	
Rektum	2	13		4	11	
Tümör boyutu						
<5 cm	1	19	p=0,320	4	16	p=0,240
≥5 cm	5	32		13	24	
Patolojik tip						
Adenokarsinom	7	44	p=0,674	12	39	p=0,007
Musinöz karsinom	0	3		2	1	
Taşlı Yüzük Hücreli	0	3		3	0	
Diferansiyasyon						
İyi	2	29	p=0,004	4	27	p=0,000
Orta	1	15		5	11	
Kötü	4	6		8	2	
Vasküler invazyon						
Yok	1	33	p=0,009	7	27	p=0,066
Var	6	17		10	13	
Perinöral invazyon						
Yok	1	32	p=0,002	7	26	p=0,096
Var	6	18		10	14	

BCL-2 ve COX-2 ekspresyonu ile lenf nodu tutulumu arasında istatistiksel anlamlı ilişki vardı (sırasıyla $p=0,046$ $r=-0,266$, $p=0,022$ $r=-0,303$).

Lenf nodu tutulumu üzerinde BCL-2 ekspresyonun etkisini, lojistik regresyon modelinde tekrar değerlendirdik. BCL-2' in LN' u üzerinde etkisi vardı ($p=0,026$). Buna göre BCL-2 ekspresyonu olan tümörlerde LN tutulumu riski 0,25 olarak belirlendi. Başka deyişle, BCL-2 pozitifliği durumunda lenf nodu tutulum riski 4 kat azalmaktaydı (OR, 4; %95 GA, 1,17-13,6). Ancak, lojistik regresyon analizinde COX-2 ekspresyonunun lenf nodu tutulumu üzerindeki etkisinin olmadığı görüldü.

Tablo 17. Cox-2 ve Bcl-2 ekspresyonu- Dukes, TNM evre ilişkisi

	COX-2			BCL-2		
	Negatif	Pozitif	P	Negatif	Pozitif	P
T evresi						
pT1	0	1	$p= 0,809$	1	0	$p= 0,263$
pT2	0	3		0	3	
pT3	3	30		9	24	
pT4	3	17		7	13	
N evresi						
N0	1	29	$p= 0,047$	5	25	$p= 0,022$
N1	2	12		6	8	
N2	3	10		6	7	
M evresi						
M0	3	31	$p= 0,600$	9	25	$p= 0,500$
M1	3	20		8	15	
Dukes Evre						
B	0	25	$p= 0,049$	3	22	$p= 0,033$
C	3	17		9	11	
D	3	9		5	7	

Hastalarda tanı esnasındaki LDH düzeyi ile COX-2 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki vardı (p=0,007).

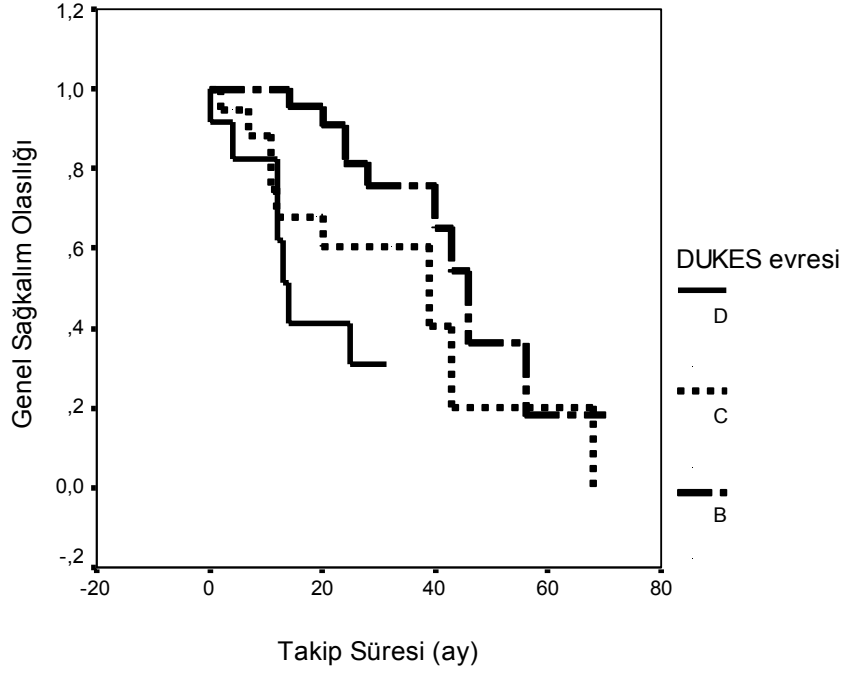
LDH ile BCL-2 ekspresyonu arasında ise ilişki yoktu (p=0,263). CEA düzeyi ile hem COX2 hem de BCL-2 ekspresyonu arasında ilişki olmadığı görüldü. COX-2 ekspresyonun LDH düzeyi üzerindeki etkisini belirlemek için yapılan lojistik regresyon analizde anlamlı etki devam ediyordu (p=0,019). Tablo 18' de COX-2 ve BCL-2' nin LDH, CEA ile ilişkisi özetlenmiştir.

Tablo 18. Cox-2 ve Bcl-2 - LDH ve CEA düzeyleri ilişkisi

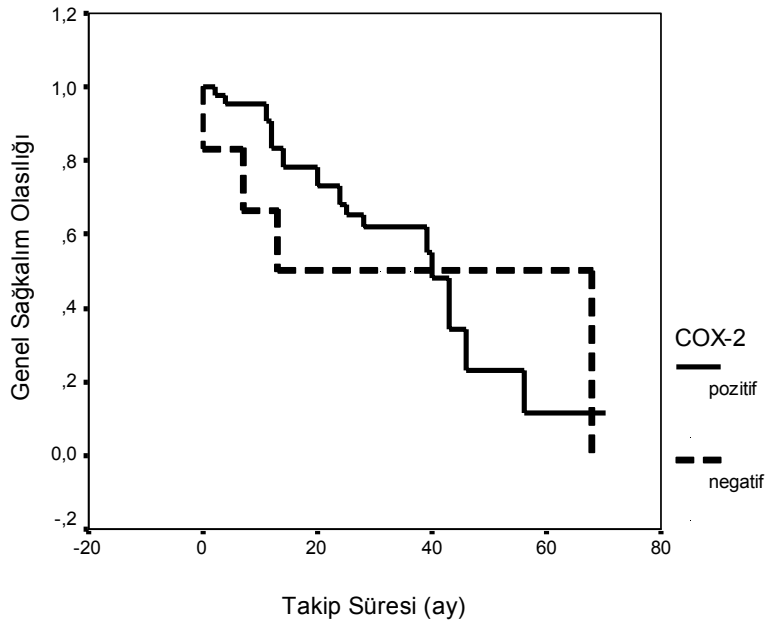
	COX-2			BCL-2		
	Negatif	Pozitif	P	Negatif	Pozitif	P
LDH						
Normal	3	46	p=0,007	14	35	p=0,263
Yüksek	3	5		3	5	
CEA						
Normal	3	39	P=0,164	14	28	p=0,333
Yüksek	3	12		3	12	

Hastaların Duker evresine göre ortalama takip süreleri; B evresindeki hastalarda 45 ay, C evresindeki hastalarda 35 ay, D evresindeki hastalarda 18 ay kadardı. Sağ kalım eğrileri karşılaştırıldığında Duker evreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü (p=0.0097) (Grafik1).

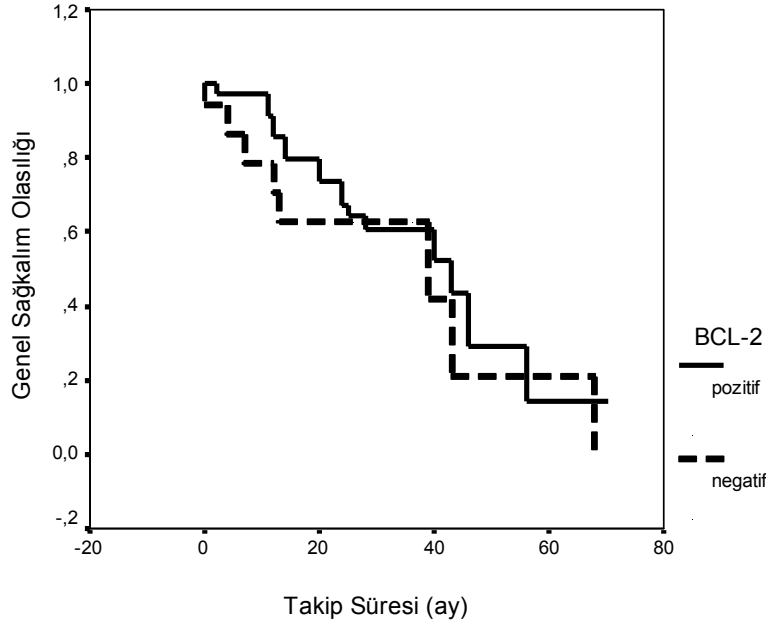
COX-2' nin genel sağkalım üzerinde etkisi yoktu (p=0,673) (Grafik 2). BCL-2 'in genel sağkalım üzerinde etkisi yoktu (p=0,439) (Grafik 3).



