

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KOLON KARSİNOGENEZİNDE
SİKLOOKSİJENAZLARIN ROLÜ**

“UZMANLIK TEZİ”

Dr. Nevin TOPAK

AFYONKARAHİSAR 2007

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KOLON KARSİNOGENEZİNDE
SİKLOOKSİJENAZLARIN ROLÜ**

“UZMANLIK TEZİ”

Dr. Nevin TOPAK

Danışman: Doç.Dr.Hüsniye DİLEK

AFYONKARAHİSAR 2007

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

Tez Başlığı :Kolon Karsinogenezisinde
Siklooksijenazların Rolü
Tezi Hazırlayan : Dr.Nevin Topak
Tez Savunma Tarihi :
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Hüsniye Dilek

İşbu çalışma jürimiz tarafından PATOLOJİ ANABİLİM DALI'ında TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof .Dr.Osman Nuri DİLEK

ÜYE

Doç.Dr.F. Hüsniye DİLEK

ÜYE

Doç.Dr.Fatma AKTEPE

ÜYE

Doç.Dr.Çiğdem TOKYOL

ÜYE

Yrd.Doç. Dr.Önder ŞAHİN

ONAY

DEKAN

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmalarım ve uzmanlık eğitimim sũresince, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli tez danıőmanım Doç. Dr. Hũsniye Dilek hocama yardımları için teőekkũr ederim.

Uzmanlık eğitimim ve tez çalıőmalarım sũresince katkı ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Fatma Aktepe, Doç. Dr. ığdem Tokyol ve Yrd. Doç. Dr. Önder Şahin'e teőekkũr ederim.

Tezimi alıőtıđım sũrece Özellikle immunohistokimya çalıőmaları sırasında destek ve yardımlarını esirgemeyen Laborant Melek Akyol ve Biyolog Miharcan Őzgũr Aydın'a teőekkũr ederim.

Eğitimim boyunca birlikte çalıőtıđım, yardımlarını gũrdũđũm asistan arkadaşlarıma ve tũm laboratuvar çalıőanlarına teőekkũr ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
KISALTMALAR.....	IV
TABLO LİSTESİ.....	V
ŞEKİLLER.....	VI
I-GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
II- GENEL BİLGİLER.....	2
II.1. Kolorektal Adenokarsinomlar.....	2
II.1.1. Epidemiyoloji.....	2
II.1.2. Etyoloji.....	2
II.1.3. Lokalizasyon.....	3
II.1.4. Klinik.....	3
II.1.5. Prekürsör Lezyonlar.....	4
II.1.5.1. Aberant Kript Odağı.....	4
II.1.5.2. Adenomatöz Polipler.....	4
II.1.5.3. Diğer Polipler.....	7
II.1.6. Polipozis sendromları.....	9
II.1.6.1. Familial adenomatöz Polipozis.....	9
II.1.6.2. Hereditör Nonpolipozis kolorektal Karsinom.....	11
II.1.6.3. Hiperplastik Polipozis.....	12
II.1.6.4. Juvenil Polipozis Sendromu.....	12
II.1.6.5. “Peutz Jeghers” Sendromu.....	13
II.1.6.6. “Cowden” Sendromu.....	13
II.1.6.7. “Crokhide Canada” Sendromu.....	13
II.1.7. Kolorektal Karsinomların Patogenezi.....	13
II.1.8. Kolorektal Karsinomların Makroskopisi.....	20
II.1.9. Kolorektal Karsinomların Histopatolojisi.....	20
II.1.10. Kolorektal Karsinomların Varyantları.....	21
II.1.11. Kolorektal Karsinomlarda Evre ve Derece.....	23
II.1.12. Kolorektal Karsinomların Yayılması ve Metastaz.....	26
II.1.13. Kolorektal Karsinomların Tedavisi.....	27
II.1.14. Kolorektal Karsinomların Prognozu.....	27

III. GEREÇ ve YÖNTEM.....	29
III.1. Olgu Seçimi.....	29
III.2. İmmunohistokimya.....	29
III.3. TUNEL Yöntemi.....	30
III.4. Değerlendirme.....	30
III.5. İstatiksel Analiz.....	31
IV. BULGULAR.....	32
V. TARTIŞMA.....	50
VI. SONUÇLAR.....	58
VII. ÖZET.....	59
VIII. SUMMARY.....	61
IX. KAYNAKLAR.....	63

KISALTMALAR

APC	: Adenomatöz Polipozis Koli
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CEA	: Karsinoembriyogenik Antijen
COX	: Siklooksijenaz
DNA	: Deoksiribonukleik asit
FAP	: Familial Adenomatöz Polipozis
HNPCC	: Herediter Nonpolipozis Kolorektal Karsinom
RNA	: Ribonukleik asit
MR	: Manyetik Rezonans
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
VEGF	: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
USG	: Ultrasonografi

TABLO LİSTESİ

Tablo-I	: Kolorektal Tümörlerin Dünya Sağlık Örgütü Histolojik Klasifikasyonu.....	21
Tablo-II	: “Dukes” Evrelemesi.....	25
Tablo-III	: “Astler-Coller” Evrelemesi.....	25
Tablo-IV	: Kolorektal Tümörlerin TNM Klasifikasyonu.....	26
Tablo-V	: Primer antikörlerin klonları, inkübasyon süreleri ve dilüsyon oranları.....	30
Tablo-VI	: VEGF, COX 1, COX 2, MMP 7, Bcl 2 α skorlanması.....	31
Tablo-VII	: Adenokarsinomlu olguların cinsiyet, yaş, çap, grade özellikleri, lenf nodu metastazı durumları ile COX 1, COX 2, MMP 7, VEGF boyanma skorları.....	33
Tablo-VIII	: Adenokarsinomlu olguların cinsiyet, yaş, çap, grade özellikleri, lenf nodu metastazı durumları ile p53, Ki 67, Siklin D1 ve TUNEL boyanma yüzdeleri.....	34
Tablo-IX	: Polip tipi, cinsiyet, yaş dağılımı, yerleşim yeri ile COX 1, COX 2, MMP 7 VEGF boyanma skorları.....	35
Tablo-X	: Polip tipi, cinsiyet, yaş dağılımı, yerleşim yeri ile P53, Ki 67, Siklin D1 ve TUNEL boyanma yüzdeleri.....	36
Tablo-XI	: Tümör, polip ve normal mukozada COX 1, COX 2, MMP 7, VEGF, Bcl 2 α , P 53, Ki67, Siklin D1 ve TUNEL ile pozitif boyanan olgu sayısı ve yüzdeleri.....	43
Tablo-XII	: Tümör ve polip ve normal mukozadaki COX 2, COX 1, Bcl 2 α , MMP 7, VEGF, p53, Siklin D, Ki67 ve TUNEL boyamalarının ortalamalarının karşılaştırılması.....	44
Tablo-XIII	: Lenf nodu metastazı görülen adenokarsinomlu olgular ile lenf nodu metastazı görülmeyen olguların karşılaştırılması.....	44

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1	: Adenom karsinom sekansındaki morfolojik ve moleküler Değişiklikler.....	15
Şekil 2	: Apoptozun mekanizması.....	18
Şekil 3	: Apoptotik süreç.....	18

I-GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal karsinomlar, ölümcül karsinomlar arasında bronkojenik karsinomlardan sonra ikinci sırada gelmektedir. Kolorektal karsinomların çoğunu adenokarsinomlar oluşturur. Kolon poliplerinin değişen derecelerde adenokarsinom gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir (1-5).

Araşidonik asitten siklooksijenaz (COX) adı verilen enzimler yardımı ile prostaglandinler sentezlenir. Prostaglandin sentetaz enzimleri olarak da adlandırılan siklooksijenazların bugün siklooksijenaz 1 ve siklooksijenaz 2 olmak üzere bilinen iki izoformu vardır. Son zamanlardaki kanıtlar siklooksijenaz 2 ekspresyonunun kolon karsinom patogenezini etkilediğini göstermektedir. Bir çok çalışmada da kolorektal karsinomlarda siklooksijenaz 2 overekspresyonu gösterilmiştir. Siklooksijenaz 2'nin karsinogenezde direkt mutajenik etki göstererek, hücre proliferasyonunu arttırıp, apoptozisi inhibe ederek, anjiogenezi uyararak, hücrelerin motilite ve metastatik potansiyellerini değiştirerek, iltihap ve bağ dokusu hücreleri üzerine etki ederek karsinogenezde rol oynadığı düşünülmektedir. Yaptığımız çalışmada kolorektal karsinom ve poliplerde COX 1 ve COX 2 enzimlerinin immunohistokimyasal olarak ekspresyonunu inceledik. COX 2'nin epitelyal hücre proliferasyonuna etkisini araştırabilmek için Ki67, Siklin D antikorlarını, apoptoz üzerine etkisini incelemek için p53, Bcl 2 α antikorları ile TUNEL yöntemini kullandık. Anjioneogenez üzerine etkisini incelemek için vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) antikorunu, metastatik potansiyel üzerine etkisini araştırmak için matriks metalloproteinaz 7 (MMP 7) antikorunu uyguladık. Bu antikorlar ile aralarında bir korelasyon olup olmadığını araştırdık.

II-GENEL BİLGİLER

II.1. Kolorektal Adenokarsinomlar

Kolorektal karsinomlar dünyada görülen karsinomların ikinci en sık nedenidir. Ölümcül karsinomlar arasında bronkojenik karsinomlardan sonra ikinci sırada gelir. Kolorektal karsinomların %98'ini adenokarsinomlar oluşturur (1-3).

II.1. 1. Epidemiyoloji

Kadın ve erkekleri eşit oranda etkiler. 60-79 yaşları arasında sık görülmekle birlikte olguların %20'si 50 yaşın altındadır (1,2).

II.1.2. Etyoloji

Kolorektal karsinom insidansı yüksek kalorili ve hayvansal yağlardan zengin diyet ile beslenen ve sedanter bir yaşam tarzı olan olgularda yüksektir. Epidemiyolojik çalışmalar et tüketimi, sigara ve alkol kullanımının risk faktörü olduğunu göstermektedir. Sebze tüketimi, uzun dönem nonsteroid antiinflatuar ilaç kullanımı, östrojen replasman tedavisi ve fiziksel aktivite ise kolorektal karsinom insidansını azaltmaktadır. Son zamanlarda soru işaretlerine neden olmasına rağmen liflerin koruyucu olduğu söylenmektedir (1-4).

Epidemiyolojik faktörler ile kolorektal karsinom arasındaki ilişkinin altında yatan moleküler yol henüz bilinmemektedir. Etin pişirilmesi esnasında üretilen heterosiklik aminlerin fekal safra asitlerini stimüle etmesi ve reaktif oksijen radikalleri üretilmesinin olası bir mekanizma olduğu söylenmektedir (1). Folat gibi sebze antikarsinojenleri, antioksidanlar detoksifiye enzimleri indükler, lif fermantasyonu sonucunda koruyucu uçucu yağ asitleri üretilir. Hızlı geçiş nedeniyle kolorektal epitelle temas azalır (1,2). Kolorektal adenokarsinom gelişiminde inflamatuvar barsak hastalıkları anlamlı bir etyolojik

faktördür. Ülseratif kolit premalign bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Populasyon dayalı çalışmalar ülseratif kolitin kolorektal karsinomlardan ölüm oranını 4,4 kez artırdığını göstermektedir. Klinik çalışmalar ülseratif kolitli hastalarda kolorektal karsinom insidansının 20 kez arttığını göstermektedir. “Crohn” hastalığı ise normale göre kolorektal karsinom insidansını 3 kat artırır. Ülseratif proktit karsinom riskinin artması ile ilişkili bulunmamıştır (1).

Terapötik pelvik radyasyon nadir görülen ama iyi tanımlanmış bir etyolojik faktördür (1).

II.1.3.Lokalizasyon

Kolorektal karsinomların çoğu sigmoid kolon ve rektumda lokalizedir. Fakat son zamanlarda dağılımın değiştiğine dair kanıtlar vardır. Proksimal karsinom oranı artmıştır. Çekum, çıkan ve transvers kolonda lokalize tümörlerde mikrosatellit instabilite veya ras protoonkogen mutasyonu daha siktir (1,2,6).

II.1.4. Klinik

Tümörden görülen kanamaya bağlı hematokezya ve anemi sık görülen semptomlardır. Hastaların çoğunda barsak alışkanlığında değişme görülür. Sağ kolonda sulu feçes ve sol kolonda solid feçes ve konstipasyon sık görülen belirtilerdir. Ateş, halsizlik, kilo kaybı, abdominal ağrı, abdominal şişlik, diğer belirtilerdir. Bazı hastalar obstrüksiyon ve perforasyon komplikasyonları ile başvurur. Hastaların bir kısmı ise asemptomatiktir (1-4).

Modern görüntüleme teknikleri noninvaziv tümörleri saptama ve klinik evrelemeye izin vermektedir. Klasik baryumlu kolon grafisi ile büyük tümörler saptanırken hava kontrast radyografi ile daha erken evredeki tümörler gösterilebilmektedir. BT ile görüntüleme, MR görüntüleme ve transrektal USG derin lokal tümör invazyonu , bölgesel ve uzak metastaz varlığının saptanmasına izin vermektedir (1).

Endoskopi gelişimi tanı ve tedavide kolaylık sağlamaktadır. Kolonoskopi mukozal yüzeyin gözlenmesi ve biyopsi alınması ile lezyonların saptanmasına olanak verir. Yüzeysel lezyonlar (yassı ve deprese) ve bazı yüzeyden kabarık lezyonlar endoskopik mukozal rezeksiyon ile çıkarılabilirler (1).

II.1.5. Prekürsör Lezyonlar

Aberan kript odağı, adenomatöz polipler, konjenital polipozis sendromları kolorektal karsinom prekürsörleridir (1).

II.1.5.1. Aberran Kript Odağı

İlk olarak azoksymetan verilmiş sıçanlarda metilen mavisi ile boyalı mukozal tabanın mikroskopik incelenmesi ile ya da kromoendoskopi ile azalmış müsin içeriği gösterilmiştir. Aberan kript odağı normale göre daha genişlemiş koyu boyanmış kriptler şeklinde tanımlanmıştır. Bu epitelyal neoplazinin en erken morfolojik prekürsörüdür. Normal kolon mukozası ile adenomatöz polip arasında bir geçiş lezyonu olduğuna inanılmaktadır. Mikroskopik olarak iki ana tipi vardır. Bunlar yüksek oranda ras mutasyonu içeren hiperplastik polip özelliğinde aberan kript odağı ve APC geninde mutasyonla ilişkili displastik aberan kript odağıdır (1,3,5-7).

II.1.5.2. Adenomatöz Polipler

Displastik hücrelerden oluşan benign intraepitelyal bir neoplazmdir. Kolorektal adenomlar makroskopik olarak yüzeyden kabarık, yassı ve deprese olmak üzere üç gruba ayrılır. Yüzeyden kabarık adenomlar nonneoplastik mukozadan oluşan uzun bir sapa sahip olabilen polipleri veya sapsız polipleri içerir. Yassı ve deprese adenomlar makroskopik olarak kolay anlaşılmayan mukozal kırmızılaşıma gibi doku değişiklikleri gösteren veya boyama teknikleri ile fark edilebilen lezyonlardır (1). Adenomların kırk yaşından önce görülme sıklığı %20-30 arasında iken 60 yaşından sonra oran %40-50 arasında değişir (2). Deprese adenomlar yüzeyden kabarık ve yassı adenomlardan daha

küçüktür. Deprese adenomlarda diğer adenomlara göre daha az ras mutasyonu görülür (1).

Epitelyal yapılarına göre tubuler, villöz ve tubulovillöz olarak üç sub tipe ayrılır. En sık görülen tipi tubüler adenomdur (2). Tubulovillöz adenom görülme sıklığı, %5-10, villöz adenom görülme sıklığı %1 olarak bildirilmektedir (2). Tubuler adenomdan kolorektal karsinom gelişim oranı %2-3, tubulovillöz adenomdan kolorektal karsinom gelişim oranı %6-8, villöz adenomdan kolorektal karsinom gelişim oranı %10-18 olarak bildirilmektedir (4). Adenomların malignleşme riski polip büyüklüğüne, histolojik yapıya ve epitelyal displazinin şiddetine bağlıdır. Bir santimetrenin altındaki tubuler adenomlardan karsinom gelişimi nadirken, dört santimetreden büyük villöz adenomlarda %40'a çıkmaktadır. Şiddetli displazi genellikle villöz alanlarda görülür (2).

II.1.5.2.1. Adenomatöz Poliplerin Histopatolojisi

Adenomun %70-80'inden fazlası displastik kriptlerden oluşuyorsa tubuler adenom, %80'inden fazlası parmak benzeri yapılardan oluşursa villöz adenom olarak isimlendirilir. Eğer displastik kriptlerden ya da parmak benzeri yapılardan birinin oranı %20'den fazla olursa adenom tubulovillöz adını alır (1).

İmmunohistokimyasal olarak özellikle atipik alanlarda karsinoembriyjenik antijen (CEA) boyanmasında artış görülür. Keratin ekspresyonu adenokarsinomlara benzerdir. Hemen hemen tüm olgular bcl 2α ile pozitif boyanırken olguların küçük bir kısmında p53 “overekspresyonu” saptanır (3).

Adenomlarda bazen muskularis mukozanın altında küme yapan atipik glandlar görülebilir. Bu durum psödoinvazyon olarak adlandırılır. Tüm adenomlarda psödoinvazyon prevalansı %2-3,5 olarak bildirilmektedir. Seyrek olmayan bu durum nedeniyle yanlışlıkla olgular invaziv karsinom tanısı alabilir. Psödoinvazyonda atipik glandlar infiltratif paternde değildir. Glandlar

gevşek inflame stroma ile çevrili olup desmoplazi izlenmez. Glandların sitolojik görünümü adenomun yüzey epitelinin sitolojik görünümüne benzer. Çevre stromada bol miktarda hemosiderin granülleri bulunabilir (3,8).