Grafik 1. Dukes evresi – sağkalım



Grafik 2. COX-2 ekspresyonu-sağkalım



Grafik 3. BCL-2 ekspresyonu-sağkalım

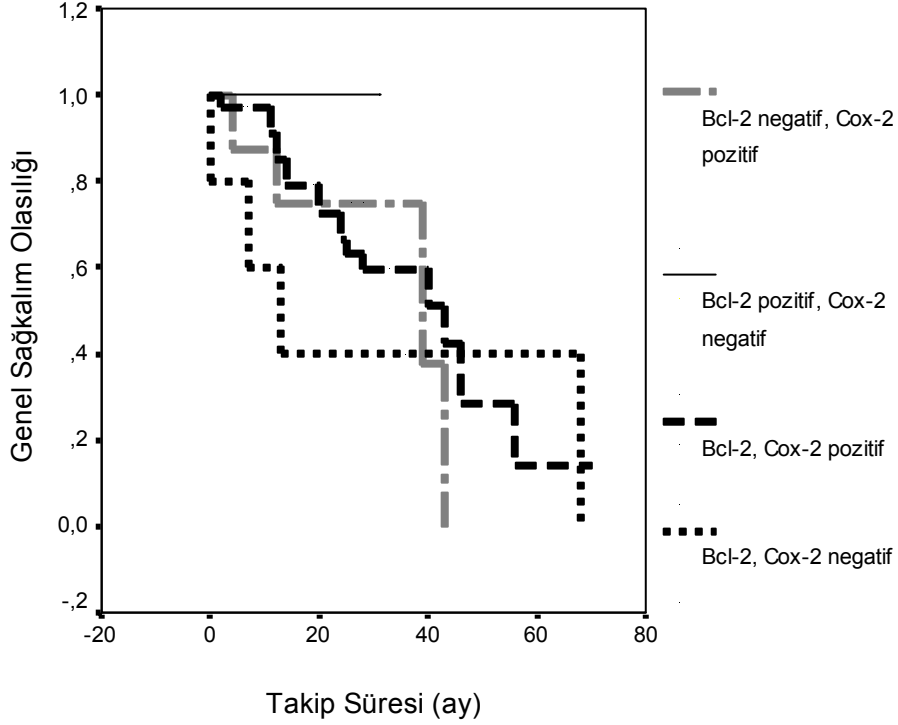
COX-2 ve BCL-2 pozitiflik ve negatifliğine göre gruplar oluşturuldu (Tablo 19). Ancak COX-2 ve BCL-2 gruplarının sağkalım üzerindeki etkileri yoktu ($p=0,755$).

Tablo 19. BCL-2 ve COX-2 gruplarına göre hasta dağılımı

Gruplar	N	%
Bcl-2 ve Cox-2 negatif	5	8,8
Bcl-2 ve Cox-2 pozitif	39	68,4
Bcl-2 pozitif, Cox-2 negatif	1	1,8
Bcl-2 negatif, Cox-2 pozitif	12	21,1
Toplam	57	100,0

Genel sağ kalım üzerinde vasküler invazyon, perinöral invazyon, tümör diferansiyasyonu, lenf nodu, uzak metastaz durumu, BCL-2 ekspresyonu ve COX-2 ekspresyonunun beraber etkileri kesitsel cox regresyon analizi ile değerlendirildi. Buna göre; genel sağ kalım üzerinde lenf nodu ve uzak metastazın prognostik önemi vardı. Lenf nodu tutulumu olması durumunda ölüm riski 2.9 kat artmaktaydı ($p=0,038$) (OR 2.9, %95 GA; 1.05-7.94). Uzak

metastaz varlığında ise ölüm riski 3,48 kat artmaktaydı ($p=0,014$) (OR 3.4 %95 GA; 1.28-9,42).



Grafik 4. BCL-2 ve COX-2 grupları- sağkalım

Tablo 20. Sağkalım-klinikopatolojik parametrelerin kesitsel cox regresyon analizi

	P değeri	Odds ratio (OR)	OR için %95 GA	
			Alt	Üst
Vasküler invazyon	.641	3.889	.013	1170.661
Perinöral invazyon	.799	.478	.002	141.974
Lenf nodu	.038	2.899	1.060	7.933
Uzak metastaz	.014	3.463	1.291	9.290
BCL-2 ekspresyonu	.268	2.293	.527	9.974
COX-2 ekspresyonu	.418	1.896	.403	8.911
Diferansiyasyon	.279	1.588	.688	3.666

Ancak BCL-2 ekspresyonu ile COX-2 ekspresyonunun sağ kalım üzerinde etkisi yoktu. Aynı şekilde vasküler invazyon, perinöral invazyon ve tümör diferansiyasyonu parametrelerinin de sağ kalım üzerinde etkisi yoktu (Tablo 20).

Dukes B evresindeki hastaların sağkalımı üzerinde COX-2 ve BCL-2 ekspresyonun etkileri de cox regresyon analizi ile değerlendirildi. Dukes B evresindeki hastalarda COX-2 ekspresyonunun sağkalım üzerinde etkisi yoktu ($p=0,599$). Aynı şekilde Dukes B evresindeki hastalarda da BCL-2 ekspresyonunun prognostik önemi yoktu. ($p=0,669$)

TARTIŞMA

Kolorektal Kanserler dünyanın değişik toplumlarında farklı sıklıkta görülen onkolojik bir sorundur. Sanayileşmiş ülkelerde görülme sıklığı gelişmekte olan bölgelerden daha fazladır. Gelişmiş bazı ülkelerde en sık görülen kanserlerden biridir. Gelişmiş ülkelerde daha çok görülmesine rağmen, mortalite oranları daha azdır.¹

KRK' in erken evrelerde küratif tedavi sağlanabilmesine rağmen, hastaların genellikle geç dönemde klinik semptom vermesi nedeniyle tedavi başarısı azalmaktadır. Bu hastaların klinik gidişatını etkileyen, tümörlerin agresifliğini ve metastaz riskini belirleyen etkenler yıllardır araştırma konusu olmuştur. Bu nedenle, CAP tarafından prognostik önemi düşünülen faktörler kategorilere ayrılmıştır. Buna göre; TNM sınıflama sistemi, lenf nodu sayısı, perivasküler invazyon, preoperatif CEA düzeyi ve cerrahi sonrası rezidüel tümör prognostik önemi kanıtlanmış faktörler olarak belirlenmiştir.⁴⁶

Kolorektal kanserler de tümör davranışını, tedaviye olan cevabını veya tekrar etme riskini ortaya koymak için klinik araştırmalar yapılmaktadır. Bu çalışmaların temel amacı; kolay, çabuk ve ucuz çalışılabilen ve klinik olarak karar vermede kullanılabilir parametrelerin ortaya çıkarılmasına yöneliktir. Son yıllarda moleküler biyolojik yöntemlerdeki gelişmeler sonucunda monoklonal antikorlar ile immünohistokimyasal boyama yöntemlerinde de gelişmeler sağlanmıştır. Tümör gelişiminde, hücre çoğalmasından çok programlı hücre ölümünün (apoptozis) baskılanmasının önemli olduğu ortaya çıkarıldıktan sonra anti-apoptotik etkisi olan moleküler yolaklar ilgi odağı haline gelmiştir. Normal dokuda bulunmayan ancak tümör dokusunda üretimi artan patolojik belirteçlerin tümörün davranışı üzerindeki etkilerinin araştırılması halen yoğun olarak devam etmektedir. Bu moleküler belirteçlerden BCL-2 ve COX-2' in, hem KRK' in karsinogenezisindeki rolleri hem de KRK' deki prognostik etkileri ilgi odağı olmuştur.^{5,6,7}

COX enzimlerini inhibe eden NSAİ ilaçları kullanan kişilerde, başta kolorektal kanserler olmak üzere tüm gastrointestinal kanserlerin daha az görüldüğü yapılan epidemiyolojik çalışmalarla belirlenmiştir. COX-2 enzimi normal dokuda ölçülemeyecek düzeyde olmasına rağmen, inflamasyon ve neoplastik dokularda eksprese olmakta ve inflamasyonda görev alan

prostoglandinlerin sentezine aracılık etmektedir. COX-2 aşırı ekspresyonunun in-vitro olarak yapılan çalışmalarda apoptozisi azalttığı, anjiyogenezisi, malign hücre invazivliğini, prokarsinojenlerin karsinojenlere dönüşümünü arttırdığı gösterilmiştir. COX-2' in artmış ekspresyonu kolon dışında akciğer, meme, prostat, safra kesesi, mide ve özefagus gibi organların epitel orijinli değişik premalign ve malign lezyonlarında da görülmektedir. COX-2'in çoğu tümörün karsinogenezisinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Özellikle COX-2' in enzimatik fonksiyonu ile ortaya çıkan prostoglandinler hücre büyümesi, apoptozis, anjiogenez veya kansere neden olan diğer basamakları etkilemektedir. Prostoglandinlerin hücre gelişimin birçok aşamasında rol aldığı ve hücre büyüme ve diferansiyasyonunda belirleyici olduğu gösterilmiştir. Örneğin, COX-2'nin uyarılması sonucunda intestinal epitel hücrelerinde adezyonun arttığı ve apoptotik uyarılara yanıtın azaldığı gösterilmiştir. KRK' e karşı hem kemoprevensiyon hem de tedavi amaçlı COX-2 inhibitörlerinin kullanımı ile ilgili çalışmalar son yıllarda yoğun ilgi çekmesine rağmen, bu ilaçların kardiyovasküler yan etkileri nedeniyle kullanımları sınırlandırılmıştır. Ancak COX-2 geni ve ürünlerinin kanserlerle olan ilişkisi araştırılmaya devam etmektedir.^{35,58,59,60}