II.1.5.2.1.1. Tubüler Adenom: Tubüler adenomların çoğu (%90) kolonda görülür. Kolon dışında mide ve ince barsakta da (özellikle ampulla vater çevresi) görülebilir (2). Kolonda görülenlerin %40'ı sağ kolonda, %40'ı sol kolonda ve %20'si rektumda bulunur. Otopsilerde görülme sıklığı %30-35 arasındadır (3). Yaşla birlikte görülme sıklığı artar (2,3). Çoğu asemptomatiktir. Vasküler obstrüksiyon ve ters dönmeye bağlı kanama görülebilir (2,3). Barsak alışkanlığında değişmeye neden olabilir. Makroskopik olarak büyüklüğü genellikle 1 cm'in altındadır. Sesil ya da saplı olabilir. Küre şeklinde, genellikle düz yüzeyli olup bazen lobüllere ayrılabilir. Kırmızımsı ya da çevreleyen dokudan daha koyu renklidir. Tek ya da multiple olabilir. Multipl olanlar genellikle gruplaşma eğilimindedir (2-4).

Mikroskopik olarak normal mukozaya kıyasla gland sayısı ve her bir birime düşen hücre sayısı artmıştır. Hücreler kalabalık olup iri hiperkromatik nükleusludur. Mitoz sayısı artmıştır, atipik mitozlar görülebilir. Müsin üretimi değişken olmakla birlikte genellikle azalmıştır. Bazal membran kalınlaşmamıştır. Bu değişiklikler ilk olarak glandların süperfisyal bölümünü etkiler. Fokal villöz alanlar görülebilir. Villöz alan görülme insidansı polipin büyüklüğü ile ilişkili olup 1 cm'in üstündeki poliplerde oran %76'dır (3).

Tubüler adenom nadiren morular formasyon gösterebilir. Fokal skuamöz metaplazi, sitoplazmik berrak hücre değişiklikleri, az miktarda panet hücresi, endokrin hücre içerebilir. Daha az sıklıkta stromasında malakoplaki, osseöz metaplazi ve başka bir yerden adenom içine metastaz gelişebilir (3).

II.1.5.2.1.2. Villöz Adenom: En sık rektum ve rektosigmoidde lokalizedir. Genellikle sesil ve büyüktür. Çevreleyen mukozadan 1-3 cm kabarıklık kadifemsi veya karnıbahar benzeri bir görünüm oluşturur (2). Papiller yapılar belirgindir (4). Diğer paternlere göre daha sık semptom verir. Rektal

kanamaya neden olabilir. Nadiren protein ve potasyumdan zengin mukoid materyal sekrete edebildiği bildirilmiştir (2).

II.1.5.2.1.3. Serrated Adenom: İlk olarak 1990 yılında Longacre ve Fenoglio- Preiser tarafından tanımlanmıştır. Yapısal görünümü hiperplastik polipe, sitolojik görünümü adenoma benzer (7-9). Küçük büyütmede hiperplastik polipe benzer şekilde testere dişi görünümündedir. Saplı ya da sesil olabilir. Ortalama çap 2-10 mm arasında değişmektedir (4,5). En sık sigmoid kolon ve rektumda görülür (4). Kriptlerin üst bölümünü ve luminal yüzeyi döşeyen epitel displastiktir. Serrated adenom tubuler ve villöz komponent içerebilir (1,4,5,7-9). Sitoplazmik eozinofili dikkat çekicidir (5). İnsidansı %0,6-1,3 arasındadır. Bu lezyonlarda düşük seviyede mikrosatellit instabilite ve müsin değişiklikleri karakteristiktir (1).

II.1.5.2.1.4.Flat (Yassı) Adenom: Bir adenoma yassı diyebilmek için lezyonun yüksekliğinin çevre mukozanın yüksekliğinin iki katından daha az olması gereklidir (8).

II.1.5.3. Diğer Polipler

II.1.5.3.1. Hiperplastik Polip: Nadiren 5 mm'i geçen sesil poliplerdir. Ancak saplı olabilir ve daha büyük boyutlara da ulaşabilir. En sık rektumda lokalizedir. Sigmoid kolon ve daha az sıklıkla proksimal kolonda da gözlenir (4). Yetişkinlerde dikkatli bir muayene sonucu saptanma oranı %30-50 arasında değişir (2). Makroskopik olarak kubbe şeklinde çevre mukoza ile aynı renkte veya daha soluk renktedir. Mukozal kıvrımların tepesine yerleşir (2,4).

Prolifere epitelle döşeli testere dişi görünümünde kriptlerle karakterize anormal mukozal büyüme olarak tanımlanır. Epitelyal nükleuslar küçük, düzenli, yuvarlak olup bazale lokalizedir (1). Sitoplazmaları belirgin müsin vakuelleri içerir. Genellikle normal goblet hücrelerinden büyüktür (1,3). Tubüler ve villöz adenomun aksine mitotik aktivite normal mukozadaki gibi

sadece bazalde artmıştır ve yüzey epitelinin altındaki bazal membran kalınlaşmıştır. Büyük hiperplastik poliplerde adenomatöz alanlar bulunabilir (2,3).

Hiperplastik polip nonneoplastik kabul edilmekle birlikte ras mutasyonu sık olup hiperplastik poliplerde klonalite gösterilmiştir. Kolorektal adenom ve adenokarsinomda belirlenen biyokimyasal anormallikler, epidemiyolojik faktörler hiperplastik polip içinde geçerlidir. Bu bulgular hiperplastik polipin neoplastik olabileceğini düşündürmekle birlikte APC/beta katenin inaktivasyonunun yokluğu nedeniyle moleküler patogenezinin adenom adenokarsinom sekansından farklı olduğu düşünülmektedir (1).

II.I.5.3.2. Mikst hiperplastik polip/adenom: Hiperplastik polip ve adenomu birlikte içerir (1,5). Bu antitenin varlığı hiperplastik poliplerin nonneoplastik olmasının sorgulanmasına neden olmuştur. Rektosigmoid proksimalinde ve büyük hiperplastik poliplere kuşkuyla yaklaşıması ve total eksizyonu önerilmektedir (5).

II.I.5.3.3. Juvenil Polip: Sporadik juvenil polip sıklıkla tek ve büyük (1-3 cm) olup genellikle saptır. Ancak sessil de olabilir. Rengi kırmızı olup granüler görünümündedir. Yuvarlak, düz veya hafifçe lobüle olabilir (2-4). Hamartomatöz kabul edilir. En sık beş yaş altı çocuklarda görülür. Ancak olguların 1/3'ü erişkin dönemdedir (3). Olguların büyük çoğunluğu rektumda yerleşmiştir (2-4). Yüzeyi erode ve gevrektiler. Kesit yüzeyinde tipik olarak müsün içeren kistler bulunur. Histopatolojik incelemede müsün içeren kistik dilate glandları ödemli, granülasyon dokusu görünümünde bol stroma çevreler. Glandlar reaktif değişiklikler gösteren kübik ya da kolumnar hücrelerle döşelidir (1-4). Nadiren sporadik juvenil polipte intraepitelyal neoplazi (displazi), hatta karsinom alanı bulunabilir (1,4).

II.I.5.3.4. “Peutz-Jeghers” Polipleri: Mide, ince barsak ve kolonda görülen hamartomatöz bir lezyondur. Tek ya da “Peutz-Jeghers” Sendromunda

olduğu gibi multipldir. Büyüklüğü değişkendir. Bir santimetreden küçük olabildiği gibi üç buçuk santimetreden daha büyük de olabilir. Saplı ya da sesil olup sert ve lobüle konturludur (2,4).

Mikroskopik olarak muskularis mukozadan kaynaklanan dallanan kas ağı ile çevrili glandlardan oluşur. İzlenen ađ yapısı küçük büyütmede yılbaşı ağacı görünümüne neden olur (2-4). Epitelyal komponent normal intestinal epitele benzer. İnce barsaktaki poliplerde epitel goblet, absorbtif hücreler ve endokrin ve panet hücrelerinden oluşur. Kalın barsakta ise epitel baskın olarak goblet hücresi içerir. Genellikle dallanan kriptler hipertrofik goblet hücreleri ile örtülüdür (4). Bu hamartamatöz polipler malign potansiyel taşımaz (2). Ancak “Peutz-Jeghers” polipinden de gastrointestinal karsinom gelişebileceği bildirilmiştir (4).

II.1.5.3.5. İnflamatuvar Polip: Morfolojik olarak juvenil polipe benzer. Reaktif epitel, inflame granülasyon dokusu ve fibröz dokunun değişik oranlarda kombinasyonundan oluşur (1). Barsağın intestinal hastalıklarına sekonder görülür. Ülseratif kolitli olguların %10-20’sinde mevcuttur. Ayrıca “crohn” hastalığı, iskemik hastalıklar, amibiyazis ve şistozomiyaziste de görülebilir (4).

II.1.5.3.6. Lenfoid Polip: Mukoza ve/veya submukozada lokalize belirgin germinal merkez içeren mukozaya ilişkili lenfoid dokudan oluşur (1,8).

II.1.6. Polipozis Sendromları

II.6.1. Familial Adenomatöz Polipozis

Çok sayıda adenomatöz polip ile karakterli otozomal dominant geçiş gösteren bir hastalıktır. Adenomatöz Polipozis Koli (APC) geni 5. kromozomun uzun kolunda (5q21-22) lokalizedir. Familial adenomatöz polipozis (FAP) olgularında APC geninde “germline” mutasyon vardır. Diğer allelde somatik mutasyon ve delesyonun oluşması halinde kolon karsinomu

oluşur (2,3,5). APC gen mutasyonunun geniş bir klinik spektrumu bulunur. Klinik görünümüne göre bunlar klasik familyal adenomatöz polipozis, yassı familyal adenomatöz polipozis, “Gardner” Sendromu ve “Turcot” Sendromu olarak klasifiye edilebilir (2).

Klasik FAP tanısı için en az 100 adet adenomatöz polip varlığı gerekmektedir (1-3). Polipler on ve yirmi yaşlar arasında endoskopik inceleme ile saptanabilir. Yaşla birlikte sayı ve büyüklükleri artar. Ortalama olarak 40 yaş civarında kolorektal karsinom gelişir. 20-25 yaşları arasında karsinom gelişme riski %1-6'dır (1). Rektum ve sigmoid kolonda daha çok olmak üzere tüm kolon boyunca çeşitli büyüklükte adenomatöz polipler mevcuttur. Gastrointestinal kanalın mide, ince barsak gibi diğer bölümlerinde de polipler görülebilir. Safra kesesi, pankreas, tiroid, adrenal gland gibi diğer organlarda da karsinom gelişebilir (1,3).

Klasik FAP olgularının 1/4'ünde k-ras mutasyonu bildirilmiştir. Bu mutasyon morfolojik olarak normal görünümdeki mukozada da artmış görünümdeydir. Yapılan mikroanatomik çalışmalar polipi döşeyen epitelde ve arada kalan sağlam mukozayı döşeyen epitelde DNA sentezinin devam ettiğini göstermiştir. Benzer şekilde intestinal mukozal proliferasyonda zorunlu bir enzim olan ornitin dekarboksilaz hem polipte hem de sağlam mukozada artmıştır (3).

Tedavi olarak abdominal kolektomi ile ileoproktotostomi ya da proktokolektomi uygulanabilir. Abdominal kolektomi ile ileoproktotostomi ile anal fonksiyonlar korunabilir. Ancak rektal güdükte de polip ya da karsinom gelişebileceği için bu işlem uygulanan olguların izlenmesi gerekmektedir. Bu yüzden bazı cerrahlar kabul eden hastalarda proktokolektomi yapılmasını önermektedir (3).

Gardner Sendromunda kolorektal adenomlara ek olarak epidermoid kist, osteomlar, dental anomaliler ve desmoid tümör görülür (1,2). APC

geninde hem germline hem de somatik mutasyon görülür. Gelişiminde bu genin her iki allelinde de inaktivasyon olduğu düşünülmektedir (3) Mutasyon APC geninde 1453-1578 kodonları arasındadır (1). FAP sendromunda olduğu gibi kolorektal karsinom gelişme riski yüksektir (3). Aynı zamanda duodenum ve tiroid karsinom görülme oranı da yüksektir (2).

Turcot Sendromunda ise kolorektal adenomatöz polipler yanında beyin tümörleri görülür (2,3). Resesif olarak geçiş gösterir. APC geninde mutasyon veya “mismatch” tamir geninde mutasyon sonucunda gelişir(3).

Yassı (flat) familial adenomatöz polipozis sendromunda genellikle sağ tarafta yerleşen düz ve nadiren de eleve polipler görülür (3). Polip sayısı genelde 100’ün (ortalama 30) altındadır (2,3). Çoğunlukla klasik FAP sendromundan 15 yıl daha geç, ancak sporadik kolorektal karsinomdan 10 yıl daha erken karsinom gelişir (4). Yaşam boyu karsinom gelişme riski %50 olarak bildirilmektedir (2)

II.1.6.2. Herediter Nonpolipozis Kolorektal Karsinom

Kolorektal karsinom, endometrial karsinom, ince barsak, üreter veya renal pelvis karsinomu gelişimi ile karakterize otozomal dominant kalıtılan bir hastalıktır. Kolorektal karsinomların %5-10’unu oluşturur (5). Tanı koymak için Amsterdam kriterleri kullanılır (1,4,8). Bunlar:

- 1- En az üç akrabada herediter nonpolipozis kolorektal karsinom (HNPCC) ile ilişkili karsinom (kolorektal, endometrium, ince barsak, üreter veya renal pelvis karsinomu) olmalıdır.
- 2- Bir hastanın en az iki adet birinci derecede akrabasında kolorektal karsinom görülmelidir.
- 3- Ard arda gelen en az iki kuşak etkilenmelidir.
- 4- En az bir tümör 50 yaşından önce tanı almalıdır.
- 5- FAP dışlanmalıdır.
- 6- Tümörler histolojik olarak doğrulanmalıdır.

Kolorektal lezyonlar erken yaşlarda, ortalama 45 yaş civarında tanı alır. Olguların 2/3'ünde proksimal kolonda lokalizedir. Yüzde doksanın üstünde olguda mikrosatellit instabilitesi vardır (1).

II.1.6.3. Hiperplastik Polipozis

Hiperplastik polipozis, genellikle ailesel, kolon ve rektum boyunca yaygın, özellikle proksimal kolonda yerleşen multiple hiperplastik polip ile karakterizedir. Hiperplastik polipozis sendromunda görülen polipler rektosigmoidde görülen soliter hiperplastik poliplerden daha büyüktür. WHO tarafından önerilen tanı kriterleri şunlardır:

- 1- Birinci dereceden akrabasında hiperplastik polipozis öyküsü olan bir kişide sigmoid kolon proksimalinde lokalize herhangi bir sayıda hiperplastik polip
- 2- Tüm kolonda yaygın otuzun üzerinde herhangi bir çapta hiperplastik polip
- 3- Sigmoid kolon proksimalinde ikisinin çapı 10 mm'den büyük en az 5 hiperplastik polip

Çapları soliter hiperplastik polipten daha büyük olup genellikle histopatolojik olarak soliter hiperplastik poliplere benzer. Proliferasyon zonu kript bazalindedir. Küçük bir kısmında adenomlara benzer displazi odağı bulunabilir. Sporadik hiperplastik polipler genellikle karsinom riskinde bir artış göstermezler. Ancak hiperplastik polipozisin karsinom öncüsü olduğu yönünde kanıtlar da bulunmaktadır (1,4).

II.1.6.4. Juvenil Polipozis Sendromu

Makroskobik ve mikroskobik olarak sporadik juvenil polip görünümündedir. Stemper tarafından 1975 yılında bildirilmiştir. Kolorektumda 5'den fazla polip veya gastrointestinal trakt boyunca juvenil polip ya da juvenil polip aile hikayesi ile her hangi bir sayıda juvenil polip varlığında juvenil

polipozis tanısı konulur (1,4). Juvenil Polipozis Sendromlu hastalarda kolorektal karsinom insidansı yüksektir. Bu olgularda %30-40 oranında kolorektal karsinom, % 10-15 oranında üst gastrointestinal karsinom görülmektedir (4). Ancak tek başına juvenil polip neoplastik olarak kabul edilmez (2,3).

II.1.6.5. “Peutz-Jeghers” Sendromu

Mukokutanöz pigmentasyon ve gastrointestinal hamartamatöz poliplerle karakterize otozomal dominant kalıtılan bir sendromdur (4). Bu sendrom LKB1 genindeki mutasyona bağlı olarak oluşur (1,2). Bu gen serin/treonin aktivitesini kodlar (2). Üç ya da daha fazla “Peutz-Jeghers” polipi; aile hikayesi taşıyan herhangi bir sayıda “Peutz-Jeghers” polipi; karakteristik mukokutanöz pigmentasyon ve aile hikayesi veya karakteristik mukokutanöz pigmentasyon ve herhangi bir sayıda “Peutz-Jeghers” polipi varlığında tanı koyulur (4). Bu sendromda normal popülasyona göre karsinom insidansı artmıştır (1-4). Gastrointestinal ve nongastrointestinal karsinom gelişebilir. Memede %54, kolonda %39, pankreasda %36, midede %29 ve overde %21 oranında karsinom geliştiği bildirilmektedir (4).

II.1.6.6. “Cowden” Sendromu

Üç germ yaprağından gelişen multipl hamartomlarla karakterize otozomal dominant geçiş gösteren bir sendromdur. İntestinal hamartamatöz polip, fasial trikilemmomlar, akral keratoz ve oral papillom karakteristiktir (2,4). Bu hamartomlar malign potansiyel taşımaz ancak bu sendromda tiroid ve meme tümörlerine yatkınlık vardır (4).

II.1.6.7. “Cronkhide Canada” Sendromu

Multiple juvenil tipte kolorektal polip ile karakterize kalıtsal olmayan bir sendromdur. Bu sendromdaki polipler diğer juvenil poliplere göre daha az oranda saptır. Bu hastalarda poliplerde de adenomatöz değişiklikler ve kolorektal karsinom gelişebilir (1-3)

II.1.7. Kolorektal Karsinomların Patogenezi

Kolorektal karsinomlar hücre ölümü ve hücre çoğalmasının bozulması ile ilişkilidir. Hücre büyümesindeki bu bozulma uzun dönemde karsinoma yol açar. Hücre ölümündeki azalma patolojik hücrelerin birikimine neden olur (6). Kolorektal karsinogenezde genomik instabilitenin tipine bağlı olarak iki farklı moleküler gelişim modeli tanımlanmıştır (1,2,10):

- a- Kromozomal instabilite arayolu.
- b- DNA mikrosatellit instabilite arayolu

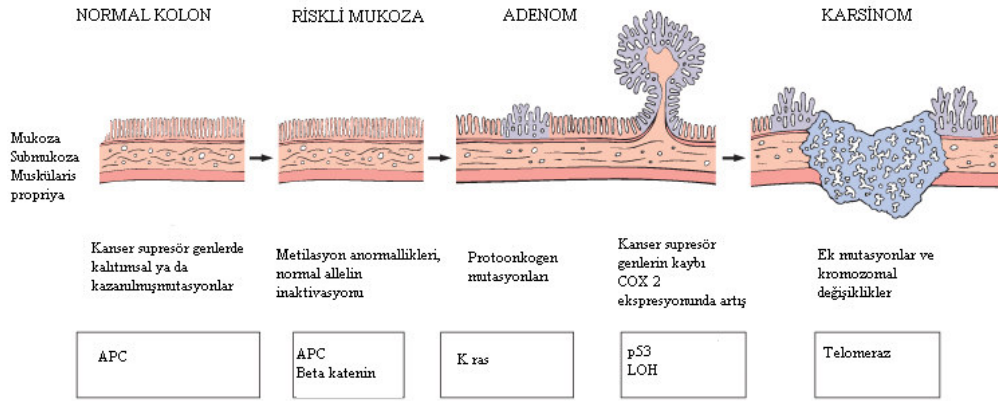
a- Kromozomal instabilite arayolu: APC/ beta katenin yolu olarak ta isimlendirilir. Bu yolda çeşitli onkojen ve tümör süpresör genlerde görülen seri mutasyonların ardı ardına birikimi sonucu kromozomal instabilite ortaya çıkmaktadır. Moleküler değişikliklere bir dizi morfolojik değişiklik eşlik eder ve lezyonun progresyonu sonucu kolorektal karsinom gelişir. En erken lezyon, lokalize epitel proliferasyonudur. Bunu küçük adenom oluşumu ve daha sonra bunların büyümesi ile displastik değişikliklerin ortaya çıkması ve en sonunda invaziv karsinom gelişmesi takip eder (2,5). Bu modele adenom- karsinom sekansı ismi verilir (Şekil 1). İlk olarak Fearon ve Vogelstein tarafından 1990 yılında tanımlanmıştır (2,3,5). APC tümör süpresör gende mutasyon adenomdan tümör gelişimi boyunca erken dönemde yer almakta daha sonra adenomatöz evre boyunca k-ras mutasyonu, maligniteye geçişte ise p53 mutasyonu ve kromozom 18q delesyonundan söz edilmektedir (2,5). APC geni hücre adezyonu ve hücre çoğalmasını düzenler. APC geni yokluğunda hücre adezyonu azalır ve hücre çoğalması artar (2). APC beta katenin seviyesini düzenler. Beta katenin kadherin temelli hücre adezyon ailesindedir. E-kadherine bağlanmazsa hücre adezyonuna katılmaz ve sitoplazmik degradasyon kompleksleriyle yıkılır (2,9-13).

b- DNA mikrosatellit instabilite arayolu: İkinci ara yol ise DNA “mismatch” onarım genlerindeki genetik bozukluklar nedeniyle oluşan mikrosatellit instabilitesidir. DNA “mismatch” tamir genleri spontan mutasyonlar sonucu DNA’da oluşan uyumsuz baz çiftleşmelerini belirler ve

hatanın tespit edilmesinden sonra ortadan kaldırılması ve düzelmiş nükleotidin yerleştirilmesinden sorumludur. Etkin “mismatch” tamir gen aktivitesi yokluğunda mikrosatellit instabilite (MSI) gözlenir (2,5). MSI gösteren tümörlerin farklı klinik özellik gösterdiği saptanmıştır. Bu tümörler proksimal kolonda lokalizedir (1). Genellikle müsinöz ve “undiferansiye” özelliktedir. Stromalarında belirgin lenfositik infiltrasyon bulunmaktadır (3,5).

Kolon Karsinomunda Etkili Görünen Bazı Gen ve Proteinler

p53 Geni: Bir çok farklı dokudan eksprese edilen; hücre büyümesi, replikasyonu ve apoptozu düzenleyen tümör süpresör genidir (2,13). DNA hasarına cevap olarak fosforile olur ve DNA hasarını fark eder. Hücreyi G1 fazında duraklatarak DNA tamirini kolaylaştırır ve DNA tamir genlerini aktive eder. Hasar giderilemezse hücreyi apoptoza uğratar. On yedinci kromozomun kısa kolunda lokalizedir. p53 mutasyonu kolon karsinomu yanında meme, over, mesane, akciğer tümörleri gibi bir çok farklı tümörde de bildirilmiştir (2).



Şekil 1: Adenom karsinom sekansındaki morfolojik ve moleküler değişiklikler*

* Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 2005

Siklooksijenazlar: Siklooksijenaz enziminin farklı genler tarafından kodlanan iki izoformu vardır (14-19). Siklooksijenaz 1 enzimini kodlayan gen

9. kromozomda, siklooksijenaz 2 enzimi kodlayan gen ise 1. kromozomda lokalizedir (20). Siklooksijenaz 1 ve 2 enzimleri prostoglandin sentezinde anahtar basamaktır (21-25). Siklooksijenazlar araşidonik asiti prostoglandin H2'ye çevirir, prostoglandin H2'de prostaglandin E2, prostaglandin F2 alfa, prostoglandin D2 ve diğer eikozonoidlere metabolize olur (26-30). Siklooksijenaz 1 (COX 1) bir çok dokuda eksprese edilir ve doku homeostazında rol oynar (31-34). Siklooksijenaz-2 ise değişik hücreler ve dokulardan salınır (35-37). Siklooksijenaz 2 (COX 2) bakteriyel endotoksin, tümör nekroz faktör gibi sitokinler, "phorbol" esterleri gibi mitojenler, epidermal büyüme faktörü gibi büyüme faktörlerini içeren bir çok stimulus tarafından indüklenir (38,39). Yapısal benzerliklerine rağmen iki izoformun doku bioloji ve hastalıklarındaki rolleri ve ekspresyonlarının düzenlenmesi farklıdır (40,41).

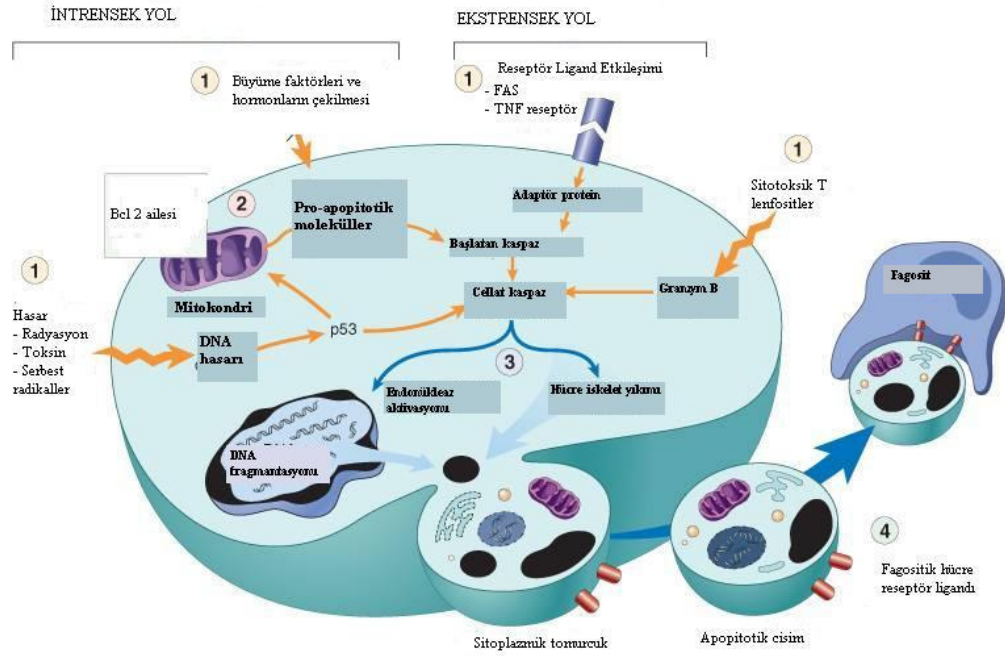
Siklooksijenaz-2 bir çok karsinom tipinde up-regüledir. Siklooksijenaz-2 neoplastik büyümeyi indükler, anjiogenez ve tümör invazivliğinden sorumludur. Apoptoza direnci artırır (32-35). Son zamanlardaki kanıtlar siklooksijenaz-2 ekspresyonunun kolon karsinom patogenezini etkilediğini göstermektedir. Bir çok çalışmada da kolorektal karsinomlarda siklooksijenaz 2 overekspresyonu gösterilmiştir (14-18). Çok agresif tümörlerde siklooksijenaz 2 ekspresyonun daha da arttığını düşündüren çalışmalar mevcuttur. Oshimo ve ark. insan familyal polipozis modeli farelerde siklooksijenaz 2 genindeki olumsuz mutasyonun kolon poliplerinin sayı ve büyüklüğünü dramatik olarak azalttığını bildirmişlerdir. Kolorektal adenomatöz polip büyüklüğü, tipi ve displazi derecesi ile bağlantılı olarak siklooksijenaz 2 ekspresyonunun arttığı düşünülmektedir (18,21,27).

Son zamanlardaki epidemiyolojik çalışmalar uzun dönem aspirin ve non-steroid anti inflamatuvar kullanımının kolorektal karsinom mortalitesinde azalmaya yol açtığını göstermektedir (14-18).

Bcl 2 α onkogeni: Apoptoz programlanmış hücre ölümü olarak tarif edilir. Aktif enerji gerektiren ve farklı genler tarafından kontrol edilen bir süreçtir. Bcl 2 α apoptozu inhibe ederek karsinogenezde önemli bir rol oynar. 18. kromozomun uzun kolunda lokalizedir. Başlangıçta foliküler B hücreli lenfomada tanımlanmış daha sonra diğer malign ve premalign lezyonlarda da saptanmıştır. Bcl 2 α geni esas olarak mitokondrial membranda lokalize 26 kDa ağırlığında bir proteini kodlar. Hücresel çoğalmayı etkilemeden apoptozu inhibe eder (10). Apoptozun gerçekleşmesini belirleyen kritik faktör mitokondri membranındaki bcl 2/baks oranının değişmesidir. Hücre dışında büyüme faktörü ya da hormon düzeyinin azaldığı durumlarda baks proteini sitoplazmadan mitokondri membranına taşınır. Mitokondri membranında bcl 2/baks oranının azalması membran geçirgenliğini değiştirir. Sitokrom c mitokondriden sitoplazmaya geçer. Bu olayla normalde bcl 2'ye bağlı bir protein olan Apaf-1 de bcl 2'den ayrılıp sitoplazmaya salınır. Her iki protein sitoplazmadaki kaspaz ile birleşerek apoptozom denen yapıyı ve dolayısıyla kaspaz aktivasyonunu gerçekleştirir (2) (Şekil 2).

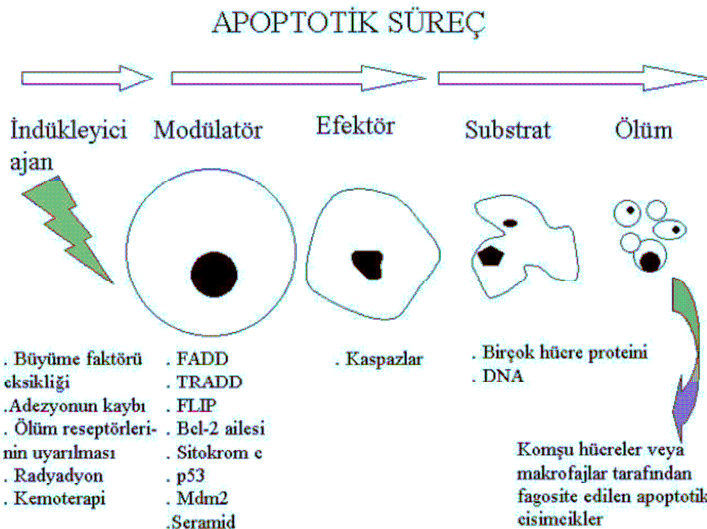
Apoptozun morfolojisinde en erken görünüm DNA fragmantasyonudur . Morfolojik olarak en karakteristik bulgu ise kromatin kondanzasyonudur. Bu dönemde kromatin kümeleri nükleus membranına marjinalize olur. Daha sonra sitoplazmik tomurcuklar ve apoptotik cisimler oluşur ve bu yapılar fagosite edilir (2). Apoptoz TUNEL yöntemi ile de gösterilebilir. TUNEL yöntemi enzimatik in situ işaretleme yöntemidir. Bu yöntemde oluşan DNA kırık uçlarına terminal deoksinükleotid transferaz enzimi kullanılarak işaretli nükleotidler eklenmektedir (42).

Ki-67: Prolifere hücrelerden salınan nükleer bir proteindir. Özellikle hücre siklusunun geç G1, S ve M fazında eksprese edilir. G0 fazında bu protein negatiftir. Tümör içerisindeki çoğalan hücreleri gösterme özelliğine sahiptir. Çeşitli tümörlerde prognozla ilişkisi gösterilmiştir (2,10).



Şekil 2: Apoptozun mekanizması*

* Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 2005



Şekil 3: Apoptotik süreç**

**Ulukaya E., Apoptoz Ders Notları, Uludağ Üniversitesi, 2003

Vasküler endotelyal büyüme faktörü: Damarlanma hem tümör büyümesinde hem de metastaz oluşumunda çok önemlidir. Damarlanma sadece hücre büyümesini sağlamaz aynı zamanda endotelden sağlanan çeşitli büyüme faktörleri sayesinde tümör büyümesini indükler (2). Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) anjiogenez yoluyla tümör progresyonu ve metastaza neden olan homodimerik, disülfid bağımlı bir glikoproteindir. Kromozom 6p21.3 te lokalizedir. İlk kez makromoleküllerin damardan aşırı geçişinden sorumlu olduğu gösterilmiştir. Endotel hücrelerinin güçlü mitojenidir. Hücre migrasyonunu artırır. Ayrıca makrofajlar üzerine kemotaktik aktivitesi rapor edilmiştir. İnsan karsinomlarının patogenez ve prognozundaki rolü bir çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (42,43).

Matriks metalloproteinazlar: Bağ doku komponentlerini yıka kapasitesine sahip proteolitik enzimlerdir (44,45). Kollojenaz, jelatinaz, “stromelysin” ve membran tip metalloproteinazları içeren geniş bir grup oluşturur (46). Adenomdan karsinoma geçişte başlıca adım bazal membran ve ekstrasellüler matriks yıkımıdır. Matriks metalloproteinazlar bu süreçte eşlik eder. Ancak son zamanlardaki kanıtlar matriks metalloproteinazların tümör progresyonunda çok kompleks bir rol oynadığını göstermektedir. Mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır (47). Matriks metalloproteinaz 7, matrilizin olarak da isimlendirilir (48,49). MMP 7 kolorektal karsinom ve diğer epitelyal tümörlerden salgınır. Kolorektal karsinomlarının %80’inde MMP 7 overekspresyonu saptanmıştır. Kolon adenomlarının büyümesinde önemli bir role sahiptir. Ek olarak karsinom hücrelerinin invaziv ve metastatik potansiyelinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (47,50,51).

Siklin D1: Hücre siklusunun düzenlenmesi hücre döngüsünün tüm fazlarında ortamda bulunan siklin ismi verilen moleküller ile siklusun bazı dönemlerinde ortaya çıkarak siklinlere bağlanan ve onları yıkan siklin bağımlı kinazlar yardımıyla olur. Bu sistemdeki bozukluk sonucunda denge hücre proliferasyonu yönüne kayar. Siklin D1 CCND1 geni tarafından kodlanır. G1

fazından S fazına siklusun değişimine neden olur. Siklin D1 hücre siklusunda ilk yükselen siklidir (2). Dolayısıyla hücre çoğalmasında rolü bulunmaktadır.

II.1.8. Kolorektal Karsinomların Makroskopisi

Intraluminal büyümeyi gösteren eksofitik, intraluminal büyümeyi gösteren endofitik, diffüz infiltratif , duvarı çepeçevre saran tarzda (anüler) büyüyebilir. Bu paternler birlikte de görülebilir. Proksimal kolonda yerleşen tümörler genellikle eksofitik kitleler oluştururken, inen kolonda yerleşen tümörler çoğunlukla endofitik ve anuler kitleler oluşturur. Adenokarsinomların kesit yüzeyi genellikle homojen görünümdeydir. Nekroz alanları görülebilir. Makroskopik olarak müsin seçilebilir(1,3,4).

II.1.9. Kolorektal Karsinomların Histopatolojisi

Adenokarsinom tanısı için displastik hücrelerle döşeli genellikle farklı büyüklük ve şekilde glandüler yapılardan oluşan tümörün muskularis mukozayı geçtiğinin görülmesi gereklidir (1,2). Kolorektal tümörlerin Dünya Sağlık Örgütü Histolojik Klasifikasyonu tablo-I’de verilmiştir.