BCL-2 geni ise apoptozis baskılayıcı gen olarak bilinmektedir. Apoptozisi baskılayarak hücrelerin yaşam süresini arttırmaktadır. Hücre çoğalmasını etkilemeden tümörlerin gelişmesine neden olabilmektedir. Yoğun proliferasyon gösteren ve apoptozise karşı duyarlı olan hücrelerde BCL-2 yoğun iken, terminal dönemdeki hücrelerde ise yoğunluğu azalmaktadır. Normal kolon hücresinde BCL-2 protein ekspresyonu kriptin alt yarısında yoğunlaşmaktadır. Bu durum çoğalan kök hücrelerin korumasına yönelik etkisi olduğunu düşündürmektedir. Hem normal hem de transforme olan hücrelerde, hücre siklusü regülasyonu ve apoptoziste önemli rol oynayan BCL-2 proteinin kolorektal karsinogenezde önemli rol oynadığı, özellikle KRK' in erken dönemlerinde etki gösterdiği yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir.^{8,9,10}

Tsujii ve arkadaşları, intestinal epitel hücrelerinde COX-2 gen ekspresyonunu indüklemişler. COX-2 ekspresyonu olan hücrelerde apoptozisin azaldığını, BCL-2 protein ekspresyonunda ise arttığını gözlemişler.²⁴

Daha sonra yapılan bir başka çalışmada, insan kolon kanser hücresi kültürlerinde COX-2 ekspresyonu olan hücrelerde selektif bir COX-2 inhibitörü

olan SC-58125 verilmesiyle apoptozisin arttığını bildirmişler. Aynı çalışmada, PGE2 tedavisiyle apoptozisin gerilediği ve BCL-2 protein seviyesinin de 4-5 kat arttığı gözlenmiştir. Bu nedenle, BCL-2 protein ekspresyonunun COX-2 ürünü olan PGE2 ile düzenlendiği ileri sürülmüştür.²⁵

Çalışmamızda farklı evrelerdeki kolorektal kanserlerde immünohistokimyasal olarak COX-2 ve BCL-2 proteini immünreaktivitelerini ve klinikopatolojik parametrelerle olan ilişkilerini araştırdık.

Kolorektal kanserin görülme yaşı 50 yaşından sonra belirgin olarak artmaktadır. Kolorektal kanserlerin görülme sıklığı kadınlara göre erkeklerde biraz daha fazladır.^{1,2,3} Çalışmamızdaki hastaların ortalama tanı yaşı $54,86 \pm 12,65$ ve hastaların %70,2' si (40/57) 50 yaş ve üzerindedir. Hastaların %64,9 'u erkek, %35,1'i kadındır. Yaş ve cinsiyet ile hem BCL-2 hem de COX-2 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu ($p=0,5$ ve $p=0,6$).

Literatürde kolorektal kanserde BCL-2 ekspresyonu ile yaş ve cinsiyet arasında anlamlı ilişkinin olduğunu bildiren çalışma olmamasına rağmen, pT1 kolorektal kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada ise COX-2 ekspresyonu ile cinsiyet arasında anlamlı ilişki olduğu bildirilmiştir.⁷⁸

COX-2 ekspresyonu KRK hastalarının %90' ında bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda da COX-2 ekspresyonu vakaların %70-100' ünde bulunduğu bildirilmiştir.^{58,61,62,63}

Buecher ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise COX-2 ekspresyonu hastaların %59' unda bulunmuş. Bu çalışmada sadece lenf nodu metastazı olmayan 61 erken evre KRK hastası değerlendirilmiştir.⁷⁹ Çalışmamızda COX-2 protein ekspresyonunu vakaların %89,5'inde pozitif olarak bulduk.

Kolorektal karsinomların çok büyük bir kısmı sigmoid kolon ve rektumda yer alır.¹ Çalışmamızda tümör yerleşimi açısından vakaların %40,4' ü distal kolon, %33,3'ü proksimal kolon ve %26,3'ü rektum yerleşimli idi. COX-2 immünreaktivitesi ile tümör yerleşimi arasında anlamlı ilişki yoktu. COX-2 ekspresyonu, kolon ve rektum şeklinde hasta grupları ayrıldığında da farklı herhangi bir eğilim görülmedi ($p=0,645$).

Dimberg ve arkadaşları ise 39 kolorektal kanserli hastada Western-Blot yöntemiyle COX-2 ekspresyonunu ile tümör lokalizasyonu arasındaki ilişkiyi araştırmışlar. Rektum kanserli hastalarda COX-2 ekspresyonu 20 hastanın

18'inde pozitif bulunurken, kolon kanserli 19 hastanın 4'ünde pozitif olarak bulmuşlardır ($p < 0,001$).⁸⁰

Zhang ve arkadaşları ise kolonda yerleşen tümörlerde COX-2 ekspresyonunun daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.⁸¹

Çalışmamızda tümör büyük boyutunu 5 cm' yi sınır kabul ederek gruplara ayırdık. 5 cm ve üzeri tümörü olan hastaların oranı %64,9 iken, 5 cm altında tümörü olanlar ise %35,1 idi. Hem COX-2 hem de BCL-2 ekspresyonu ile tümör boyutu arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulmadık. Benzer şekilde COX-2 ekspresyonu ile tümör invazyon derinliği (pT) arasında da anlamlı ilişki saptamadık.

Eberhart ve Tomozawa çalışmalarında, COX-2 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, tümör büyüklüğü, tümör yerleşimi, tümörün histolojik tipi, invazyon derinliği arasında anlamlı bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir.^{19,70}

COX-2 ekspresyonu ile lenf nodu metastazı, tümör diferansiyasyonu, vasküler invazyon, perinöral invazyon, ve Dukes evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğunu saptadık.

COX-2 ekspresyonu N0 olan hastaların %96,7' inde, N1 %85,7' inde, N2 ise %76,9' inda pozitif idi ($p = 0,047$). Lenf nodu sayısı arttıkça COX-2 boyanma oranı da azalmaktaydı.

Tümör diferansiyasyon derecesine göre; tümörlerin %54,4'ü iyi diferansiye, %28,1'i orta derecede diferansiye, %17,5'i kötü diferansiye idi. İyi ve orta diferansiye tümörlerde COX-2 ekspresyonu vakaların %90'ın üzerinde pozitif iken, kötü diferansiye tümörlerde ise %60 idi ($p = 0,004$).

Vasküler invazyonu olmayan hastalarda COX-2 ekspresyonu %97 iken, vasküler invazyonu olan tümörlerde %74 olarak bulundu ($p = 0,009$). Perinöral invazyonu olmayan hastalarda da COX-2 yaygınlığı daha fazla idi ($p = 0,002$).

Dukes B evresindeki tümörlerde COX-2 boyanması hastaların tümünde (%100), D evresindeki tümörlerde ise COX-2 boyanması hastaların %75' inde ($p = 0,049$) vardı.

Ülkemizde daha önce yapılan iki çalışmada 49 ve 116 kolorektal kanserli hastada COX-2 boyanması ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışmaların her ikisinde de COX-2 immünreaktivitesi ile yaş, cinsiyet, tümör boyutu, Dukes evresi, vasküler invazyonu ve lenf nodu tutulumu arasında ilişki olmadığı görülmüştür. Ancak, lenf nodu tutulumu olmayan

hastalarda COX-2 boyanma yaygınlığı istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha fazla olarak saptanmıştır. COX-2 pozitifliği ile sağkalım arasında da ilişki saptanmamıştır. Ancak, COX-2 pozitif boyanma gösteren olgularda 5 yıllık sağkalım %70 olarak bulunurken, COX-2 boyanması olmayan hastalarda ise %40 olarak bulunmuştur (p=0,72).^{82,83}

Ülkemizde yapılan diğer bir çalışmada da iyi diferansiye olan tümörlerde COX-2 boyanma yaygınlığı kötü diferansiye olan tümörlere göre daha fazla olarak bulunmuştur.⁸⁴

Joo ve arkadaşlarının çalışmasında 60 kolorektal kanserli hastanın patolojik immünohistokimyasal COX-2 boyaması yapılmış. Kolorektal karsinomlu hastaların %70 (42/60) 'inde COX-2 proteini ekspresyonu saptanmış. Ancak COX-2 ekspresyonu ile hiçbir klinik ve patolojik parametre arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Aynı şekilde sağkalım üzerinde etkisi de belirlenmemiştir.⁸⁵

Kojima arkadaşlarını yaptığı çalışmada; COX-2 ekspresyonu ile invazyon derinliği, lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve evre arasında anlamlı bir ilişkiye ulaşılamamıştır.⁸⁶

Masunaga ve arkadaşları, 100 kolorektal kanserli hastada COX-2 ekspresyonunu %76 pozitif olarak bulmuşlar. COX-2 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet ve tümör yerleşimi arasında anlamlı ilişki bulmamışlar. Ancak tümör boyutu, tümör diferansiyasyonu, lenf nodu tutulumu ve Dukes evresi ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada Dukes A evresinde COX-2 ekspresyonu %44 (11/25) iken, D evresinde %88 (22/25) olarak bulunmuş (p=0,0002). İyi diferansiye tümörlerde COX-2 ekspresyonu %62 (28/45), orta diferansiye tümörlerde %88 (45/51) olarak bulunmuş (p=0,012). Bu çalışmada lenf nodu sayısına göre hastalar gruplandırılmıştır. Metastatik lenf nodu sayısı ≤ 3 olanlarda COX-2 pozitifliği %71(59/83), metastatik lenf nodu sayısı ≥ 4 olan hastalarda ise COX-2 pozitifliği %100 (0/17) olarak bulunmuş (p=0,006). Sağkalım üzerindeki etkileri açısından Dukes evresi ve lenf nodu sayısı bağımsız prognostik faktörler olarak bulunurken, COX-2 ekspresyonunun tek yönlü analizde kötü prognostik etkisi olduğu saptanmıştır. Multivariate cox analizde ise prognostik öneminin olmadığını bildirmişlerdir.⁵⁸