Adenokarsinomun morfolojik kriterlerini taşıyan, epitele sınırlı ya da tüm lamina propriayı dolduran ancak muskularis mukozayı geçip submukozaya ilerlemeyen lezyonların metastaz yapma kapasitesi yoktur. Günümüzde bu lezyonların adlandırılması için epitele sınırlı, bazal membranı geçmeyen lezyonlar için in situ adenokarsinom yerine yüksek dereceli intraepitelyal neoplazi, lamina propriayı dolduran lezyonlar için ise intramukozal adenokarsinom yerine intramukozal neoplazi terimleri tercih edilmektedir (1).

Tablo- I: Kolorektal Tümörlerin Dünya Sağlık Örgütü Histolojik Klasifikasyonu

<p>I- EPİTELYAL TÜMÖRLER</p> <p>a- Adenom</p> <p style="padding-left: 20px;">Tubuler</p> <p style="padding-left: 20px;">Villöz</p> <p style="padding-left: 20px;">Tubulovillöz</p> <p style="padding-left: 20px;">“Serrated”</p> <p>b- Kronik inflamatuvar hastalıklarla ilişkili intraepitelyal neoplazi(displazi)</p> <p style="padding-left: 20px;">Düşük dereceli glandüler intraepitelyal neoplazi</p> <p style="padding-left: 20px;">Yüksek dereceli glandüler intraepitelyal neoplazi</p> <p>c- Karsinom</p> <p style="padding-left: 20px;">Adenokarsinom</p> <p style="padding-left: 20px;">Müsinöz adenokarsinom</p> <p style="padding-left: 20px;">Taşlı yüzük hücreli adenokarsinom</p> <p style="padding-left: 20px;">Küçük hücreli karsinom</p> <p style="padding-left: 20px;">Skvamöz hücreli karsinom</p> <p style="padding-left: 20px;">Adenoskvamöz karsinom</p> <p style="padding-left: 20px;">Medüller karsinom</p> <p style="padding-left: 20px;">Andiferansiye karsinom</p> <p>d- Karsinoid(İyi diferansiye endokrin neoplazm)</p> <p style="padding-left: 20px;">Eç hücre, serotonin üreten neoplazm</p> <p style="padding-left: 20px;">L hücre, glukagon benzeri peptid ve PP/PYY üreten tümör</p> <p style="padding-left: 20px;">Diğerleri</p> <p>e-Mikst karsinoid adenokarsinom</p> <p>f- Diğerleri</p>	<p>II- NON- EPİTELYAL TÜMÖRLER</p> <p>a- Lipom</p> <p>b- Leiomyom</p> <p>c- Gastrointestinal stromal tümör</p> <p>d- Leiomyosarkom</p> <p>e- Anjiosarkom</p> <p>f- Kaposi sarkom</p> <p>g- Malign melanom</p> <p>h- Diğerleri</p> <p>i- Malign lenfoma</p> <p style="padding-left: 20px;">MALT tipi marjinal zon B hücreli lenfoma</p> <p 20px;"="" padding-left:="" style="padding-left: 20px>“Mantle” hücreli lenfoma</p> <p style=">Diffüz büyük B hücreli lenfoma</p> <p 20px="" padding-left:="" style="padding-left: 20px>“Burkitt” Lenfoma</p> <p style=">“Burkitt” benzeri/atipik</p> <p 20px;"="" padding-left:="" style="padding-left: 20px>“Burkitt” lenfoma</p> <p style=">Diğerleri</p>
	<p>III- SEKONDER TÜMÖRLER</p>
	<p>IV- POLİPLER</p> <p>a- Hiperplastik(metaplastik)</p> <p>b- “Peutz-Jeghers”</p> <p>c- Juvenil</p>

II.1.10. Kolorektal Karsinomların Varyantları

Müsinöz adenokarsinom: Lezyonun %50’den fazlası ekstrasellüler müsin oluşuyor ise müsinöz adenokarsinom olarak isimlendirilir. Bu varyant malign epitel hücreleri içeren ekstrasellüler müsin birikimi ile karakterizedir. Mikro-satellit instabilite oranı yüksektir (1). Kolorektal karsinomların %15’ini oluşturur ve çoğunluğu rektumda yerleşir (3). Villöz adenom, ülseratif kolit, geçirilmiş kolit ve daha önce uygulanan pelvik

radyasyon ile ilişkilidir (3,4). Nonmüsinöz kolorektal karsinoma kıyasla daha ileri evrede başvurur, yaygın perirektal yayılım gösterir. Lenf noduna metastaz yapma oranı yüksektir ve prognozu daha kötüdür (4).

Taşlı yüzük hücreli karsinom: Genellikle genç erişkinleri etkileyen nadir görülen bir formudur. Makroskopik olarak duvarda diffüz gelişim paterni gösterir.

Mikroskopik olarak çok az ya da hiç gland oluşturmayan diffüz gelişim paterni mevcuttur. Tümör hücrelerinin %50'den fazlasında belirgin intrasitoplazmik müsin bulunur. İntrasellüler müsin birikimi nükleusu iter ve tipik taşlı yüzük hücreli görünümüne neden olur. Müsinöz adenokarsinomun aksine müsin birikiminin çoğu intrasellülerdir (1,3). Lenf nodu, peritoneal yüz, over ve nadiren karaciğer metastazı görülür. Peritoneal yayılım esas yayılma paternidir ve prognozu oldukça kötüdür. Mide ya da meme de yerleşen primer tümörden metastaz mı yoksa kolonun primeri mi olduğu dikkatle incelenmelidir. İmmunohistokimyasal boyamalarda sitokeratin 7 (-)/ sitokeratin 20(+) boyanma paterni primer; sitokeratin 7 (+)/ sitokeratin 20(-) boyanma paterni metastaz lehine değerlendirilmesinde yardımcıdır (3,8).

Adenoskuamöz karsinom: Birbirinden ayrı ya da karışık olarak skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom alanları içerir. Bir tümörün adenoskuamöz olarak isimlendirilmesi için skuamöz diferansiyasyon alanlarının nadir küçük alanlardan daha fazla olması gereklidir. Kalın barsağın pür skuamöz hücreli karsinomu nadirdir (1).

Medüller Karsinom: Nadir görülen bir varyanttır. Veziküler nükleuslu, bol pembe sitoplazmalı hücre tabakaları ve belirgin intraepitelyal lenfosit infiltrasyonu ile karakterizedir. Genellikle kadınlarda çekum ya da sağ kolonda yerleşir. Mikro- satellit instabilite ile karakterizedir (1,3).

Andiferansiye karsinom: Epitelyal tümör ötesinde diferansiyasyon göstermez. Tipik olarak mikro-satellit instabilitesi ile ilişkilidir (1). İntrasitoplazmik müsin yokluğu kötü diferansiye adenokarsinomden ayırımında yardımcıdır. Mikroskopik olarak küçük büyütmede itici tarzda gelişen iyi sınırlı kitle (medullar patern) oluşturur. Büyük büyütmede tümör hücreleri uniform, yuvarlak, küçük-orta büyüklükte nükleuslara ve belirgin nükleola sahiptir. Çok sayıda mitoz görülür. Genellikle hem intratümöral hem de peritümöral lenfositik infiltrat bulunur (3). Nöroendokrin tümörlere benzemesine rağmen nöroendokrin “markerlar” negatiftir. Prognozu iyidir ve diğer varyantlara göre daha az lenf nodu metastazı yapar (4).

Hepatoid Adenokarsinom: Glandüler ve hepatoid diferansiyasyon alanlarının karışımından oluşur. Nodüler ve masif büyüme paterni gösterir. Bol miktarda sitoplazmik glikojen ve hyalin globülleri içerir. Venöz invazyon yaygın olup prognozu kötüdür (3).

Diğer varyantlar: Karsinomda işsi hücre komponenti varsa işsi hücreli karsinom, anaplastik karsinom veya sarkomatoid karsinom olarak isimlendirilir. İşsi hücrelerde fokal sitokeratin pozitifliği izlenir. Karsinosarkom da ise malign tümör hem karsinom hem de heterelog mezenkimal elemanlar içerir (1,3).

Diğer nadir histopatolojik varyantlar ise pleomorfik, koryokarsinom, pigmente berrak hücreli karsinom ve panet hücrelerinden zengin tipleri içerir. Endokrin diferansiyasyon belirgin olabilir (1).

II.1.10.11. Kolorektal Karsinomlarda Derece ve Evre

1937 yılında “Dukes”un rektal karsinomlarda kullanılmak üzere önerdiği sistem kolon karsinomlarında da kullanılmaktadır (Tablo-II). Tümörün penetrasyon derinliği ile lenf nodu metastazının varlığı ya da yokluğuna dayalı bir sistemdir. Prognoz ile direkt ilişkili olduğu için hala yaygın olarak

kullanılmaktadır. Bu sisteme göre tümör evre A'da barsak duvarını tutar. Evre B'de barsak duvarını aşar. Evre C'de lenf nodu metastazı vardır (3).

1954 yılında "Astler ve Coller" tarafından farklı bir evreleme sistemi önerilmiştir (Tablo-III). Bu sistemde evre A'da tümör mukozaya sınırlı olup evre B1'de Muskülaris ekstarnayı tutmuş ama penetre etmemiştir. Evre B2'de muskülaris eksternayı penetre eder. Evre C1'de bağırsak duvarı ile sınırlı olup lenf nodu metastazı vardır, evre C2'de ise barsak duvarını aşıp lenf nodu metastazı yapar (3).

Son zamanlarda yaygın olarak kullanılan bir diğer derecelendirme sistemi Amerikan Ortak Tümör Komisyonu tarafından önerilen tümör lenf nodu metastaz klasifikasyon ve evreleme sistemidir (Tablo-IV).

Adenokarsinomlar mikroskopik olarak glandüler görünümüne göre iyi, orta, kötü derecede diferansiye ya da düşük dereceli (iyi ve orta derecede diferansiye tümörler), yüksek dereceli (kötü dereceli ve "undiferansiye" tümörler) olarak derecelendirilir. Tümör diferansiyasyon açısından heterojen ise daha az diferansiye alana göre derecelendirilir. Tümör kenarındaki küçük bir alandaki kötü diferansiye odak tümörün kötü diferansiye olarak derecelendirilmesi için yeterli değildir (1).

İyi diferansiye adenokarsinom (Grade 1): Tümörün %95'inden fazlası glandüler yapılardan oluşur.

Orta derecede diferansiye adenokarsinom (Grade 2): Tümör %50-95 oranında glandüler yapılardan oluşur.

Kötü diferansiye adenokarsinom (Grade 3): Tümör %5- 50 oranında glandüler yapılardan oluşur.

Andiferansiye adenokarsinom (Grade 4): Glandüler yapılar tümörün %5'inden azdır.

Müsinöz adenokarsinom ve taşlı yüzük hücreli karsinom kötü diferansiye tümör olarak kabul edilir (1).

Tablo- II: “Dukes” Evrelemesi

Evre A	Tümör kolon duvarında sınırlı, muskularis propriayı aşmamış
Evre B	Tümör tüm kolon duvarını tutup muskularis propriayı aşmış, kolonda serozayı, rektumda perirektal dokuyu invaze etmiştir. Lenf nodu tutulumu yok.
Evre C	Lenf nodunda metastaz mevcut.

Tablo- III: “Astler-Coller” Evrelemesi

Evre A	Tümör mukozada sınırlı
Evre B1	Tümör submukozaya sınırlı, lenf nodu tutulumu yok
Evre B2	Tümör kas tabakasına sınırlı, lenf nodu tutulumu yok
Evre C1	Tümör barsak duvarını aşmadığı halde lenf nodu tutulumu mevcut
Evre C2	Tümör barsak duvarını aşmış ve lenf nodu tutulumu mevcut
Evre D	Uzak metastaz

Tablo-IV: Kolorektal Tümörlerin TNM Klasifikasyonu

<p>T- Primer Tümör</p> <p>TX Primer tümör saptanmadı</p> <p>TO Primer tümör kanıtı yok</p> <p>Tis In situ karsinom (intraepitelyal yada lamina propria invazyonu)</p> <p>T1 Submukozayı invaze eden tümör</p> <p>T2 Muskularis propriayı invaze eden tümör</p> <p>T3 Muskularis propriayı invaze edip subserozada veya peritoneal olmayan perikolik ya da perirektal doku da tümör</p> <p>T4 Diğer organ ya da yapılara direkt invazyon ya da visseral peritonun perfore olması</p>	<p>N- Bölgesel Lenf Nodu</p> <p>NX Bölgesel lenf nodu değerlendirilemedi</p> <p>N0 Bölgesel lenf nou metastazı yok</p> <p>N1 1-3 lenf nodu metastazı</p> <p>N2 4 ya da daha fazla lenf nodu metastazı</p> <p>M- Uzak Metastaz</p> <p>MX Uzak metastaz değerlendirilemedi.</p> <p>M0 Uzak metastaz yok</p> <p>M1 Uzak metastaz var</p>
<p>Evre Grup</p> <p>Evre 0 Tis NO MO</p> <p>Evre I T1 NO MO</p> <p>Evre II T2 NO MO T3 NO MO</p> <p>Evre III Herhangi bir T N1 M0 Herhangi bir T N2 M0</p> <p>Evre IV Herhangi bir T herhangi bir N M1</p>	

II.1.12. Kolorektal Karsinomların Yayılması ve Metastaz

Kolorektal karsinomlar en sık bölgesel lenf nodları ve karaciğere metastaz yaparlar. Kötü diferansiye alanlar içeren ve infiltratif gidiş gösteren tümörlerde lenf nodu metastazı daha sık görülür. Lenf nodu metastazı varlığında tümör lenf nodunun kapsülünü aşıp çevreleyen venlere invazyon yapabilir. Cerrahi spesmenlerde en az 14-15 lenf nodu ayıklanmalıdır (3).

II.1.13. Kolorektal Karsinomların Tedavisi

Kolorektal karsinomlarda standart tedavi tipi tümörün yerleşim yerine ve derinliğine göre değişen cerrahi rezeksiyondur. Küçük, yüzeysel, iyi diferansiye rektal tümörlerde endoskopik transrektal rezeksiyon ve tüm katın lokal eksizyonu radikal rezeksiyona alternatif yöntemlerdir (3).

II.1.14. Kolorektal Karsinomların Prognozu

Kolorektal karsinomlarda çok yaşlı ve çok genç hastalarda prognoz daha kötüdür (1). Kadınlar erkeklere göre daha iyi bir prognoza sahiptir. 5.0ng/ml'den daha yüksek serum CEA seviyesi tümör evresinden bağımsız olarak prognoz üzerine ters etkilidir (3). Tartışmalı olmakla birlikte solda yerleşen tümörlerin sigmoid ve rektuma göre daha iyi prognozlu olduğu söylenmektedir. Bölgesel lenf nodu tutulumu varlığı ve tümörün barsak duvarının dışına uzanması kötü prognoz ile ilişkilidir (1,3). Tümör kenarı nonpolipoid olan tümörler polipoid olanlara göre daha kötü prognozludur. Bazı serilerde tümörün obstrüksiyona neden olmasının evrelemeden bağımsız olarak kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Perforasyon sonucu yaygın barsak duvar invazyonu kötü prognoz nedenidir. Karsinomun itici sınırlara sahip olması ve tümör ile yeni oluşan doku arasında lenfositlerin varlığı ve tümörde dejenerasyon görülmesi prognoza olumlu etkilidir. Ven invazyonu varlığında hastaliksız yaşam süresini en az 5 yıl olmak üzere belirgin derecede azalır (3). Ekstramural damar invazyonu barsak duvarında lokalize damarlara göre daha anlamlıdır. Lenfatik invazyon kan damarı invazyonu kadar önemli değildir. Perinöral invazyon genellikle ilerlemiş hastalığın işaretidir. Rektal karsinomda radial sınır (peritonsuz yüzeyleki yumuşak doku sınırı) tek lokal rekürrens göstergesidir. Santralde deprese alanda tümör kalınlığının lenf nodu ve karaciğer metastazı ile ilişkili olduğu söylenmektedir. Müsinöz karsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom ve anaplastik tipin prognozu daha kötüdür (1,8). Mikroasiner büyüme paterni kötü prognoz ile ilişkilidir. Bir çok bağımsız çalışma anjiogenezisin rekürrens göstergesi olduğu ve hastaliksız yaşam süresinde belirgin azalmaya yol açtığını

göstermiştir. Müsin ilişkili antijen salgılayan kolorektal karsinomlarda klinik gidiş daha kötüdür. Son zamanlarda yapılan çalışmalar MUC-1 immunreaktif tümörlerin daha yüksek tümör progresyon riskine sahip olduğu ve MUC-1'in bağımsız bir prognostik faktör olduğunu göstermektedir (3). Bir seride Güçlü HLA- DR salınımının daha iyi bir gidişe neden olduğu gösterilmiştir. Anöploidi kötü prognostik bir faktördür. 18. kromozomdaki allel kaybı negatif prognostik anlama sahiptir. Mikrosatellit instabilitesi yüksek olan karsinomlarda TGF- β 1 tip II reseptöründe mutasyon olumlu bir prognostik göstergedir (3). Evre yararlı bir prognostik göstergedir. Mikroskopik derece ile prognoz birbiri ile ilişkilidir (4). Hücre aracılı immun yanıt gözlenen lenf noduna sahip olgularda hayatta kalma süresinin daha uzun olduğu görülmüştür (1,3).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

III.1.Olgu Seçimi

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde 2000-2006 yılları arasında adenokarsinom ve kolon polipi tanısı alan 32 adet radikal spesmen ile 52 adet polip rezeksiyonuna ait hematoksilen eozin boyalı preparatlar ve bloklar arşivden çıkarılarak yeniden gözden geçirildi. Elliiki adet kolon polipinden 14 tanesi fiksasyon yetersizliği ve polipin tamamının çıkarılmaması nedenlerinden dolayı çalışmadan çıkarıldı. Adenokarsinomların tamamı ve 38 adet polip çalışmaya dahil edildi. Her bir adenokarsinom olgusundan tümörden uzak normal mukozaya, tümör yüzeyi ve tümör derinini temsil eden 3 adet blok ve her bir polipten 1 adet blok seçildi.

III.2. İmmunohistokimya

Primer antikor olarak p53, Bcl 2 α , MMP 7, COX 1, COX 2, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), Siklin D1, Ki67 uygulandı (Tablo-V).

- Seçilen bloklardan 4 mikronluk kesitler alındı. Kesitler deparafinize edildi.
- Antijen retriyavel aşaması için VEGF hariç tüm antikorlarda sitrat buffer pH 6 (Labvision, USA), VEGF için ise EDTA buffer kullanılarak mikrodalga fırında maksimum güçte 20 dakika kaynatıldı. Daha sonra oda ısısında 20 dakika soğutuldu.
- Distile suda yıkandı.
- Hydrojen peroksit (Labvision, USA) ile 10 dakika muamele edildi.
- Üç ayrı tris buffer solüsyonunda (Labvision, USA) 5'er dakika yıkandı.
- Beş dakika Ultra V blok (Labvision, USA) uygulandı.
- Primer antikor uygulandı (Tablo-V).
- Üç ayrı tris buffer solüsyonunda 5'er dakika yıkandı.
- Streptavidin- biyotin peroksidaz sistemi(Anti-Poyvalent System, HRP, UltraVision, USA) 10'ar dakika uygulandı.
- Üç ayrı tris buffer solüsyonunda 5'er dakika yıkandı.

- 10 dakika kromojen (UltraVision AEC Substrate System, USA) ile muamele edildi.

- Mayers Hematoksilen ile karşıt boyama yapıldı.

Bütün immunohistokimyasal boyamalar için üretici firma tarafından belirlenen uygun pozitif kontrol kullanıldı.

Tablo-V: Primer antikorların klonları, inkübasyon süreleri ve dilüsyon oranları

Primer antikor	Klon	Dilüsyon	İnkübasyon süresi (dakika)
Siklin D1(Labvision, USA)	SP4	1/100	30
Ki-67 (Labvision, USA)	Clone SP6	1/200	30
Vasküler endotelial büyüme faktörü(VEGF) Ab-7 (Labvision, USA)	Clone VG1	1/50	30
COX- 2(Labvision, USA)	Epitop spesifik rabbit antikor	1/150	30
COX-1(Novocatro, USA)	NCL-COX-1	1/20	60
MMP-7 (Labvision, USA)	Clone ID2	1/25	30
Bcl- 2 α Labvision, USA)	Clone 8C8	1/ 100	30
P53(Labvision, USA)	Clone DO-7	1/100	30

III.3. TUNEL Yöntemi

TUNEL yöntemi(In Situ Cell Detection Kit, POD, Roche)

- Kesitler deparafinize edildi.
 - Preparatlar etüvde 37°C’de 10 dakika bekletildi.
 - 37°C karanlıkta “humidity chamber” içinde 2 saat TUNEL mikstüre uygulandı.
 - “Humidity chamber” içinde 37°C 30 dakika “converter- POD” ile bekletildi.
 - 1/200 dilüsyonda kromojen (UltraVision DAB Substrate System, USA) ile oda ısında 10 dakika bekletildi.
 - Methyl Green(Labvision, USA) ile 7 dakika karşıt boyama yapıldı.
- Kontrol olarak lenf nodu kesitleri kullanıldı.

III.4. Değerlendirme

Siklin D1, p53, Ki67 immunohistokimyasal boyamalarında nükleer boyanma pozitif olarak kabul edildi. Her üç boyada da küçük büyütme ile yoğun

boyanma görülen alanlarda 1000 hücre sayıldı. TUNEL ile boyanmanın en yoğun olduğu uygun alanlarda aynı şekilde 1000 hücre sayıldı. Pozitif hücre sayıları % olarak belirlendi.

VEGF, COX 1, COX 2, MMP 7, Bcl 2 α immunohistokimyasal boyamalarında sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi. Boyanma yoğunluğuna göre hafif, orta ve şiddetli olarak ve boyanma yüzdesine göre derecelendirildi. Boyanma yüzdesi ve boyanma yoğunluğundan elde edilen dereceler toplanarak skorlandı (Tablo-VI) .

Tablo-VI: VEGF, COX 1, COX 2, MMP 7, Bcl 2 α skorlanması

Boyanma yoğunluğu	Boyanma derecesi
Boyanma yok	0
Hafif	1
Orta	2
Yoğun	3
Boyanma yüzdesi	
Boyanma yok	0
%0 \leq 25	1
%26 \leq 50	2
%51 \leq 75	3
% \geq 76	4

III.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizde 'Windows XP' yazılımında SPSS 13.00 versiyonu ile Kruskal Wallis, 'Mann-Whitney U' testi, Pearson Korelasyon testi ve Ki kare testi kullanıldı. $p < 0,05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi. Sürekli veriler ortalama \pm SS olarak verildi.

IV. BULGULAR

Adenokarsinom olgularının 18'i erkek (%56,25), 14'ü (%43,75) kadın idi. Yaş aralığı 31 ile 88 arasında değişmekteydi. On yedi olgu iyi diferansiye (%53,12), on üç olgu orta derecede diferansiye (%40,63), iki olgu (%6,25) ise kötü derecede diferansiye idi. Adenokarsinom tanısı almış 5 adet olguda aynı zamanda adenomatöz polipler de izlendi. Bu olgulardan bir tanesi familial adenomatozis polipozis zemininde gelişen adenokarsinomdu. Familial adenomatöz polipozis olgusunda polip sayısı 500'den fazlaydı. Diğer 4 adenokarsinom olgusundan 3 tanesinde polip sayısı 1 iken kalan bir tanesinde 27 adet polip mevcuttu. Adenokarsinom olguları 20 gün ile 5 yıl arasında takip edildi (ortalama 2 yıl 8 ay). Bu süre içinde olgulardan 7 tanesi tümöre bağlı nedenlerden dolayı öldü. Dört olgu 5 yıl, 2 olgu ise 4 yıl süre ile takip edildi. Üç yıl takip edilen olgu sayısı 8, 2 yıl takip edilen olgu sayısı 6, 1 yıl takip edilen olgu sayısı 7 idi. Kalan olgular bir yıldan az sürede takip edildi. Adenokarsinomlu hastaların 16 tanesinde (%50) lenf nodu metastazı, 7 (%21,9) tanesinde ise uzak metastaz mevcuttu. Kötü derecede diferansiye adenokarsinom sayısı sadece 2 olgu olduğu ve uzak metastaz görülen adenokarsinom sayısı 7 olgu olduğu için uzak metastaz ve kötü derecede diferansiye adenokarsinomlar istatistiksel çalışmaya dahil edilmedi. Adenokarsinom olgularının yaş, cinsiyet, çap, grade özellikleri lenf nodu metastazı durumları ile boyanma özellikleri tablo-VII ve VIII'de gösterilmiştir.

Polipler mikroskopik olarak yeniden değerlendirildi. 38 adet olgunun 29 tanesi tubüler, 6 tanesi villöz ve 1 tanesi tubülovillöz adenom, 1 tanesi juvenil, 1 tanesi ise hiperplastik polipti. Tubülovillöz adenom, hiperplastik ve juvenil polip sayıları az olduğu için istatistiksel çalışmaya dahil edilmedi. Kalan 35 polip istatistiksel çalışmaya alındı. Tubüler adenomlardan 2 tanesinde ve villöz adenomlardan 3 tanesinde yüksek derecede displazi mevcuttu. Yüksek dereceli displazi görülen polip sayısı da az olduğu için sağlıklı bir değerlendirme yapılamayacağı düşünüldü ve istatistiksel değerlendirmede displazi özelliği

kullanılmadı. Poliplerin tip, yaş, yerleşim yeri ve boyanma özellikleri tablo-IX ve X'da belirtilmiştir.

Tablo-VII: Adenokarsinomlu olguların cinsiyet, yaş, çap, grade özellikleri, lenf nodu metastazı durumları ile COX 1, COX 2, MMP 7 VEGF boyanma skorları

Cinsiyet*	Yaş	Yerleşim Yeri	Çap (cm)	Grade	LN**	Boyanma Skoru (0-7)				
						COX 2	COX 1	Bcl 2 α	VEGF	MMP 7
E	66	Rektum	6	Orta	+	4	2	4	5	3
K	-	Rektum	-	Kötü	+	7	2	0	4	3
K	63	Sigmoid	6	İyi	-	6	3	2	0	4
K	78	Sigmoid	3	Orta	-	5	0	4	4	4
E	71	Sigmoid	4	Orta	+	5	0	0	5	2
K	49	Sigmoid	3,5	Orta	+	4	0	6	4	5
E	61	Sigmoid	5	İyi	+	3	3	5	5	4
K	60	Rektosigmoid	6,5	İyi	+	5	0	6	0	3
E	69	Sigmoid	2	İyi	-	4	0	4	3	6
K	64	Sigmoid	11	İyi	-	3	0	4	0	0
K	64	Sigmoid	6	Orta	+	5	0	2	0	5
E	82	Rektum	12	İyi	-	5	0	6	6	6
E	68	Rektum	8	İyi	-	4	3	5	6	6
K	57	Çekum	7,5	İyi	-	5	0	2	5	5
E	54	Çekum	8	Orta	-	7	0	6	5	0
E	68	Sigmoid	6,5	İyi	-	6	0	5	5	0
K	60	Rektum	2,5	Orta	+	5	0	2	0	3
E	51	Sigmoid	5	İyi	-	5	0	4	2	0
E	69	Rektum	10	İyi	+	4	2	4	6	3
K	72	Sigmoid	5,5	İyi	+	5	0	5	5	4
E	68	Sigmoid	11	Orta	+	5	0	0	5	7
K	74	Rektum	8	Orta	-	5	7	6	6	6
E	80	Rektum	6,7	İyi	-	5	0	5	0	3
E	72	Sigmoid	6,5	İyi	+	5	0	6	6	2
K	47	Çekum	7	Orta	+	0	0	0	2	0
E	56	Sigmoid	5	İyi	-	6	3	4	5	3
K	54	Sigmoid	8	İyi	+	6	0	2	2	0
E	57	Rektum	4,5	Orta	+	6	0	2	2	0
K	32	Rektum	4,1	Orta	+	2	0	0	2	0
E	59	Çekum+ transvers kolon	4	İyi	-	4	2	4	3	2
K	34	Sigmoid	2	Orta	-	6	2	3	0	3
E	65	Sigmoid	9	Kötü	-	5	0	2	0	2

*E: Erkek

K: Kadın

**LN: Lenf nodu metastazı

Tablo-VIII: Adenokarsinomlu olguların cinsiyet, yaş, çap, grade özellikleri, lenf nodu metastazı durumları ile P53, Ki67, Siklin D1 ve TUNEL boyanma yüzdeleri

Cinsiyet*	Yaş	Yerleşim Yeri	Çap (cm)	Grade	LN**	Boyanma Yüzdesi			
						P 53	Ki67	Siklin D1	TUNEL
E	66	Rektum	6	Orta	+	44	23	31	0
K	-	Rektum	-	Kötü	+	77	38	35	0
K	63	Sigmoid	6	İyi	-	49	46	40	5
K	78	Sigmoid	3	Orta	-	23	83	0	5
E	71	Sigmoid	4	Orta	+	31	59	0	0
K	49	Sigmoid	3,5	Orta	+	71	45	13	1
E	61	Sigmoid	5	İyi	+	43	70	18	2
K	60	Rektosigmoid	6,5	İyi	+	80	58	2	2
E	69	Sigmoid	2	İyi	-	78	60	3	9
K	64	Sigmoid	11	İyi	-	87	15	8	1
K	64	Sigmoid	6	Orta	+	18	16	48	1
E	82	Rektum	12	İyi	-	5	10	3	2
E	68	Rektum	8	İyi	-	64	34	53	7
K	57	Çekum	7,5	İyi	-	78	74	2	4
E	54	Çekum	8	Orta	-	24	59	53	5
E	68	Sigmoid	6,5	İyi	-	16	54	0	2
K	60	Rektum	2,5	Orta	+	53	36	11	14
E	51	Sigmoid	5	İyi	-	2	60	35	1
E	69	Rektum	10	İyi	+	86	46	0	3
K	72	Sigmoid	5,5	İyi	+	37	60	53	6
E	68	Sigmoid	11	Orta	+	35	56	1	4
K	74	Rektum	8	Orta	-	100	58	33	3
E	80	Rektum	6,7	İyi	-	60	76	56	6
E	72	Sigmoid	6,5	İyi	+	0	74	88	18
K	47	Çekum	7	Orta	+	9	93	36	15
E	56	Sigmoid	5	İyi	-	36	59	1	14
K	54	Sigmoid	8	İyi	+	85	58	0	4
E	57	Rektum	4,5	Orta	+	86	99	25	3
K	32	Rektum	4,1	Orta	+	91	66	4	6
E	59	Çekum+ transvers kolon	4	İyi	-	71	78	6	3
K	34	Sigmoid	2	Orta	-	96	90	5	2
E	65	Sigmoid	9	Kötü	-	57	65	21	13

*E: Erkek

K: Kadın

**LN: Lenf nodu metastazı

Tablo-IX: Polip tipi, cinsiyet, yaş dağılımı, yerleşim yeri ile COX 1, COX 2, MMP 7, VEGF boyanma skorları

Tip*	Cinsiyet**	Yaş	Çap (cm)	Yerleşim Yeri	Tümör***	Yüksek Dereceli Displazi	Boyanma Skoru (0-7)				
							Bcl 2a	COX 2	COX 1	MMP 7	VEGF
TA	E	65	0,4	Sigmoid	-	-	0	5	0	0	0
TA	E	69	1	Sigmoid	-	-	6	5	2	0	4
TA	E	-	0,7	Transvers kolon	-	-	2	5	0	0	0
TA	E	74	1	Rektosigmoid	-	-	6	6	0	4	4
TA	E	72	0,7	Kolon	-	-	0	5	0	0	0
TA	E	51	0,5	Rektum	-	-	5	5	0	2	0
TA	E	60	2,5	Rektum	-	-	2	5	0	0	0
TA	E	66	1	Rektum	-	-	6	6	0	0	0
TA	E	60	1	Rektosigmoid	-	+	6	4	0	0	0
TA	E	64	1	Sigmoid	-	-	3	3	2	0	0
TA	E	69	1	Rektum	-	-	4	6	2	0	0
TA	E	57	0,6	İnen kolon	-	-	6	6	2	4	1
TA	K	66	0,5	Sigmoid	-	-	3	6	0	0	0
TA	E	64	0,5	Rektum	-	-	6	6	0	2	0
TA	K	80	0,5	Çıkan kolon	-	-	6	6	2	2	0
TA	E	56	0,5	Rektum	-	-	6	5	0	0	1
TA	K	67	0,3	Kolon	-	-	5	6	2	2	0
TA	E	72	0,5	Rektum	-	-	2	5	0	0	0
TA	E	82	0,3	İnen kolon	-	-	6	5	0	2	0
TA	E	62	0,5	Rektosigmoid	-	-	4	6	0	2	0
TA	K	47	0,2	Sigmoid	-	-	3	6	0	2	0
TA	K	69	0,3	Sigmoid	-	-	6	6	0	0	1
TA	E		0,4	Sigmoid	-	-	6	4	0	5	0
TA	K	47	0,4	Sigmoid	-	-	6	5	0	2	0
TA	K	65	0,6	Rektum	+	-	6	6	0	2	0
TA	E	47	0,7	Sigmoid	+	+	6	6	0	5	2
TA	E	69	1,5	Rektosigmoid	+	-	5	4	0	5	0
TA	E	59	1	Transvers kolon	+	-	3	6	2	0	0
TA	E	34	0,3	Kolon****	+	-	5	4	0	3	0
VA	E	60	1,2	Rektum	-	-	2	6	0	0	0
VA	E	61	1,6	Rektosigmoid	-	+	5	3	2	0	2
VA	E	72	0,5	Rektum	-	+	3	4	2	3	0
VA	E	77	6	Rektum	-	+	6	5	2	3	0
VA	K	73	0,4	Kolon	-	-	7	0	3	4	7
VA	E	65	2,5	Rektosigmoid	-	-	7	2	5	0	7
TVA	E	48	0,5	Sigmoid	-	-	0	7	0	2	0
HP	K	54	0,6	Sigmoid	-	-	0	4	0	0	0
JP	K	7	0,5	Rektum	-	-	0	4	0	0	0

*TA: Tubüler Adenom

VA: Villöz Adenom

TVA Tubülovillöz adenom

HP: Hiperplastik Polip

JP: Juvenil Polip

** E: Erkek

K: Kadın

*** Eşlik Eden Adenokarsinom Varlığı

Tablo-X: Polip tipi, cinsiyet, yaş dağılımı, yerleşim yeri ile P53, Ki67, Siklin D1 ve TUNEL boyanma yüzdeleri