Zhan ve Zhang' ın çalışmalarında ileri evre KRK'de COX-2 ekspresyonunun arttığını bildirmişlerdir. Ancak ilginç olarak, Zhang ve

arkadaşlarının çalışmasında iyi diferansiye olan tümörlerde COX-2 ekspresyonu daha fazla bulunmuştur.^{81,87}

Kim ve arkadaşları da 176 kolorektal kanserli hastada COX-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreleri karşılaştırmışlar. COX-2 ekspresyonu olguların %94,3' ünde saptanmış. COX-2 protein ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, diferansiyasyon, vasküler invazyon, tümör boyutu, lokalizasyonu, evresi arasında ilişki saptanmamıştır. COX-2 pozitif hastalarda sağkalım 33,9 ay iken, negatif olan hastalarda ise 32,9 ay olarak bildirmişlerdir.⁸⁸

Yamauchi ve arkadaşları da kolorektal cerrahi yapılmış 232 KRK hastasında, COX-2 ekspresyonunu hastaların %71,6' inde pozitif olarak bulmuşlardır. COX-2 ekspresyonu ile histolojik tümör tipi, invazyon derinliği, patolojik evresi arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada COX-2 ekspresyonunun karaciğer metastazı üzerinde bağımsız bir risk faktörü olduğunu ve kötü prognostik etken olduğunu bildirmişlerdir.⁸⁹

Yao ve arkadaşlarının yaptığı 126 vakadan oluşan benzer bir çalışmada, COX-2 salınması ile hastaların yaşı, cinsiyeti, tümör büyüklüğü, lokalizasyonu, histolojik tipi, lenf bezi metastazı ve Dukes sınıflaması arasında ilişki saptanmamıştır. Ancak COX-2 ekspresyonu ile uzak organ metastazı arasında anlamlı ilişki olduğunu bildirmişlerdir.⁹⁰

Çalışmamızda ise metastatik olmayan tümörlerde COX-2 ekspresyonu %91, metastatik olan tümörlerde ise COX-2 ekspresyonu %86 idi. Metastatik tümörlerde COX-2 immünreaktivitesi azalma eğiliminde görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,6).

Soumaoro ve arkadaşları, cerrahi rezeksiyon yapılan 288 KRK (174 kolon, 114 rektum) hastanın doku örneklerinde COX-2 proteini ekspresyonunu %70,8' inde pozitif olarak saptamışlardır. Lenf nodu metastazı olan olgularda ise COX-2 ekspresyonu %92, metastatik olgularda ise %100 olarak saptanmıştır. COX-2 ekspresyonu ile tümör hacmi, invazyon derinliği, lenf nodu metastazı, vasküler invazyon, evresi arasında anlamlı bir ilişki olduğunu saptamışlar. Yaş, cinsiyet, tümör yerleşimi, difensiyasyonu ile COX-2 ekspresyonu arasında herhangi bir ilişki olmadığı gözlenmiştir. COX-2 ekspresyonun kısa sağkalım süresi ile ilişkili olduğunu hem tek yönlü hem de yapılan çok yönlü analizde bulmuşlardır. COX-2 ekspresyonu yanı sıra tümör evresi ve lenf nodu tutulumu da bağımsız kötü prognostik bir faktör olarak bildirilmiştir.⁹¹

Uchida ve arkadaşları 44 ileri evre kolorektal kanserli hastada COX-2 ekspresyonunu %90,9 olarak saptamışlar. COX-2 ekspresyonun kötü prognostik etkisi olduğu görülmüştür.⁹²

Buecher ve arkadaşları; lenf nodu tutulumu olmayan kolorektal kanserli hastalarda, COX-2 ekspresyonu ile klinik-patolojik parametreleri karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada 61 hastanın 36'sında (%59) COX-2 ekspresyonu pozitif olarak belirlenmiştir. COX-2 ekspresyonu ile klinik-patolojik parametreler arasında ilişki saptanmamıştır. Ancak lenf nodu tutulumu olmayan, cerrahi tedavisi yapılan hastalarda COX-2 ekspresyonu bağımsız kötü bir prognostik faktör olarak bulunmuştur.⁷⁹

Çalışmamızda sağkalım üzerinde hem COX-2 hem de BCL-2' nin prognostik önemi gösterilememiştir. Dukes evresi, lenf nodu tutulumu ve organ metastaz durumunun sağkalım üzerinde prognostik önemleri vardı. COX-2 pozitif olan hastalarda ortalama sağkalım 37 ay, COX-2 negatif olan hastalarda da ortalama sağkalım yine 37 ay idi ($p=0,673$).

Lenf nodu metastazı olmayan Dukes B hastalarında da COX-2' nin prognostik önemi yoktu ($p=0,590$).

Kim ve Hao'nun çalışmalarında KRK erken evresinde COX-2 ekspresyonunun daha çok olduğunu bildirmişlerdir.^{93,94}

Sheehan ve arkadaşları; büyük tümörlü, lenf nodu metastazlı ve ileri evre KRK tümörlerinde COX-2 boyanmasının yüksek düzeyde olduğunu tanımlamışlardır. Bu çalışmada COX-2 ekspresyonunun lenf nodu tutulumu, karaciğer metastazı, TNM sınıflaması, invazyon derinliği ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.⁶⁹

Çalışmamızda BCL-2 protein ekspresyonunu tümörlerin %70,2' inde pozitif olarak bulduk. Literatürde KRK hastalarındaki BCL-2 ekspresyonu ile ilgili oranlar ise oldukça farklıdır. İlk yapılan çalışmalarda BCL-2 ekspresyon düzeyi yüksek iken, daha sonraki yapılan çalışmalarda ise bu oran gittikçe azalmıştır.^{7,8,95}

Hilska ve arkadaşlarının çalışmasında BCL-2 proteini boyanmasını 363 KRK hastanın %69' unda pozitif olarak bildirmişlerdir.⁹⁶

Çalışmalardaki boyanma yüzdelerindeki farklılığın muhtemelen çalışmalardaki semikantitatif olarak yapılan değerlendirme arasındaki farklılığa, kullanılan monoklonal antikorların farklılığına, boyanma yüzdelerinin ve

oranlarının farklı alınmasına olmasına bağılı olduğu düşünülebilir. Bu tip çalışmalarda belirli standartın olmaması çalışmalardaki istatistiksel verileri de etkiliyor gibi görünmektedir.

Çalışmamızda BCL-2 ekspresyonu ile tümör diferansiyasyonu, lenf nodu tutulumu ve Dukes evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardı. Çalışmamızda A evresindeki hastalar olmamasına rağmen, B evresindeki tümörlerde BCL-2 ekspresyonu %88, D evresinde ise %58 idi ($p=0,033$).

Kaklamaniş ve arkadaşları 224 kolorektal kanserli hastada BCL-2 ekspresyonunu %67 olarak bulmuşlardır. Aynı çalışmada, tüm evrelerde BCL-2 ekspresyonunun iyi prognostik etkisi olduğunu da saptamışlardır. Aynı şekilde, Dukes A ve B evresindeki hastalarda BCL-2 ekspresyonun daha fazla olduğu bildirilmiştir.¹⁰

Zhao ve arkadaşları, 93 kolorektal kanserli hastada BCL-2 ekspresyon düzeyini %57 olarak saptamışlardır. Çalışmada BCL-2 ekspresyonunun erken evrelerde boyanma düzeyinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde, lenf nodu metastazı olmayan hastalarda da BCL-2 ekspresyonunun daha fazla olduğunu gözlemişlerdir. BCL-2 ile tümör evresi ve lenf nodu metastazı arasında istatistiksel anlamlı ilişki olduğu bildirilmiştir. A ve B evresindeki tümörlerde BCL-2 ekspresyonu daha fazla olarak bulunmuş. Ancak yaş, cinsiyet, diferansiyasyon ve tümör rekürrensi ile BCL-2 arasında anlamlı bir ilişki olmadığını gözlemişlerdir.⁹⁷

Sinicrope ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada, BCL-2 proteinini immünohistokimyasal boyama ile intesinal bazal epitelde ve hiperplastik mukozada tespit ederlerken, karsinomalarda ve displastik poliplerde ise yüzey ve parabazal hücrelerde göstermişlerdir. BCL-2 yüksek oranda bulunan karsinomalarda spontan apoptozisin az olduğunu bildirmişlerdir. Anormal BCL-2 gen aktivasyonunun erken evre kolorektal karsinogeneziste rol aldığını ve apoptozisi inhibe ederek tümör gelişmesini arttırdığını ortaya koymuşlardır.⁷⁶

Han ve arkadaşları ise yaş ortalaması 60.7 olan Dukes B,C ve D evresindeki 81 KRK olgusunda, BCL-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametrelerin ilişkisini araştırmışlardır. BCL-2 ekspresyonu hastaların %74'ünde saptanmış. BCL-2 ekspresyonu ile Dukes evresi arasında zıt yönde bir ilişkinin olduğunu saptamışlardır. Aynı şekilde lenfovasküler invazyon, lenf nodu tutulumu arasında negatif yönde güçlü bir ilişki olduğunu da saptamışlardır.⁷⁵

Goussia ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, BCL-2 ekspresyonu pozitif saptanan hastalarda lenf nodu tutulumunun daha az olduğu bildirmişlerdir.⁹⁸

Bizim çalışmamızda da lenf nodu tutulumu olmayan (N0) hastalarda COX-2 ekspresyonu %83,3 iken, N1 olanlarda %57, N2 olanlarda ise %53,8 idi (p=0,022). Metastatik lenf nodu sayısı arttıkça BCL-2 boyanma oranı da azalmaktaydı. Vasküler invazyonu olmayan tümörlerde BCL-2 ekspresyonu %79,4 iken, vasküler invazyonu olanlarda ise %56,5 idi (p=0,066).