Tip*	Cinsiyet**	Yaş	Çap (cm)	Yerleşim Yeri	Tümör***	Yüksek Dereceli Displazi	Boyanma Yüzdesi			
							P 53	Ki67	Siklin D1	TUNEL
TA	E	65	0,4	Sigmoid	-	-	0	4	0	2
TA	E	69	1	Sigmoid	-	-	1	58	27	3
TA	E	-	0,7	Transvers kolon	-	-	4	30	1	5
TA	E	74	1	Rektosigmoid	-	-	2	76	18	4
TA	E	72	0,7	Kolon	-	-	2	47	25	6
TA	E	51	0,5	Rektum	-	-	0	19	13	6
TA	E	60	2,5	Rektum	-	-	0	36	0	1
TA	E	66	1	Rektum	-	-	76	57	4	12
TA	E	60	1	Rektosigmoid	-	+	10	53	7	4
TA	E	64	1	Sigmoid	-	-	0	3	24	4
TA	E	69	1	Rektum	-	-	15	40	40	1
TA	E	57	0,6	İnen kolon	-	-	6	32	30	4
TA	K	66	0,5	Sigmoid	-	-	1	16	32	1
TA	E	64	0,5	Rektum	-	-	4	72	43	6
TA	K	80	0,5	Çıkan kolon	-	-	4	46	47	3
TA	E	56	0,5	Rektum	-	-	8	57	28	4
TA	K	67	0,3	Kolon	-	-	10	34	11	4
TA	E	72	0,5	Rektum	-	-	43	32	3	6
TA	E	82	0,3	İnen kolon	-	-	10	70	2	2
TA	E	62	0,5	Rektosigmoid	-	-	6	24	0	14
TA	K	47	0,2	Sigmoid	-	-	3	19	4	3
TA	K	69	0,3	Sigmoid	-	-	0	16	5	3
TA	E	0,4	Sigmoid	-	-	-	4	15	6	3
TA	K	47	0,4	Sigmoid	-	-	0	58	12	2
TA	K	65	0,6	Rektum	-	-	60	51	0	3
TA	E	47	0,7	Sigmoid	+	+	11	68	11	2
TA	E	69	1,5	Rektosigmoid	+	-	5	46	24	2
TA	E	59	1	Transvers kolon	+	-	1	38	0	1
TA	E	34	0,3	Kolon****	+	-	10	41	9	5
VA	E	60	1,2	Rektum	+	-	0	53	6	1
VA	E	61	1,6	Rektosigmoid	-	+	2	46	37	6
VA	E	72	0,5	Rektum	-	+	0	51	26	3
VA	E	77	6	Rektum	-	+	3	71	46	2
VA	K	73	0,4	Kolon	-	-	6	63	20	5
VA	E	65	2,5	Rektosigmoid	-	-	2	71	50	4
TVA	E	48	0,5	Sigmoid	-	-	3	44	62	2
HP	K	54	0,6	Sigmoid	-	-	5	63	50	3
JP	K	7	0,5	Rektum	-	-	0	12	7	1

*TA: Tubüler Adenom

VA: Villöz Adenom

TVA Tubülovillöz adenom

HP: Hiperplastik Polip

JP: Juvenil Polip

** E: Erkek

K: Kadın

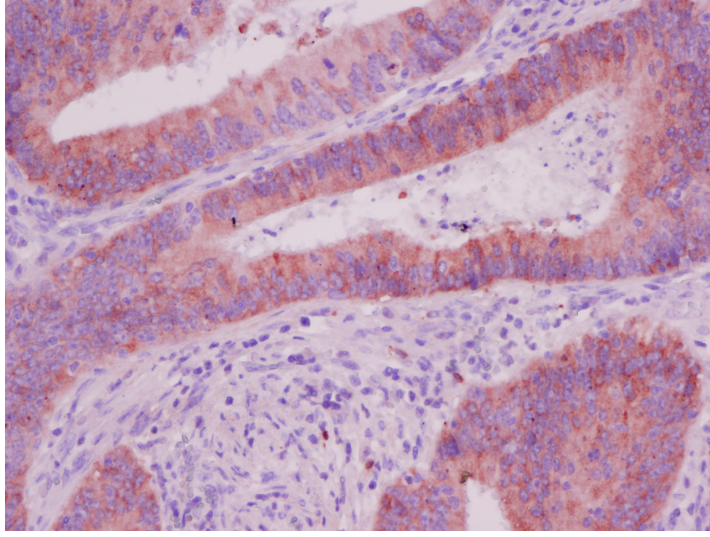
*** Eşlik Eden Adenokarsinom Varlığı

****Famlyal Adenomatöz Polipozis

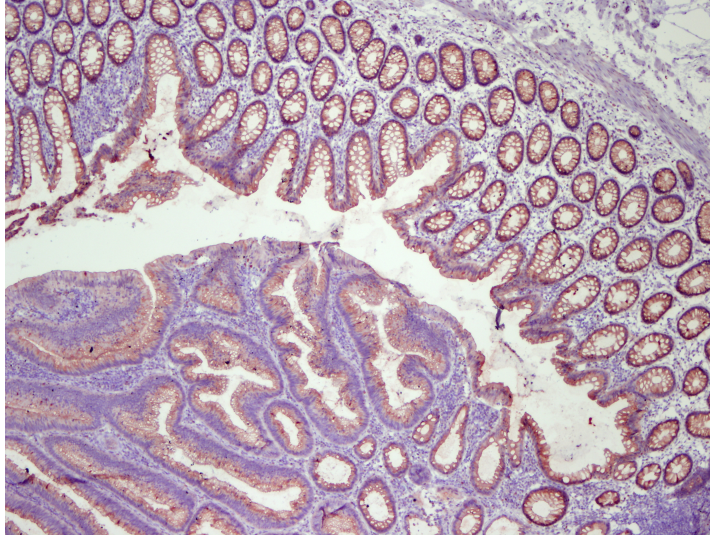
COX 2: Normal mukoza %81,3, polip grubu %97,1, adenokarsinom grubu ise % 96,9 oranında COX 2 ile pozitif boyandı (Resim 1,2 ve Tablo-XI). Adenokarsinom olgularının % 81,3'ün COX 2 ile boyanma skoru 4 ile 6 arasındaydı. COX 2 pozitif boyanan adenokarsinom olgularının boyanma skorunun ortalaması $4,78\pm 3,41$ idi. Adenokarsinomlarda tümörün yüzeyi ve derini açısından boyanma farkı yoktu. COX 2 ile iyi derecede diferansiye tümörler ($4,76\pm 0,97$) orta derecede diferansiye tümörlere ($4,53\pm 1,80$) benzer şekilde boyandı. Polip olgularının 26'sının (%72,2) COX 2 ile boyanma skoru 5 ile 6 arasındaydı. Polip grubunun boyanma skorunun ortalaması $5,31\pm 0,99$ idi. Normal mukozanın ortalaması $1,6\pm 0,79$ idi. Adenokarsinom grubu COX 2 ile normal mukozaya kıyasla daha yüksek oranda pozitiflik gösterdi. Aralarındaki bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı (p: 0,001, Tablo-XII). Polip grubunda da normal mukozaya kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek oranda pozitiflik izlendi (Tablo-XII). Tubuler ($5,37\pm 0,94$) ve villöz adenomlar ($5\pm 0,26$) arasında boyanma farkı yoktu. Polipler ve adenokarsinomlar boyanma açısından kıyaslandığında poliplerin tümörlerden daha yüksek oranda pozitif olarak boyandığı görüldü. Ancak aralarındaki farkın istatistiksel bir anlamı yoktu (Tablo-XII).

COX 2 boyanma skorunun derecesi ile Bcl 2 α , MMP, VEGF, Ki67, P53, Siklin D1 boyanma skorlarının dereceleri arasında herhangi bir ilişki tespit edilmedi. Lenf nodu metastazı pozitif olan grup ile lenf nodu metastazı negatif olan grup kıyaslandığında COX 2 boyanma skorunun farklı olmadığını gördük.

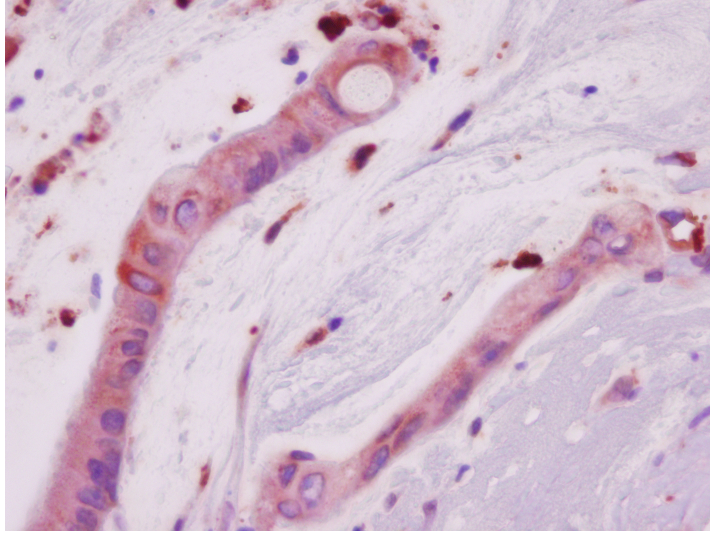
Tümörlerin hepsinde ve 38 polipin 33 tanesinde fokal alanlarda stromal hücrelerde ve damarlarda COX 2 ile pozitif boyanma izledik (Resim 3).



Resim 1: Kolon adenokarsinomunda sitoplazmik COX 2 pozitifliği (x200)



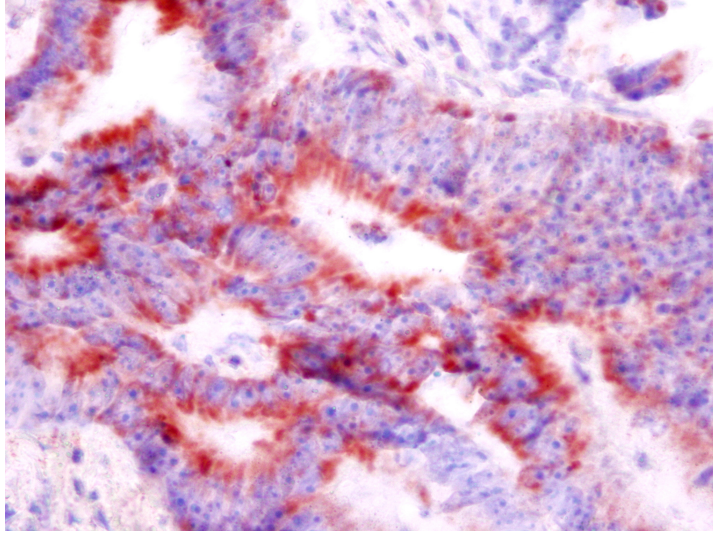
Resim 2: Tubuler adenom ve komđu mukozada COX-2 pozitifliği (x100)



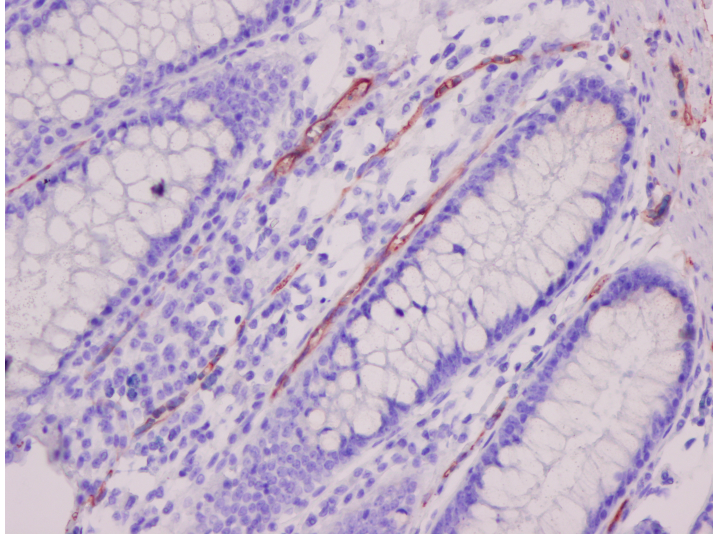
Resim 3: Stromal hücrelerde COX-2 pozitifliği (x400)

COX 1: Adenokarsinom grubu, polip grubu ve normal mukoza benzer şekilde COX 1 ile büyük oranda negatif boyandı. Adenokarsinom grubunda COX 1 ile pozitif boyanma oranı %31,2, polip grubunda %30,6, normal mukoza grubunda ise %15,6'ydı (Tablo-XI, Resim 4). Poliplerin %31,4'ünün (11 olgu) boyanma skoru 2 iken adenokarsinom grubunda bu oran % 18,8 (6 olgu)' idi. COX 1 ile polipler, tümörler ve normal mukoza benzer şekilde boyandı. Tubuler ($0,55 \pm 0,9$) ve villöz adenom ($1 \pm 1,09$) boyanma skorları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu. Adenokarsinom grubunun boyanma skor ortalaması $0,87 \pm 1,56$, polip grubunun ortalaması $0,62 \pm 0,94$ iken normal mukozanın ortalaması $1,62 \pm 0,79$ idi. Boyanma skor ortalamaları arasında anlamlı bir fark tespit etmedik (Tablo-XII). İyi ($0,94 \pm 1,34$) ve orta derecede ($0,84 \pm 1,99$) diferansiye tümörler benzer şekilde boyandı. Lenf nodu metastazı olan ve lenf nodu metastazı olmayan adenokarsinomlar kıyaslandığında aralarında anlamlı bir fark izlemedik.

COX 2'ye benzer şekilde adenokarsinomların tamamında ve 38 polipin 31'inde fokal alanlarda damarlarda COX 1 pozitifliği gözledik (Resim 5).



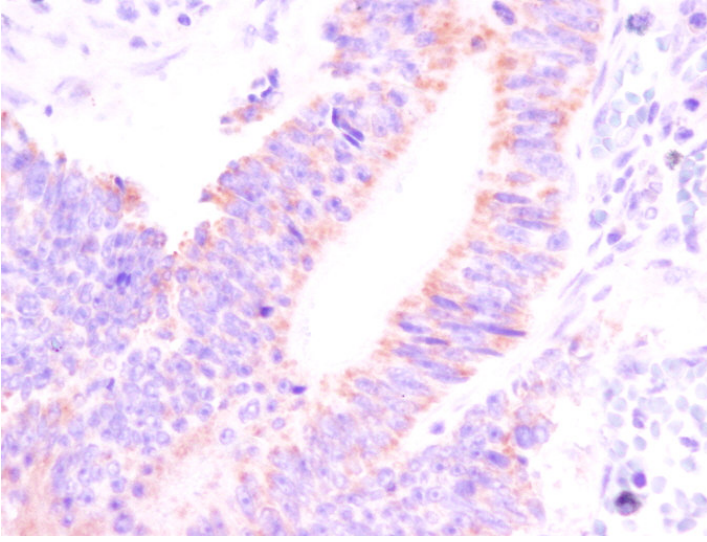
Resim 4: Kolon adenokarsinomunda COX-1 pozitifliği(x200)



Resim 5: Damarlarda sitoplazmik COX-1 pozitifliği(x100)

MMP 7: Polip grubunun %42,9'u ve normal mukozanın % 93,7'si MMP 7 ile negatif boyanma gösterdi. Adenokarsinom grubu ise %25 oranında MMP 7 ile negatif boyandı (Resim 6). MMP 7 ile pozitif boyanan adenokarsinomların %50'sinin boyanma skoru 2 ile 4 arasındaydı. Tümör yüzeyi ve derininde boyanma farkı yoktu. Adenokarsinom grubunun ortalaması $2,93 \pm 2,15$ olup polip grubunun ortalamasından ($1,80 \pm 1,84$)

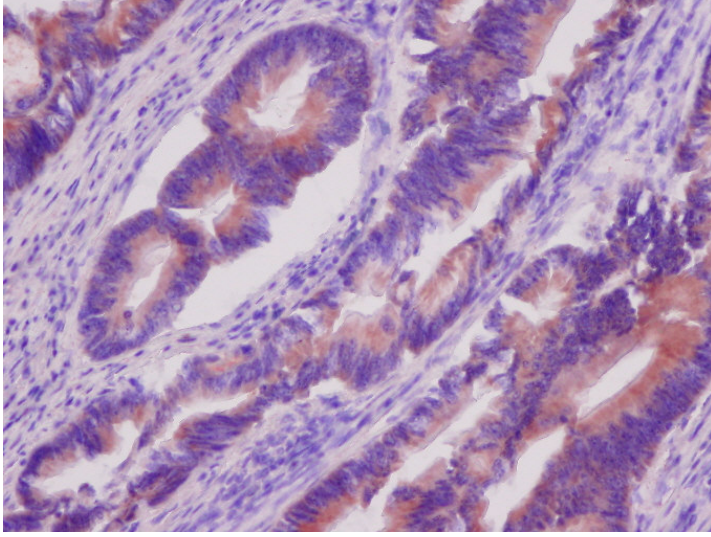
yüksekti. Aralarındaki bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı (Tablo-XII). Hem polip grubu hem de adenokarsinom grubu normal mukozaya kıyasla daha yüksek oranda pozitif boyandı (Tablo-XII). MMP 7 boyanma skoru ile tümör derecesi ve lenf nodu metastazı arasında bir ilişki tespit etmedik. Tubuler adenom ($1,72\pm 1,84$) ve villöz adenom ($2,1\pm 1,99$) MMP 7 ile benzer şekilde boyandı.



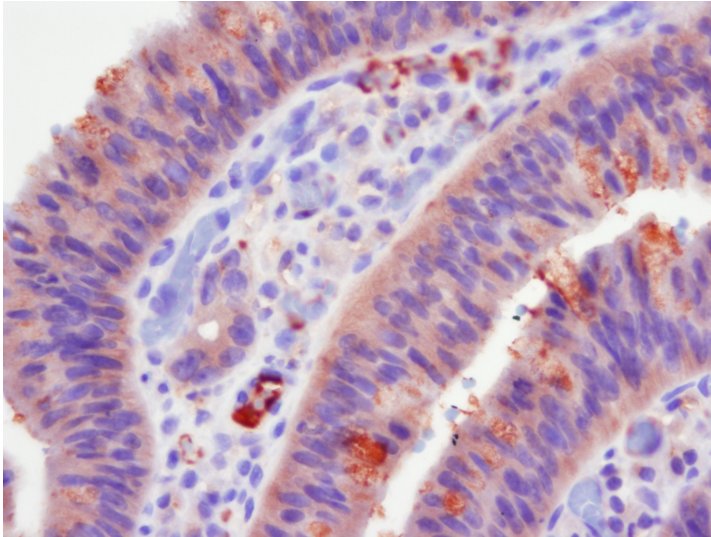
Resim 6: Kolon adenokarsinomunda sitoplazmik MMP 7 pozitifliği (x400)

VEGF: Polipler %25,7 oranında VEGF ile pozitif boyanma gösterirken adenokarsinomlarda bu oran %75, normal mukoza grubunda ise %68,8 idi (Tablo-XI ve Resim 7,8). Pozitif boyanan normal mukozaların hepsinin VEGF ile boyanma skoru ikiye. Tümörlerin yüzeyi ve derini VEGF ile aynı şekilde boyandı. İyi ($3\pm 2,12$) ve orta derecede diferansiye ($3,07\pm 12,17$) tümörler VEGF ile benzer şekilde boyandı. Adenokarsinom grubunun % 46,9'u skor 5 ve 6 boyanma gösterdi. Adenokarsinomların ikinci en büyük boyanma aralığı %25 ile skor 2 ile 3'tü. Adenokarsinom grubunun boyanma skorunun ortalaması $3,28\pm 2,30$ iken polip grubunun ortalaması $0,65\pm 1,32$ idi. Aralarındaki fark da istatistiksel olarak anlamlıydı (Tablo-XII). Adenokarsinomlar normal mukozadan daha yüksek VEGF pozitifliği gösterirken polipler normal mukozaya kıyasla VEGF ile daha az oranda pozitif boyandı (Tablo-XII). Tubuler ($0,65\pm 1,39$) ve

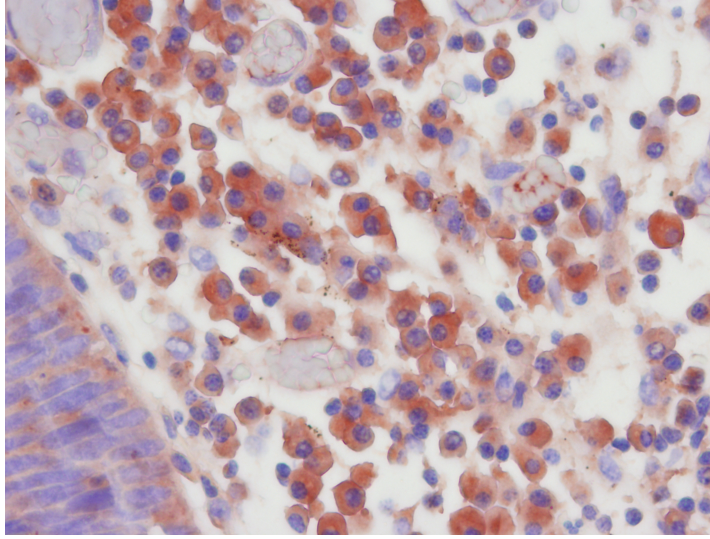
villöz adenomların ($0,66\pm 1,03$) boyanma skorları benzerdi. Adenokarsinom ve poliplerde fokal alanlarda stromal hücrelerde ve damarlarda VEGF pozitifliği gözlemlendi (Resim 9)



Resim 7: Kolon adenokarsinomunda sitoplazmik VEGF pozitifliği(x200)



Resim 8: Tubuler adenomda VEGF pozitifliği(x400)



Resim 9: Plazma hücrelerinde VEGF pozitifliği (x400)

Tablo-XI: Tümör, polip ve normal mukozada COX 1, COX 2, MMP 7 , VEGF, Bcl 2 α , P 53, Ki67, Siklin D1 ve TUNEL ile pozitif boyanan olgu sayısı ve yüzdeleri

	COX 2 Pozitif olgu	COX 1 Pozitif olgu	Bcl 2 Pozitif olgu	MMP 7 Pozitif olgu	VEGF Pozitif olgu	P 53 Pozitif olgu	Ki 67 Pozitif olgu	Siklin D1 Pozitif olgu	Tünel Pozitif olgu
Tümör	%96,9	%31,2	%84,4	%75	%75	%96,9	%100	%84,4	%90,6
Polip	%97,1	%30,6	%94,3	%57,1	%25,	%77,1	%100	%85,7	%100
Normal Mukoza	%81,3	%15,6	%34,4	%6,3	%68,8	0	%100	0	0

Tablo-XII: Tümör ve polip ve normal mukozadaki COX 2, COX1, Bcl 2 α , MMP 7, VEGF, p53, Siklin D, Ki67 ve TUNEL boyamalarının ortalamalarının karşılaştırılması

	Tümör*	Polip	Normal Mukoza	p**	p***	p****
COX2	4,78 \pm 3,41	5,31 \pm 0,99	1,62 \pm 0,79	p: 0,08	p: 0,001	p: 0,001
COX1	0,87 \pm 1,56	0,62 \pm 0,94	0,31 \pm 0,73	p: 0,76	p: 0,1	p: 0,13
Bcl 2α	3,43 \pm 2,03	4,68 \pm 1,71	0,68 \pm 0,96	p: 0,007	p: 0,001	p: 0,001
MMP7	2,93 \pm 2,15	1,80 \pm 1,84	0,12 \pm 0,49	p: 0,02	p: 0,001	p: 0,001
VEGF	3,28 \pm 2,30	0,65 \pm 1,32	1,37 \pm 0,96	p: 0,001	p: 0,001	p: 0,001
P53	52,90 \pm 30,41	8,82 \pm 16,75	0 \pm 0	p: 0,001	p: 0,001	p: 0,001
SİKLİN D1	21,37 \pm 22,88	17,45 \pm 15,73	0 \pm 0	p: 0,8	p: 0,001	p: 0,001
Ki67	56,81 \pm 22,06	43,22 \pm 20,23	18,15 \pm 16,47	p: 0,009	p: 0,001	p: 0,001
TUNEL	5,03 \pm 4,82	3,91 \pm 2,77	0 \pm 0	p: 0,7	p: 0,001	p: 0,001

*Ortalama \pm SS

**Tümör polip

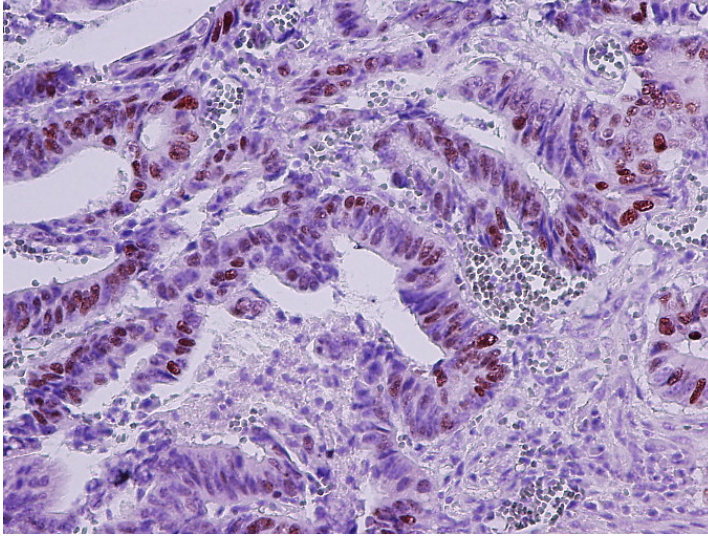
***Tümör normal mukoza

****Polip normal mukoza

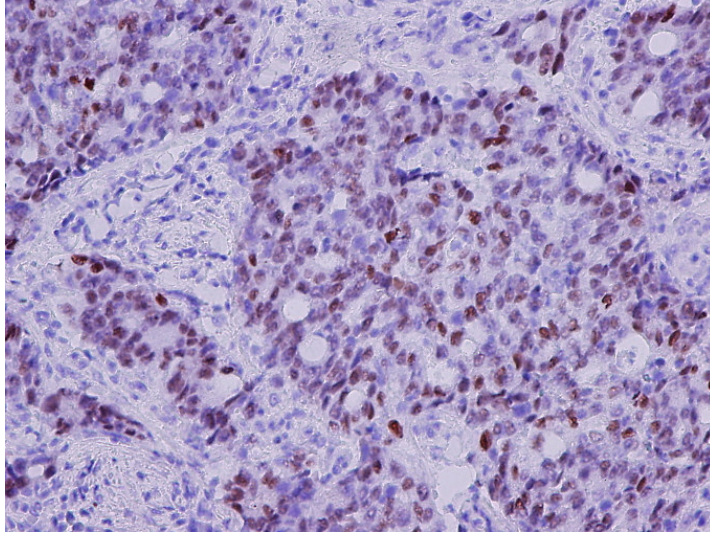
Tablo-XIII: Lenf nodu metastazı görülen adenokarsinomlu olgular ile lenf nodu metastazı görülmeyen olguların karşılaştırılması

	Lenf nodu metastazı		Toplam	p
	Pozitif olgu sayısı	Negatif olgu sayısı		
COX 2				
Pozitif boyanma	16(%51,6)	15(%48,4)	31	p: 0,3
Negatif boyanma	0 (%0)	1(%100)	1	
COX 1				
Pozitif boyanma	4(%40)	6(%60)	10	p: 1,0
Negatif boyanma	12(%54,5)	10(%45,5)	22	
P53				
Pozitif boyanma	8(%47,1)	9(%52,9)	17	p: 0,7
Negatif boyanma	8(%53,3)	7(%46,7)	15	
Siklin D1				
Pozitif boyanma	2(%40)	3(%60)	5	p: 1,0
Negatif boyanma	14(51,9)	13(49,1)	27	
Ki67				
Pozitif boyanma	10 (%58,8)	7 (41,2)	17	p: 0,2
Negatif boyanma	6 (%40)	9 (%60)	15	
MMP 7				
Pozitif boyanma	12 (%50)	12(%50)	24	p: 1,0
Negatif boyanma	4(%50)	4(%50)	8	
VEGF				
Pozitif boyanma	13(%50)	13(%50)	26	p: 1,0
Negatif boyanma	3(%50)	3(%50)	6	

p53: Normal mukozada p53 ile pozitif boyanma izlenmedi. Adenokarsinom grubu p53 ile %96,9, polip grubu %77,1 oranında pozitif boyandı. Tümörlerin yüzey ve derini arasında p53 boyanması açısından fark yoktu (Resim 10). İyi derecede diferansiye tümörlerin ortalaması $51,64 \pm 30,97$; orta derecede diferansiye tümörlerin ortalaması $52,38 \pm 32,53$ olup benzer şekilde boyandılar. Tubuler adenomların ortalaması $10,7 \pm 18,68$ ve villöz adenomların ortalaması $(2,1 \pm 2,4)$ olup aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Adenokarsinomların boyanma yüzdelerinin ortalaması $52,90 \pm 30,41$ iken poliplerin boyanma yüzdelerinin ortalaması $8,82 \pm 16,75$ idi. Tümörler poliplerden daha yüksek oranda pozitif boyandı (Tablo-XII). Aralarındaki bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı. Tümörlerin %53'nün boyanma yüzdesi 50'nin üzerindeydi. Poliplerin ise sadece %5,8'nin boyanma yüzdesi 50'nin üzerindeydi.



Resim 10: Kolon adenokarsinomunda p53 pozitifliği (x200)



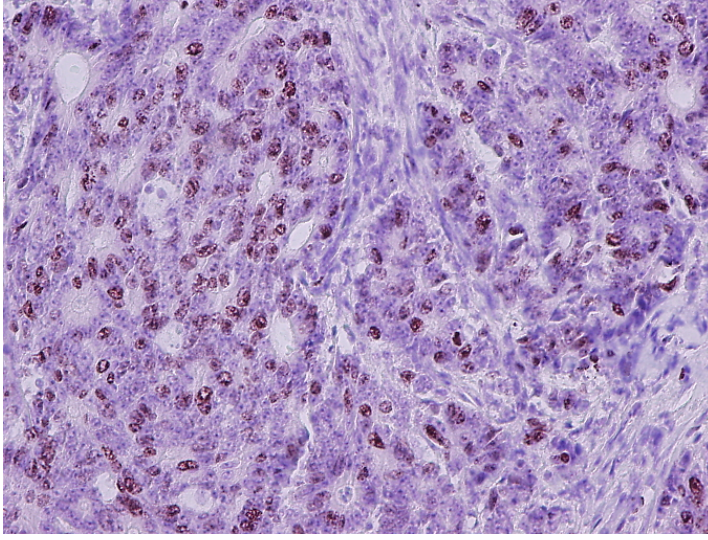
Resim11: Kolon adenokarsinomunda Siklin D1 pozitifliği (x200)

Siklin D1: P53' e benzer şekilde normal mukozada Siklin D1 ile boyanma izlenmedi. Tümör derini ve yüzeyi benzer şekilde boyandı (Resim 11). İyi ($21,64 \pm 27,16$) ve orta derecede ($20 \pm 18,74$) diferansiye tümörler arasında ve tubuler ($17,14 \pm 15,89$) ve villöz adenom ($14,33 \pm 16,86$) arasında boyanma farkı yoktu. Adenokarsinom grubunun boyanma yüzdesinin ortalaması $21,37 \pm 22,8$ 'di. Polip grubunun boyanma yüzdesinin ortalaması $17,46 \pm 15,73$ 'tü. Ancak aralarındaki bu farkın istatistiksel olarak bir anlamı yoktu (Tablo-XII). Poliplerin %97,1'inin boyanma yüzdesi 50'nin altındayken, adenokarsinomların %84,4'ünün boyanma yüzdesi 50'nin altındaydı.

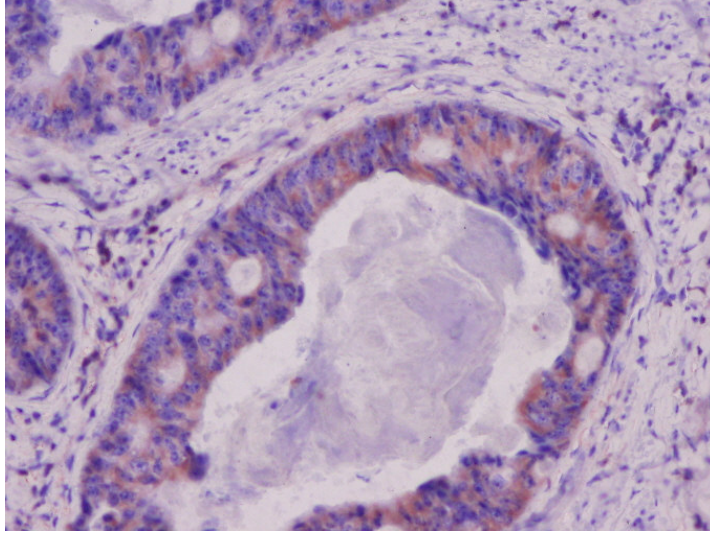
Ki67: Adenokarsinom, polip ve normal mukozanın tamamı Ki67 ile pozitif boyandı (Resim 12). Adenokarsinomların boyanma yüzdelerinin ortalaması $56,81 \pm 22,06$ ve poliplerin boyanma yüzdelerinin ortalaması $43,22 \pm 20,23$ 'tü (Tablo-XII). Poliplerin %97,1 ve adenokarsinomların % 81,4'ünün boyanma yüzdesi %75'in altındaydı. Adenokarsinom derecesi (iyi derecede diferansiye tümörlerin ortalaması $54,82 \pm 19,72$, orta derecede diferansiye tümörlerin ortalaması $44 \pm 24,69$) ve polip tipi (villöz adenomların ortalaması $48,66 \pm 16,58$, tubuler adenomların ortalaması $43,44 \pm 21,02$) ile Ki67 boyanması değişmedi.

Adenokarsinomlar polip ve normal mukozaya kıyasla polipler de normal mukozaya kıyasla Ki67 ile daha yüksek boyandı (Tablo-XII). Aralarındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı.

Bcl 2 α : Normal mukozanın %65,6'sı Bcl 2 α ile negatif boyanma gösterdi. Adenokarsinom grubunun sadece %15,6'sında (Resim 14) ve polip grubunun sadece %5,7'inde Bcl 2 α ile boyanma izlenmedi. Polip grubunun boyanma skorunun ortalaması 4,68 \pm 1,71 adenokarsinom grubunun boyanma skorunun ortalamasından (3,43 \pm 2,03) yüksekti. Polipler tümörlerden daha yüksek derecede Bcl 2 α ile pozitif boyandı (Resim 13). Bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı (Tablo-XII). İyi (4,29 \pm 1,31) ve orta derecede diferansiye (2,69 \pm 2,35) tümörler ve tubuler (4,68 \pm 1,73) ve villöz adenom (4,66 \pm 1,75) benzer şekilde boyandı.



Resim 12: Kolon adenokarsinomunda Ki67 pozitifliği (x200)



Resim 13: Kolon adenokarsinomunda sitoplazmik bcl 2 α pozitifliği(x200)

TUNEL: Polip grubunun pozitif boyanma yüzdesinin ortalaması $3,91\pm 2,77$ iken adenokarsinom grubunun TUNEL ile pozitif boyanma yüzdesinin ortalaması $5,03\pm 4,82$ olup aralarında istatistiksel fark saptamadık (Tablo-XII). İyi derecede diferansiye tümörlerin ortalaması $5,23\pm 4,67$ iken orta derecede diferansiye tümörlerin ortalaması $4,53\pm 4,82$ idi. Tubuler adenomların ortalaması $3,77\pm 2,17$ ve villöz adenomların ortalaması $5\pm 4,97$ 'ydi. Farklı tümör dereceleri arasında ve tubuler adenom ile villöz adenom arasında TUNEL ile istatistiksel olarak anlamlı bir boyanma farkı yoktu.

Adenokarsinom grubunda lenf nodu metastazı bulunan ve lenf nodu metastazı bulunmayan olguların COX 1, COX 2, MMP 7, VEGF, Bcl 2 α , P53, Ki67, Siklin D1, TUNEL boyanmalarını karşılaştırdığımızda aralarında bir fark tespit etmedik (Tablo-XIII). Polip çapı ve tümör çapı ile COX 1, COX 2, MMP 7, VEGF, Bcl 2 α , P53, Ki67, Siklin D1, TUNEL boyaları arasında korelasyon yoktu.