Çalışmamızda iyi diferansiye tümörlerde BCL-2 ekspresyonu %87, orta diferansiye tümörlerde %68,7 iken, kötü diferansiye tümörlerde ise %20 idi (p=0,000).

Saleh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; 52 kolorektal kanserli hastanın %51,9' unda BCL-2 ekspresyonu olduğu saptamışlar. Bu çalışmada BCL-2 ekspresyonunun histopatolojik parametrelerden Dukes evre ve diferansiyasyon ile olumlu yönde bir ilişkisi olduğunu saptamışlardır. Yani erken evrelerde ve iyi diferansiye tümörlerde BCL-2 ekspresyonun daha fazla olduğu bildirilmiştir.⁹⁹

Benzer şekilde başka bir çalışmada da BCL-2 ekspresyonunun iyi diferansiye olan tümörlerde daha çok olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada Dukes evresi ile zıt yönde ilişkisi olduğu da bildirilmiştir. BCL-2 ekspresyonu olan hastalarda sağkalım oranları da daha yüksek olarak bulunmuştur.¹⁰⁰

Bosari ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; BCL-2 ekspresyonu 205 kolorektal kanserli hastanın %50'sinde saptanmış. BCL-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler arasında ilişki olmadığı bildirilmiştir. Ancak 49 adenomlu hastanın tümünde boyanma olmuş. Bu hastaların da %80'inde diffüz boyanma gözlenmiş. Sonuç olarak; tümörögenезisin erken evrelerinde BCL-2' in rol aldığını destekleyen kanıtlara ulaşmışlardır. Ayrıca, BCL-2 ekspresyonunun prognostik öneminin de olmadığını bildirmişlerdir.⁸

Hague ve arkadaşlarının çalışmasında BCL-2 ekspresyonu %92 olarak bildirilmiştir. BCL-2 ekspresyonunun kolorektal karsinogenезisin erken ortaya çıkan bir bulgu olabileceğini bildirmişlerdir.⁹

Baretton ve arkadaşları, kolarektal adenomlu ve karsinomlu hastalarda BCL-2 ekspresyonu düzeyinin LN metastazı olmayan KRK' deki BCL-2 ekspresyonunu %67 olarak saptamışlardır. BCL-2 ekspresyonunun iyi prognostik

faktör olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada da BCL-2 ekspresyonunun kolorektal karsinogenezisin erken fazında rol aldığını bildirmişlerdir.⁹⁵

Çalışmamızda, BCL-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametrelerden yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, invazyon derinliği ve metastaz durumu arasında ilişki yoktu. Aynı şekilde prognostik önemi de görülmemiştir. BCL-2 pozitif olan hastalarda ortalama yaşam süresi 39 ay iken, negatif olan hastalarda ise 34 ay idi ($p=0,439$). Dukes B evresindeki hastalarda da BCL-2 ekspresyonunun prognostik etkisi yoktu.

Metastatik olmayan tümörlerde BCL-2 ekspresyonu %73,5 iken, metastazlı olan tümörlerde ise BCL-2 ekspresyonu %65,2 idi. BCL-2 immünreaktivitesi azalma eğiliminde görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,5$).

Zavrides ve arkadaşları da 238 kolorektal kanserli hastanın %49' unda BCL-2 ekspresyonu görülmüş. BCL-2 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, Dukes sınıflaması, tümör diferansiyasyonu ve sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.¹²

Perraira' nın yaptığı çalışmada 80 kolorektal kanserli hastada BCL-2 ekspresyonu ile tümörün evre, diferansiyasyon, vasküler invazyon gibi bilinen prognostik faktörlerle bir ilişkisinin olmadığını bildirmişlerdir.¹⁰¹

Garrity ve arkadaşları; Dukes B2 ve C kolorektal kanserli 363 hastada BCL-2 ekspresyonu düzeyini %27 olarak saptamışlar. BCL-2' nin prognostik önemi de gösterilememiştir.¹⁰²

Yapılan diğer bir çalışmada ise kolorektal adenokarsinomlarda BCL-2 ekspresyonu olguların %60' ında pozitif olarak bulunmuş. BCL-2 pozitifliği ile cinsiyet, tümör lokalizasyonu ve kolorektal karsinomun biyolojik belirteçleri arasında anlamlı bir ilişki olmadığı görülmüştür.¹⁰³

Ofner ve arkadaşları, 104 kolorektal kanserli hastada tümör boyutunun artmasıyla BCL-2 ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır. Yapılan çok yönlü analizde de BCL-2 ekspresyonunun tümör evresi üzerinde bağımsız iyi prognostik faktör olduğunu bulmuşlar.¹⁴

Hilska ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; 363 kolorektal kanserli hastada BCL-2 ekspresyonu %69 olarak bildirilmiştir. İstatistiksel anlamlılığa ulaşılmamasına rağmen 5 yıllık sağkalım oranı BCL-2 protein ekspresyonu olan hastalarda daha iyi olarak gözlenmiştir.⁹⁶

Bhatavdekar ve arkadaşlarının çalışmasında ise kötü diferansiye tümörlerde BCL-2 ekspresyonunun arttığı ve kötü prognostik etkisi olduğu belirlenmiştir.¹⁰⁴

NSAİ ilaçların kolorektal kanser üzerindeki kemopreventif etkilerinin saptandığı ilk yıllarda NSAİ ilaçların etki mekanizmalarını açıklamak amacıyla yapılan deneysel çalışmalarda, COX-2 ve BCL-2 arasında ilişki olduğu görülmüştür. NSAİ ilaçların etkisiyle apoptozisin indüklendiği ve PGE2 tedavisiyle BCL-2 ekspresyonunun 4-5 kat arttığı görülmüştür. Ancak klinik açıdan bu etkileşimin önemini gösteren klinik çalışmalar yapılmamıştır.^{24,25}

Chen ve arkadaşları, 36 gastrik karsinomalı hastada BCL-2 ve COX-2 ekspresyonunu beraber değerlendirmişler. Her iki patolojik belirteç arasında anlamlı ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır.²⁶

Son yapılan bir çalışmada ise KRK' li hastalarda, BCL-2 ve COX-2 ekspresyonu beraber değerlendirilmiştir. Bu çalışmada BCL-2 ekspresyonu hastaların %94'ünde pozitif iken, COX-2 ekspresyonu ise hastaların %95' inde pozitif bulunmuştur. BCL-2 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, evre, lenf nodu tutulumu, uzak metastaz ve diferansiyon açısından istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır. COX-2 ekspresyonu ile diferansiyasyon, uzak metastaz ve Dukes evresi arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada, iyi diferansiye olan tümörlerde COX-2 immünreaktivitesi hastaların hepsinde (%100) pozitif olarak bulunurken, kötü diferansiye tümörlerde ise %87,5 olarak bulunmuştur. İyi diferansiye tümörlerde BCL-2 pozitifliği %100 iken, kötü diferansiye tümörlerde ise %87,5 olarak bulunmuştur. Ancak istatistiksel anlamlı sonuca varılmamıştır. Uzak metastazlı hastaların %78,5' inde, metastazı olmayan hastaların ise %98'in de COX-2 ekspresyonu olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada Dukes A ve B evresindeki hastaların hepsinde COX-2 pozitifliği saptanırken, D evresinde %78 olarak saptanmıştır. COX-2 ekspresyonu ile Dukes tümör evresi arasında anlamlı ilişki olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada A evresinde BCL-2 ekspresyonu hastaların tümünde saptanırken, B evresinde %97, D evresinde %85,7 olarak saptamışlardır. Ancak istatistiksel anlamlılığa ulaşamamıştır.¹⁰⁵

Bizim çalışmamızda da benzer bulgulara rastladık. Hem COX-2 hem de BCL-2 ekspresyonu ile vasküler invazyon yokluğu, iyi diferansiyasyon, lenf nodu tutulumu olmaması arasında anlamlı ilişki olduğunu bulduk. Aynı şekilde B

evresinde hem COX-2 hem de BCL-2 ekspresyonunun arttığını gözledik. Daha önceki çalışmalar COX-2 ve BCL-2' nin tümörögeneziste önemli rol oynadıklarını göstermiştir. COX-2 aracılı oluşan prostanooidlerden PGE2 aracılığıyla BCL-2 seviyesinin de arttığı bilinmektedir. Bizim çalışmamızda da COX-2 ekspresyonu ile BCL-2 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı ilişki vardı (p=0,01). Çalışma grubumuzdaki hastalar gruplandırıldığında; COX-2/BCL-2 (+/+) olan grup, tüm hastaların %68,4' ünü oluşturmaktaydı. COX-2 / BCL-2 (-/-) olan hastalar ise yalnızca %8,8 kadardı. COX-2 / BCL-2 (+/-) olan hastalar %21,1 iken, COX-2/ BCL-2 (-/+) olan grupta ise tek bir hasta (%1,8) vardı.

Çalışmamızdaki bulgular, COX-2 ekspresyonunun BCL-2 üzerinde uyarıcı etkisinin olduğunu desteklemektedir. BCL-2 ve COX-2' nin prognostik önemi gösterilememiştir. Ancak, BCL-2 ve COX-2 ekspresyonu ile prognostik faktörler olarak bilinen tümör evresi, lenf nodu tutulumu ve vasküler invazyon arasında anlamlı ilişki olduğunu saptanmıştır. Vasküler invazyon ve lenf nodu tutulumu olmayan tümörlerde hem BCL-2 hem de COX-2 pozitiflik oranları daha yüksek olarak bulunmuştur. Erken evre KRK' de hem BCL-2 hem de COX-2 pozitiflik oranlarının da daha fazla olduğu saptanmıştır. Çalışmamız her iki proteinin, KRK' in erken dönemlerinde etkilerinin olduğunu desteklemektedir. Her iki proteinin KRK üzerindeki etkilerinin tam olarak ortaya konması için ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

SONUÇLAR

1. Çalışmamızda kolorektal kanserlerde COX-2 ve BCL-2 proteinlerinin ekspresyonunu ve klinikopatolojik parametrelerle olan ilişkilerini incelemeyi amaçladık.
2. COX-2 proteini ekspresyonu vakaların %89,5' inde pozitif olarak izlendi.
3. BCL-2 proteini ekspresyonu vakaların %70,2' sinde pozitif olarak izlendi.
4. COX-2 ekspresyonu ile BCL-2 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı birliktelik izlendi ($p=0,01$). Çalışma grubundaki COX-2/BCL-2 (+/+) olan hastalar %68,4 idi.
5. COX-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik değişkenlerden yaş, cinsiyet, CEA düzeyi, tümör boyutu, lokalizasyonu, histolojik tip, invazyon derinliği, organ metastazı arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).
6. COX-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik değişkenlerden Dukes evresi, lenf nodu metastazı, perinöral invazyon, vasküler invazyon, diferansiyasyon, LDH düzeyi arasında negatif yönde istatistiksel anlamlı ilişki olduğunu gördük ($p<0.05$).
7. BCL-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik değişkenlerden yaş, cinsiyet, CEA, LDH düzeyi, perinöral invazyon, vasküler invazyon, tümör boyutu, lokalizasyonu, invazyon derinliği, organ metastazı arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).
8. BCL-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik değişkenlerden diferansiyasyon, lenf nodu tutulumu ve Dukes evresi arasında negatif yönde istatistiksel anlamlı ilişki olduğunu bulduk ($p<0.05$).
9. BCL-2 ve COX-2 ekspresyonunun sağkalım üzerinde etkileri olmadığını gördük ($p>0,05$).
10. Lenf nodu tutulumu ve organ metastaz varlığının bağımsız kötü prognostik etkileri saptandı ($p<0.05$).
11. Hem COX-2 hem de BCL-2 ekspresyonun erken evrelerde ve iyi diferansiye tümörlerde daha yüksek olması kolorektal karsinogenezisin erken evrelerinde etkilerinin olduğunu desteklemektedir.
12. Çalışmamızda Dukes A evresinde hasta olmaması ve hasta sayısının az olması nedeniyle, COX-2 ve BCL-2 ekspresyon düzeylerinin prognostik etkilerinin değerlendirilmesinde dezavantaj oluşturmaktadır. Bu nedenle

daha geniş çalışma gruplarında her iki proteinin birbiriyle ve klinikopatolojik parametrelerle olan ilişkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Libutti SK, Saltz LB, Rustgi AK, Teper JE.** Cancer of Colon. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds). Principles and Practice of Oncology. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005:1060-1109.
2. **Ries LAG, Wingo PA, Miller DS at al.** The Annual Report to the Nation on the status of Cancer, 1973-1997, with a special section on Colorectal Cancer. Cancer 2000; 88:2398.
3. **Jemal, A, Siegel, R, Ward, E, et al.** Cancer statistics, 2006. CA Cancer J Clin 2006; 56:106
4. <http://www.saglik.gov.tr/TR/BelgeGoster.aspx?> Erişim tarihi: 24.01.2008
5. **Fearon ER, Hamilton SR, Vogelstein B.** Clonal analysis of human colorectal tumors. Science 1987; **238**: 193-197.
6. **Weinberg RA.** The integration of molecular genetics into cancer management. Cancer 1992;71:653-8.
7. **Bedi A, Pasricha PJ, Akhtar AJ, et al.** Inhibition of apoptosis during development of colorectal cancer. Cancer Res 1995;55:1811-16.
8. **Bosari S, Moneghini L, Graziani D, et al.** Bcl-2 oncoprotein in colorectal hyperplastic polyps, adenomas, and adenocarcinomas. Hum Pathol 1995;26:534-40.
9. **Hague A, Moorghen M, Hicks D, Chapman M, Paraskeva C.** BCL-2 expression in colorectal adenomas and carcinomas. Oncogene 1994;9:3367-70.
10. **Kaklamanis L, Savage A, Whitehouse R, et al.** Bcl-2 protein expression: association with p53 and prognosis in colorectal cancer. Br J Cancer 1998;77:1864-9.
11. **Elkablawy MA, Maxwell P, Williamson K, Anderson N, Hamilton PW.** Apoptosis and cell-cycle regulatory proteins in colorectal carcinoma: relationship to tumour stage and patient survival. J Pathol 2001;194:436-43.
12. **Zavrides H, Zizi-Sermpetzoglou A, Elemenoglou I et al.** Immunohistochemical expression of bcl-2 in Dukes' stage B and C

colorectal carcinoma patients: correlation with p53 and ki-67 in evaluating prognostic significance. *Pol J Pathol.* 2005; 56(4):179-85.

13. **Tollenaar RA, van Krieken JH, van Slooten HJ, et al.** Immunohistochemical detection of p53 and Bcl-2 in colorectal carcinoma: no evidence for prognostic significance. *Br J Cancer* 1998;77(11):1842-7.
14. **Ofner D, Riehemann K, Maier H, et al.** Immunohistochemical detectable bcl-2 expression in colorectal carcinoma: correlation with tumour stage and patient survival. *British journal of cancer* 1995;72:981-985.
15. **Gridley G, McLaughlin JK, Ekbohm A, et al.** Incidence of cancer among patients with rheumatoid arthritis. *J Natl Cancer Inst.* 1993;85:307-311.
16. **Gwyn K, Sinicrope FA.** Chemoprevention of Colorectal Cancer. *Am J Gastroenterol* 2002;97(1):13-21.
17. **Thun MJ.** Aspirin, NSAIDs, and digestive tract cancers. *Cancer Metastasis Rev.*, 1994;13:269-288.
18. **Giardiello FM, Offerhaus GJA, DuBois RN.** The role of nonsteroidal antiinflammatory drugs in colorectal cancer prevention *Eur. J. Cancer*, 1995;31a: 1071-1076.
19. **Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, et al.** Upregulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology.* 1994;107(4):1183-8.
20. **Zimmermann KC, Sarbia M, Weber AA, et al.** Cyclooxygenase-2 expression in human esophageal carcinoma. *Cancer Res.* 1999 Jan 1; 59(1): 198-204.
21. **Morris CD, Armstrong GR, Bigley G, Green H, Attwood SE.** Cyclooxygenase-2 expression in the Barrett's metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(4): 990-6.
22. **Kakiuchi Y, Tsuji S, Tsujii M, et al.** Cyclooxygenase-2 activity altered the cell-surface carbohydrate antigens on colon cancer cells and enhanced liver metastasis. *Cancer Res.* 2002;62(5): 1567-72.
23. **Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, et al.** COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors. *Cancer* 2000; 89:2637-2645.

24. **Tsujii M, DuBois RN.** Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase-2. *Cell* 1995;83, 493–501.
25. **Sheng H, Shao J, Marrow JD.** Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells. *Cancer Res* 1998; 58: 362-366.
26. **Chen XL, Su BS, Sun RQ, Zhang J, Wang YL.** Relationship between expression and distribution of cyclooxygenase-2 and bcl-2 in human gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2005;11(8):1228-1231.
27. SEER Cancer Stat Fact Sheet. National Cancer Institute. <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/colorect.html>. Erişim tarihi: 28.01.2008
28. **Wei EK, Giovannucci E, Wu K, et al.** Comparison of risk factors for colon and rectal cancer. *Int J Cancer* 2004; 108:433.
29. **Akyan NF.** Kolorektal Kanser Onkoloji. İstanbul Üniversitesi Onkoloji Entstitüsü Yayınları No:6 2000.
30. **Wilmink AB.** Overview of the epidemiology of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1997;40:483.
31. **Chen J, Stampfer MJ, Hough HL, et al.** A prospective study of N-acetyltransferase geno-type, red meat intake, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:3307.
32. **Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, et al.** Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women. *N Engl J Med* 1999;340:169.
33. **Alberts DS, Martinez ME, Roe DJ, et al.** Lack of effect of a high-fiber cereal supplement on the recurrence of colorectal adenomas. Phoenix Colon Cancer Prevention Physicians' Network. *N Engl J Med* 2000;342:1156.
34. **Schatzkin A, Lanza E, Corle D, et al.** Lack of effect of a low-fat, high-fiber diet on the recurrence of colorectal adenomas. Polyp Prevention Trial Study Group. *N Engl J Med* 2000;342:1149.
35. **Gilla S, Sinicrope FA.** Colorectal Cancer Prevention: Is an Ounce of Prevention Worth a Pound of Cure? *Semin Oncol* 2005;32:24-34

36. **Chan AT, Giovannucci E, Schemhammer ES, et al.** A prospective study of aspirin use and the risk for colorectal adenoma. *Ann Intern Med* 2004; 140: 157-166.
37. **Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, et al.** A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. *Engl J Med* 1994;331:1669.
38. **Ahsan H, Neugut AI, Garbowski GC, et al.** Family history of colorectal adenomatous polyps and increased risk for colorectal cancer. *Ann Intern Med* 1998;128:900
39. **Kerber RA, Slattery ML, Potter JD, Caan BJ, Edwards SL.** Risk of colon cancer associated with a family history of cancer or colorectal polyps: the diet, activity, and reproduction in colon cancer study. *Int J Cancer* 1998;78:157.
40. **Winawer SJ, Zauber AG, Gerdes H, et al.** Risk of colorectal cancer in the families of patients with adenomatous polyps. National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1996;334:82.
41. **Rustgi AK.** Hereditary gastrointestinal polyposis and nonpolyposis syndromes. *N Engl J Med* 1994;331:1694.
42. **Burt RW.** Familial risk and colorectal cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 1996;25:793.
43. **Smith RA, Von Eschenbach AC, Wender R, et al.** American Cancer Society Guidelines for early detection of cancer: Update of early detection guidelines for prostate, colorectal and endometrial cancers. *CA Cancer J Clin* 2001;1:51.
44. **Winawer S, Fletcher R, Rex D, et al.** Colorectal cancer screening and surveillance: clinical guidelines and rationale- update based on new evidence. *Gastroenterology* 2003;124:544.
45. **Greene F, Stewart A, Norton H.** A new TNM staging strategy for node-positive (stage III) colon cancer: an analysis of 50,042 patients. *Ann Surg* 2002;236:416.
46. **Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, et al.** Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:979.

47. **Messerini L, Palomba A, Zampi G.** Primary signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum* 1995;38:1189.
48. **de Bruine AP, Wiggers T, Beek C, et al.** Endocrine cells in colorectal adenocarcinomas: incidence, hormone profile and prognostic relevance. *Int J Cancer* 1993;54:765.
49. **Jessurun J, Romero-Guadarrama M, Manivel JC.** Medullary adenocarcinoma of the colon: clinicopathologic study of 11 cases. *Hum Pathol* 1999;30:843.
50. **Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, et al.** National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:5248.
51. **Watanabe T, Wu TT, Catalano PJ, et al.** Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2001;344:1196.
52. **Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al.** Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2003;349:247.
53. **Lanza G, Matteuzzi M, Gafa R, et al.** Chromosome 18q allelic loss and prognosis in stage II and III colon cancer. *Int Cancer* 1998;79:390.
54. **Meyerhardt JA, Catalano PJ, Haller DG, et al.** Impact of diabetes mellitus on outcomes in patients with colon cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:433.
55. **Ahnen DJ, Feigl P, Quan G, et al.** Ki-ras mutation and p53 overexpression predict the clinical behavior of colorectal cancer: a Southwest Oncology Group study. *Cancer Res* 1998;58:1149.
56. **Luong C, Miller A, Barnett J, et al.** Flexibility of the NSAID binding site in the structure of human cyclooxygenase-2. *Nat Struct Biol* 1996; 3:927-933, 1996.
57. **Smith WL, Marnett LJ, DeWitt DL.** Prostaglandin and thromboxane biosynthesis. *Pharmacol Ther* 1991;49:153-179.

58. **Masunaga R, Kohno H, Dhar DK, et al.** Cyclooxygenase-2 expression correlates with tumor neovascularisation and prognosis in human colorectal carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 2000; 6:4064-4068.
59. **Wendum D, Masliah J, Trugnan G, Flejou JF.** Cyclooxygenase-2 and its role in colorectal cancer development. *Virchows Arch* 2004;445:327-333.
60. **Dannenber AJ, Altorki NK, Boyle JO, et al.** Cyclo-oxygenase 2: a pharmacological target for the prevention of cancer. *Lancet Oncol.* 2001;2(9): 544-51.
61. **Gupta RA, DuBois RN.** Colorectal cancer prevention and treatment by inhibition of cyclooxygenase-2. *Nature Med* 2001;1:11-21.
62. **Bright-Thomas RM, Hargest R.** APC, beta-Catenin and hTCF-4: An unholy trinity in the genesis of colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol* 2003;29:107-117.
63. **Brown JR, DuBois RN.** COX-2: A Molecular Target for Colorectal Cancer Prevention. *J Clin Oncol* 2005;23:2840-2855.
64. **Sheng GG, Shao J, Sheng H, et al.** A selective cyclooxygenase-2 inhibitor suppresses the growth of H-ras-transformed rat intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 1997;113:1883–1891.
65. **Oshima M, Dinchuk JE, Karman SL, et al.** Suppression of intestinal polyposis in APC.716 knock out mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (cox-2). *Cell* 1996;87:803–809.
66. **Tsuji M, Kawano S, Tsuji S, et al.** Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell*, 1998;93: 705–716.
67. **Surette ME, Fonten AN, Bernatchez C.** Perturbations in the control of cellular arachidonic acid levels block cell growth and induce apoptosis in HL-60 cells. *Carcinogenesis* 1999;20:757 – 763.
68. **Fujita T, Matsui M, Takaku K, et al.** Size- and invasion-dependent increase in cyclooxygenase 2 levels in human colorectal carcinomas. *Cancer Res* 1998;58: 4823-26.
69. **Sheehan KM, Sheahan K, O'Donoghue DP, et al.** The relationship between Cyclooxygenase -2 expression and colorectal cancer. *J amer med Assoc* 1999;282: 1254-57.

70. **Tomozawa S, Tsuno NH, Sunami E.** Cyclooxygenase-2 overexpression correlates with tumor recurrence, especially hematogenous metastasis of colorectal cancer. *Br J Cancer* 2000;83: 324 – 328.
71. **Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, Croce CM.** Involvement of the Bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science* 1985; 288: 1440–3.
72. **Bakhshi A, Jensen JP, Goldman P et al.** Cloning the chromosomal breakpoint of t(14;18) human lymphomas: clustering around JH on chromosome 14 and near a transcriptional unit on 18. *Cell* 1985; 41: 899–906.
73. **Tomatır AG.** Apoptosis: Programmed cell death. *T Klin J Med Sci* 2003, 23:499-508.
74. **Demirbaş S, Sücüllü İ, Yıldırım Ş, Çelenk T.** Influence of the c-erb B-2, nm23, bcl-2 and p53 protein markers on colorectal cancer. *Turk J Gastroenterol* 2006;17(1):13-19.
75. **Han HS, Park YM, Hwang TS.** Differential expression of Bcl-2, Bcl-X_L and p53 in colorectal cancer. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2006;21 (7):1108–1114.
76. **Sinicrope FA.** Bcl-2 and p53 Oncoprotein Expression During Colorectal Tumor Genesis. *Cancer Receptors* 1995;55(2):237-241.
77. **Sinicrope FA.** Targeting Cyclooxygenase-2 for Prevention and Therapy of Colorectal Cancer. *Molecular Carcinogenesis* 2006;45:447–454.
78. **Nosho K, Yamamoto H, Taniguchi H, et al.** Interplay of Insulin-Like Growth Factor-II, Insulin-Like Growth Factor-I, Insulin-Like Growth Factor-I Receptor, COX-2, and Matrix Metalloproteinase-7, Play Key Roles in the Early Stage of Colorectal Carcinogenesis. *Clinical Cancer Research* 2004;10:7950-57.
79. **Buecher B, Heymann MF, Lievre A, et al.** Cyclo-oxygenase-2 overexpression in sporadic colorectal carcinoma without lymph node involvement. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 731–740.
80. **Dimberg J, Samuelsson A, Hugander A, Söderkvist P.** Differential expression of cyclooxygenase 2 in human colorectal cancer. *Gut* 1999;45:730–732.
81. **Zhang H, Sun XF.** Overexpression of Cyclooxygenase-2 Correlates with Advanced Stages of Colorectal Cancer. *AJG* 2002;97(4):1037-1041.

82. **Aliustaoğlu M.** Evre II ve III kolorektal kanserlerde Timidilat Sentetaz ve COX-2'nin prognostik faktör olarak incelenmesi. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bilim Dalı. Uzmanlık tezi. İstanbul 2003.
83. **Dizdar Y.** Kolon kanserinde COX-2 ekspresyonunun histopatolojik parametrelerle korelasyonu ve tedavideki prognostik önemi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı. Onkolojik Biyoloji ve İmmünoloji Bilim Dalı. Doktora tezi. İstanbul 2003.
84. **Saygılı G.** Kolorektal karsinomlarda siklooksijenaz-2 (COX-2) enziminin boyanma paterni ve yaygınlığının prognostik parametrelerle karşılaştırılması. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarı. Uzmanlık tezi. İstanbul 2007.
85. **Joo Y, Kim H, Min S, et al.** Expression of cyclooxygenase-2 protein in colorectal carcinomas. *Humana Press Inc* 2002;31: 147-154.
86. **Kojima M, Morisaki T, Uchiyama A, et al.** Association of Enhanced Cyclooxygenase-2 Expression With Possible Local Immunosuppression in Human Colorectal Carcinomas. *Annals of Surgical Oncology* 2001;8(5):458–465.
87. **Zhan J, Liu JP, Zhu ZH, Yao HR, Chen CY.** Relationship between COX-2 expression and clinicopathological features of colorectal cancers. *Chin Med J (Engl)*. 2004;117(8): 1151-4.
88. **Kim JY, Lim SJ, Park K.** Cyclooxygenase-2 and c-erbB-2 Expression in Colorectal Carcinoma Assessed Using Tissue Microarrays. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2004;12:67–70.
89. **Yamauchi T, Watanabe M, Kubota T, et al.** Cyclooxygenase-2 expression as a new marker for patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2002;45: 98-103.
90. **Yao HB, Wu AG, Chen YJ, Tang BH.** Expression of COX-2 protein in colorectal carcinoma and the clinical implication. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*. 2005 ;25 : 1524-1528.
91. **Soumaoro LT, Uetake H, Higuchi T, et al.** Cyclooxygenase-2 Expression: A Significant Prognostic Indicator for Patients With Colorectal Cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:8465–8471.
92. **Uchida K, Schneider S, Yochim JM, et al.** Intratumoral COX-2 Gene Expression Is a Predictive Factor for Colorectal Cancer Response to

- Fluoropyrimidine-Based Chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005; 11(9) : 3363-68.
93. **Kim YS, Lim SD, Lee JK, et al.** Cyclooxygenase-2 and p53 immunoreactivity in superficial early colorectal carcinoma Korean J Gastroenterol 2006; 47:350-356.
 94. **Hao X, Bishop A.E, Wallace M, et al.** Early Expression of Cyclooxygenase-2 During Sporadic Colorectal Carcinogenesis. *Journal of Pathology* 1999;187:295-301.
 95. **Baretton GB, Diebold J, Christoforis G, et al.** Apoptosis and immunohistochemical bcl-2 expression in colorectal adenomas and carcinomas. Aspects of carcinogenesis and prognostic significance. *Cancer* 1996;77:255–64.
 96. **Hilska M, Collan YU, Jukka V, et al.** The Significance of Tumor Markers for Proliferation and Apoptosis in Predicting Survival in Colorectal Cancer. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 2197–2208.
 97. **Zhao D, Ding X, Peng J, Zheng Y, Zhang S.** Prognostic significance of bcl-2 and p53 expression in colorectal carcinoma. *Zhejiang Univ SCIENCE B* 2005;6(12):1163-1169.
 98. **Goussia AC, Ioachim E, Agnantis NJ, Mahera M, Tsianos EV.** Bcl-2 expression in colorectal tumours. Correlation with p53, mdm-2, Rb proteins and proliferation indices. *Histol Histopathol.* 2000;15(3):667-72.
 99. **Saleh HA, Jackson H, Banerjee M.** Immunohistochemical expression of bcl-2 and p53 oncoproteins: correlation with Ki67 proliferation index and prognostic histopathologic parameters in colorectal neoplasia. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2000;8(3):175-82.
 100. **Kondo E, Miyake T, Shibata M, et al.** Expression of Phosphorylated Ser⁷⁰ of Bcl-2 Correlates with Malignancy in Human Colorectal Neoplasms. *Clinical Cancer Research* 2005;11:7255-7263.
 101. **Perraira H.** Prognostic Markers for Colorectal Cancers; Expression of p 53 and Bcl-2. *World Journal of Surgery* 1997;21:210-213.
 102. **Garrity M, Burgart LJ, Mahoney MR, et al.** Prognostic Value of Proliferation, Apoptosis, Defective DNA Mismatch Repair, and p53 Overexpression in Patients With Resected Dukes' B2 or C Colon Cancer:

A North Central Cancer Treatment Group Study. *J Clin Oncol* 2004;22:1572-1582.

103. **Yang HB, Chow NH, Sheu BS, Chan SH, Chien CH, Su IJ.** The role of bcl-2 in the progression of the colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Anticancer Res.* 1999;19(1B):727-30.
104. **Bhatavdekar JM, Patel DD, Ghosh N, et al.** Coexpression of Bcl-2, c-Myc, and p53 Oncoproteins as Prognostic Discriminants in Patients with Colorectal Carcinoma. *Dis Colon Rectum* 1997;40(7):785-790.
105. **Chen WC, Lin MS, Zhang BF, et al.** Survey of molecular profiling during human colon cancer development and progression by immunohistochemical staining on tissue microarray. *World J Gastroenterol* 2007;13(5): 699-708.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AJCC	: American Joint Comitte on Cancer
Akt	: Protein Kinaz B (PKB).
APC	: Adenomatosis Polyposis Coli (Adenomatosis Poliposis Koli)
CEA	: Karsinoembriyjenik Antijen
CI	: Chromosomal Instability (Kromozomal instabilite)
COX	: Siklooksijenaz
ERK	: Ekstraselüler regüle eden kinaz
FAP	: Familial Adenomatous Polyposis Coli
GSK	: Glikojen Sentaz Kinaz
hMSH2	: Human mutS homolog 2
hMSH6	: Human mutS homolog 6
HNPCK	: Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer
hPMS1	: Human postmeiotic segregation 1
hPMS2	: Human postmeiotic segregation 2
IMA	: İnferior Mezenterik Arter
kD	: Kilodalton
KRK	: Kolorektal Kanser
LN	: Lenf Nodu
LOH	: Allelic loss (allel kaybı)
MAPK	: Mitogen-aktive eden protein kinaz
MEK	: MAPK/ERK kinaz
MKK	: MAPK kinaz
MLH1	: human mutL homolog 1
MMR	: Mismatch Repair Genes (Hatalı Onarım Genleri)
MSI	: Microsatellit Instability (Mikrosatellit Düzensizlik)
MVD	: Mikrovaskiiler dansite
NFκB	: Nuclear Factor κB
NSAİİ	: Non-Steroidal Anti-İnflamatuar İlaç
PG	: Prostoglandin
PI3K	: Fosfatidilinositol 3 Kinaz
PJS	: Peutz-Jeghers Sendromu
PPAR- δ	: Peroxisome Proliferator-activated Receptor δ

Ras : Rat sarcoma
SMA : Süperior Mesenterik Arter
STK11 : Serine Threonine Kinase 11
TCF : T-hücre Faktörü
TGF β IIR : Transforming Growth Factor Beta II
TS : Timidilat Sentaz
TxA2 : Tromboksan A2
UICC : İnternational Union Against Cancer
VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

ŞEKİLLER VE GRAFİKLER DİZİNİ

Şekiller	Sayfa No
Şekil 1 (Damarsal kan desteğine göre kolonun anatomisi)	11
Şekil 2 (Kolon boyunca oluşan lezyonların lenfatik drenajı)	11
Şekil 3 (Kolonorektal kanserin gelişmesindeki genetik değişimler)	24
Şekil 4 (Sporadik kolorektal kanser patogenezindeki moleküler yollar)	26
Şekil 5 (COX enzimleri ve Eikosanoitlerin sentezi. Fizyolojik ve patofizyolojik etkileri)	43
Şekil 6 (COX-2 ve APC yolağı)	47
Şekil 7 (COX-2 aktivasyon yolları)	48
Grafikler	
Grafik 1. Dukes evresi – sağkalım	69
Grafik 2. Cox-2 ekspresyonu-sağkalım	69
Grafik 3. Bcl-2 ekspresyonu-sağkalım	70
Grafik 4. Bcl-2 ve Cox-2 grupları- sağkalım	71

TABLolar DİZİNİ

Tablolar	Sayfa No
Tablo 1 (Kolon kanseri etiyoloji: Çevresel faktörler)	15
Tablo 2 (Kolorektal kanserin ailesel ve ailesel olmayan nedenleri)	20
Tablo 3 (HNPKK için tanısal kriterler)	22
Tablo 4 (Kolorektal Kanserin TNM sınıflaması)	33
Tablo 5 (Kolorektal kanserdeki farklı evreleme sistemlerin karşılaştırılması)	33
Tablo 6 (COX-1 ve COX -2' nin temel özelliklerin karşılaştırılması)	45
Tablo 7 (COX-2' nin inflamasyon dışı fonksiyonları)	45
Tablo 8 (Cinsiyete göre yaş dağılımı)	59
Tablo 9 (Tümörlerin lokalizasyonu)	59
Tablo 10 (Cinsiyete göre tümör lokalizasyonu)	60
Tablo 11 (Genel demografik özelliklerine göre hasta dağılımı)	61
Tablo 12 (Tümörlerin TNM ve Dukes sınıflamasına göre dağılımları)	62
Tablo 13 (BCL-2 boyanma durumuna göre hasta dağılımı)	63
Tablo 14 (COX-2 boyanma özelliklerine göre hasta dağılımı)	63
Tablo 15 (BCL-2 ve COX-2 boyanma oranı, şiddeti ve skorunun ilişkisi)	64
Tablo 16 (COX-2 ve BCL-2 pozitifliği ile klinikopatolojik değişkenler)	66
Tablo 17 (Cox-2 ve Bcl-2 ekspresyonu- Dukes, TNM evre ilişkisi)	67
Tablo 18 (Cox-2 ve Bcl-2 - LDH ve CEA düzeyleri ilişkisi)	68
Tablo 19 (Bcl-2 ve Cox-2 gruplarına göre hasta dağılımı)	70
Tablo 20 (Sağkalım-klinikopatolojik parametrelerin kesitsel cox regresyon analizi)	71