Hem adenokarsinomlarda hem de poliplerde COX 2 boyası ile diğer boyalar arasında bir korelasyon yoktu. Poliplerde Bcl 2 α ile MMP 7 (r:0,464

p:0,05), Bcl 2 α ile VEGF (r:0,417 p:0,013), Bcl 2 α ile Ki67 (r:0,414 p:0,013), Ki67 ile Siklin D (r:0,348 p:0,041) ve p53 ile TUNEL (r:0,401 p:0,017) arasında pozitif bir korelasyon vardı. Adenokarsinomlarda ise sadece p53 ile VEGF (r: -0,30 p: 0,05) arasında negatif bir korelasyon saptadık.

V. TARTIŞMA

Kolorektal karsinomların çok basamaklı bir karsinogenez aşamasına sahip olduğu düşünülmektedir. Kolorektal onkogeneze önerilen baskın model normal hücrelerin tümör süpresör gen ve onkogenleri etkileyen genetik değişikliklerin birikimi sonucunda adenom karsinom sekansı boyunca malign hücrelere dönüşmesidir. Adenomatöz poliplerin %5'i 5-10 yıl içerisinde malign tümöre progrese olur (52). Adenomdan karsinoma progresyon polip büyüklüğü, histolojik tip ve displazinin derecesi olmak üzere üç bağımsız faktörle ilişkilidir. Karsinom gelişmesi ile ilişkili faktörler henüz tam olarak bilinmemekle birlikte adenomatöz polipin uzaklaştırılmasıyla kolorektal karsinom riski azalmaktadır (51).

Son zamanlardaki kanıtlar siklooksijenaz enzimlerinin kolorektal karsinom gelişiminde önemli bir role sahip olduğunu düşündürmektedir. Familial adenomatöz polipozisli hastalarda kontrolsüz ve randomize sulundak denemeleri nonsteroid antiinflamatuvar ilaç kullanımının kolorektal polip sayısı ve büyüklüğünü azalttığını göstermiştir (17,20). Epidemiyolojik çalışmalar ile düzenli aspirin kullanımının kolorektal karsinom insidans ve mortalitesini azalttığı bildirilmiştir. Bu ilaçların etki mekanizması bilinmemekle birlikte prostaglandin biyosentezindeki anahtar enzim olan siklooksijenaz-2 enziminin inhibisyonunun olası bir mekanizma olduğu düşünülmektedir (14-18). Bu mekanizma ile ilgili kolorektal karsinomlar ve poliplerde çok sayıda çalışma yapılmıştır.

COX-2'nin epitelyal hücre proliferasyonunu stimüle ederek, apoptozu inhibe ederek, anjioneogenezisi stimüle ederek, hücre invazivliğini ve metastatik potansiyeli artırarak, immunsupresyona aracılık ederek ve mutajen üretimini artırarak karsinogeneziste rol oynadığı düşünülmektedir (19).

COX 2'nin hangi mekanizma ile apoptozu inhibe ettiği bilinmemekle birlikte bu konuda iki hipotez öne sürülmüştür. Bunlardan ilki COX 2'nin

araşidonik asiti prostoglandinlere çevirerek arşidonik asit seviyesini azaltması ve ikincisi ise COX 2'nin diğer genlerle etkileşerek apopitozu inhibe etmesidir. Araşidonik asit apopitozu inhibe eder (21,53,54). Kinzler ve ark. arşidonik asitin sfingomyelinin seramide dönüşümünü artırarak apopitoza neden olduğunu öne sürmüşlerdir (54). COX 2'nin rat epitel hücrelerinde Bcl 2 seviyesinde artışa neden olduğu ve sonrasında bütiratla indüklenen apopitoza direnç kazandırdığı gösterilmiştir (53,54).

COX 2 arşidonik asitin prostoglandin E2'ye dönüşümünü indükler. Prostoglandin E2'nin ise neoanjiogenez ve VEGF gibi anjiogenik faktörlerin sentezini stimüle ettiği düşünülmektedir (54). Prostoglandin E2 intrasellüler siklik adenzin monofosfat birikimini indükler ve bunun sonucunda da protein kinaz A sinyal yolu aktivasyonu ile hücre büyümesi stimüle edilir ve hücre adezyonunda değişiklik olur (53).

İnsan kolorektal adenokarsinom yapısına COX 2 ekspresyon vektörü transfer edildiğinde kontrol grubuna kıyasla 6 kat daha fazla invazivlik kazandığı görülmüştür. Gastrik kanserlerde COX 2 ekspresyonu ile lenfatik invazyonu ve lenf nodu metastazının korele olduğu görülmüştür (53).

Normal mukozaya kıyasla adenomlarda ve adenokarsinomlarda COX 2 ekspresyonunun arttığına dair çok sayıda çalışma vardır. Cianchi ve ark. adenokarsinoma kıyasla normal mukozada COX 2 protein seviyesinin düşük olduğunu göstermişlerdir (21). Yapılan pek çok çalışma normal mukozayla kıyaslandığında adenomlarda COX 2 ekspresyonunun arttığını göstermiştir (19,21). Adenom büyüklüğü arttıkça ve displazi derecesi yükseldikçe COX 2 ekspresyonunun arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (21). Elder ve ark. ile Azuyama ve ark. yaptıkları çalışmalarda COX 2 ekspresyonunun kolorektal adenom büyüklüğü ile doğru orantılı olarak arttığını göstermişlerdir (32). Hasegawa ve ark. yaptığı bir başka çalışmada da büyük poliplerde COX 2 mRNA seviyesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (24). Sato ve ark. adenomlarda displazi artıkça COX 2 ekspresyonunun da arttığını

bildirmektedir (24). Hao ve ark. yaptıkları çalışmada adenom çapı ve COX 2 ekspresyonu arasında böyle bir ilişki olmadığını öne sürmektedir (31). Sheehan ve ark. ise Hao ve ark. aksine büyük poliplerin COX 2 ile daha yaygın pozitiflik gösterdiğini ve displazi derecesi arttıkça COX 2 ekspresyonunun da arttığını rapor etmişlerdir (35).

Biz de normal mukozaya kıyasla adenomlarda ve adenokarsinomlarda COX 2 ekspresyonunun daha yüksek olduğunu gördük. Adenomlar adenokarsinomlardan daha yüksek boyandı ve ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Adenomlardan sadece 5 tanesinde yüksek dereceli displazi vardı. Bu yüzden displazi derecesi ile COX-2 ekspresyonun sağlıklı bir değerlendirilmesi yapamadık. COX 2 ekspresyonu ve polip büyüklüğü arasında korelasyon saptamadık. Aynı şekilde tümör çapı ile COX 2 ekspresyonu arasında da bir korelasyon yoktu.

Çalışmamızda hem adenomlarda hem de karsinomlarda COX 2 ile interstisyel hücrelerde ve damarlarda fokal pozitif boyanma tespit ettik. Literatürde bizimkine benzer şekilde interstisyel hücrelerde pozitiflik saptanan çok sayıda çalışma mevcuttu (15,17,18,21,24,29-31). Chable ve ark. yaptıkları bir çalışma da interstisyel hücreler (makrofajlar) ile COX 2 ekspresyonu, mikrodamar dansitesi ve adenom büyüklüğü arasında korelasyon olduğunu göstermişlerdir (27).

Watson ve Dubais p53 mutasyonunu COX 2 ekspresyonundaki artışın takip ettiğini öne sürmüşlerdir (17). Ancak Sakuma ve ark. 1999 yılında kolorektal karsinomlarda yaptıkları çalışmada COX 2, p53 ve Ki67 arasında bir korelasyon tespit etmemişlerdir (17). Yeon ve ark. da kolorektal karsinomlarda COX 2 ekspresyonu ve Ki67 arasında bir korelasyon olmadığını bildirmişlerdir (25). Biz de COX 2, p53 ve Ki67 boyanma skorları arasında bir ilişki saptamadık. Literatürdeki diğer çalışmalar gibi biz de Ki67 ile COX 2 arasında bir korelasyon saptamadığımız için COX 2'nin hücre proliferasyonu üzerine etkisi olmadığını

düşünmekteyiz. Cianchi ve ark. yaptıkları çalışmada VEGF ekspresyonu ve COX 2 ekspresyonu arasında da korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (22). Ancak biz COX 2 ile VEGF arasında böyle bir ilişki tespit etmedik.

Çalışmaların bir kısmında normal mukozaya kıyasla kolorektal karsinom ve poliplerde COX 1 boyanmasında anlamlı bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir (26). Cianchi ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise normal mukozaya kıyasla tümöral dokuda COX 1 proteinin azaldığı gösterilmiştir (22). Bizim çalışmamızda hem adenokarsinomlar, hem polipler hem de normal mukoza COX 1 ile büyük oranda negatif boyandı. COX 1 ile COX 2 boyanması arasında bir korelasyon izlemedik.

Adenomdan karsinoma geçişte başlıca adım bazal membran ve ekstrasellüler matriksin degradasyonu olduğu düşünülmektedir. Matriks metalloproteinazlar çinko içeren tipik olarak degrade etme kapasitesine sahip enzimler olarak tarif edilen çok geniş bir protein grubudur. Büyüme faktörleri , büyüme faktör reseptörleri, hücre yüzey reseptörleri, kemotaktik faktörler, apoptoz mediatörleri, hücre hücre ve hücre matriks adezyon molekülleri, diğer proteinazlar, pıhtılaşma faktörlerini içeren biyolojik olarak önemli proteinler MMP substratları olarak tanımlanmıştır. MMP substratlarının geniş bir aralıkta tanımlanması özellikle hücre proliferasyonu, hücre ölümü üzerine etkileri nedeniyle tümör gelişimi ve progresyonunda önemli olduğunu düşündürmektedir (46,52,55,56).

Metalloproteinaz ailesinden olan MMP 7'nin kollajen, proteoglikan, elastin, laminin, fibronektin, ve kasein gibi çok geniş bir spektruma sahip substratlara karşı proteolitik aktivitesi vardır. Ekspresyonunu β katenin düzenler. Özofagus, mide, kolorektal, baş-boyun, akciğer, prostat ve hepatosellüler karsinom gibi malign tümör hücrelerinden üretilir (49). Kolorektal karsinomların %80'inde MMP 7 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (48). İmmunohistokimyasal çalışmalar MMP 7 ekspresyonunun mide ve kolorektal karsinomlarda nodal ve uzak metastaz ile anlamlı derecede korele olduğunu göstermektedir (45-49).

Özofajial skuamöz hücreli karsinomda MMP 7 ekspresyonu derin tümöral invazyon, ileri tümör evresi, rekürrens ve post operatif ilk bir yılda rekürrensin görülmesi ile ilişkili bulunmuş ancak nodal ya da uzak metastaz ile aralarında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (49). Özofajial skuamöz hücreli karsinomlarda yapılan çalışma gibi biz de lenf nodu metastazı ve MMP 7 arasında bir ilişki bulamadık. Çalışmamızda tümörler hem poliplerden hem de normal mukozadan daha yüksek boyanma gösterdi. Aralarındaki bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı. Poliplerde normal mukozaya kıyasla daha yüksek oranda pozitif boyandı.

Bcl 2 α bir çok stimulusla tetiklenen hem normal hem de transforme hücrelerde apoptozu inhibe eden anti apoptotik bir onkoproteindir. Kolorektal polip ve karsinomları kıyaslayan çalışmalarda tümörlere kıyasla poliplerin Bcl 2 α ile daha yüksek oranda pozitif olması nedeniyle kolorektal karsinogenezin erken döneminde rolü olduğuna inanılmaktadır (57). Daha önceki çalışmalarda Bcl 2 α 'nın angiogenezi suprese ettiği gösterilmiştir (58). Bu yüzden paradoksal olarak apoptozu inhibe etmesine rağmen prognozu olumlu etkilediği düşünülmektedir (58). Bizim çalışmamızda ise Bcl 2 α ile pozitif boyanan poliplerin VEGF ile de pozitif boyandığını gördük. Ancak tümörlerde böyle bir korelasyon tespit etmedik. Husain ve ark. 2000 yılında kolorektal adenomlar ve kolorektal karsinomlarda immunohistokimyasal olarak Bcl 2 α , Ki-67 ve p53 antikorlarını çalışmışlardır. Bu çalışmada Bcl 2 α ile adenomların adenokarsinoma kıyasla daha yüksek oranda pozitif boyandığını saptamış ve düşük Ki67 ve p53 boyanması ile Bcl 2 α ekspresyonu arasında pozitif korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca bu hastaların prognozunun daha iyi olduğu görülmüştür (59). Yapılan bir başka çalışmada ise büyük ve ileri evre tümörlerde Bcl 2 α ekspresyonunun daha az görüldüğü saptanmıştır. Bu çalışmada düşük dereceli tümörler ve normal mukoza Bcl 2 α ile daha yüksek oranda pozitif boyanmıştır (60). Bizim çalışmamızda da literatürdeki örnekleri gibi polipler tümörlerden daha yüksek boyandı. Bcl 2 α boyanma şiddeti polip büyüklüğü ve tümör büyüklüğü ile korele değildi. Bazı çalışmalarda Bcl 2 α ile Ki67 korelasyonu saptanırken bazı çalışmalarda ise böyle bir korelasyon izlenmemiştir. Biz sadece poliplerde Bcl 2 α

ile Ki67 arasında pozitif bir ilişki mevcut olduğunu gördük. Ayrıca yine poliplerde MMP 7 ile Bcl 2 α arasında benzer şekilde pozitif bir korelasyon vardı. Ancak tümörlerde böyle bir korelasyon tespit etmedik. Apoptotik indeksin düşük olduğu tümörlerde Bcl 2 α ile daha yüksek oranda pozitiflik izlendiğini gösteren çalışmalar yapılmıştır (59). Biz de apoptozu göstermek için yaptığımız TUNEL yönteminde çok az tümör hücresinde boyanma tespit ettik. Tümör hücreleri Bcl 2 α ile TUNEL'e kıyasla yüksek oranda pozitiflik gösterdi. Ancak aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir korelasyon yoktu. Literatürde bizimki gibi apoptoz ile Bcl 2 α arasında korelasyon olmadığını bildiren bazı çalışmalar da bulunmaktadır (10).

p53 tümör supresör geni kolorektal karsinomu da içeren malign insan tümörlerinde en sık mutasyona uğrayan genidir. p53 nokta mutasyonları tek alleli ilgilendirse bile üç boyutlu değişiklikler nedeniyle normal allelde fonksiyon kaybına neden oldukları için geni inaktive ederler (56). Watson ve Dubais p53 mutasyonunu COX-2 seviyesinde artışın takip ettiğini düşünmektedir (14). p53 direkt olarak anjiogenez mediatörlerini kodlayan genlerin ekspresyonlarını kontrol eder. Kaybı antianjiogenik ve anjiogenik faktörler arasında dengesizliğe neden olur ve bir çok tümör tipinde dengenin anjiogenik yöne değişmesine neden olur (44). Çalışmamızda poliplere kıyasla tümörlerin p53 ile daha yüksek boyandığını gördük. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Normal mukozada p53 ile boyanma yoktu. Lenf nodu metastazı varlığının p53 üzerine bir etkisi olmadığını gördük. Poliplerde p53 ile TUNEL arasında pozitif bir korelasyon izlenirken, tümörlerde p53 ile VEGF arasında pozitif bir korelasyon vardı.

Ki67 ile normal mukozaya kıyasla hem tümörler hem de polipler daha yüksek oranda boyandı. Büyük, ileri evre ve yüksek dereceli tümörlerde Ki67 ile daha çok oranda pozitifliğin saptandığı çalışmalar literatürde mevcuttur (59). 1992 yılında Suzuki ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 58 adet kolorektal karsinom ve 10 adet normal mukoza çalışılmıştır. Normal mukozaya kıyasla tümörler ve Dukes A tümörlere kıyasla Dukes B ve C tümörler daha yüksek

oranda pozitif boyanmıştır. Ancak bu çalışmada tümör büyüklüğü lenf nodu ve uzak metastaz varlığı arasında bir ilişki saptanamamıştır (61). Biz de tümör büyüklüğü, lenf nodu metastazı varlığı ile Ki67 boyanma yüzdesi arasında bir ilişki tespit etmedik. Poliplerde Ki67 ile Bcl 2 α ve Siklin D arasında pozitif bir korelasyon varken tümörlerde böyle bir ilişki izlenmedi.

Siklin D1 ekspresyonunu etkileyen aksilikler neoplastik transformasyonun ortak bir sonucudur. Meme, özofagus, baş-boyun, karaciğer ve lenfoma gibi pek çok tümör tipinde Siklin D1 overekspresyonu saptanmıştır. Normal kolon mukozası Siklin D1 ile nadiren pozitif boyanır. Bizde normal mukozada Siklin D ile boyanma saptamadık. Kolorektal karsinomlarda Siklin D1 ile çok az çalışma yapılmış ve yapılanların büyük kısmında da tümör büyüklüğü, lenf nodu ve uzak metastaz varlığı ile Siklin D1 boyanma yüzdesi arasında bir korelasyon olmadığı görülmüştür (61-64). Bizim çalışmamızda da polipler ve adenokarsinomlar Siklin D1 ile benzer şekilde boyandı. Siklin D1 pozitifliği ve lenf nodu metastazı arasında bir ilişki yoktu. Poliplerde Ki67 ile yüksek boyanan olguların benzer şekilde Siklin D1 ile de yüksek olarak boyandığını gördük. Aralarında pozitif bir korelasyon vardı. Ancak tümörlerde böyle bir ilişki saptamadık.

VEGF anjiogenez yoluyla tümör progresyonu ve metastaza neden olan homodimerik, disülfid bağımlı bir glikoproteindir. Endotel hücrelerinin güçlü mitojenidir. Hücre migrasyonunu artırır. Makrofajlar üzerine kemotaktik aktivitesi rapor edilmiştir (43). Ferrara ve Henzel apoptozu inhibe ettiğini göstermiştir. Gerber ve ark. VEGF ile inkübe edilen endotel hücrelerinde antiapoptotik Bcl 2 α geninin anlamlı derecede indüklendiğini tespit etmiştir (42). Bizde sadece VEGF ile yüksek boyanan poliplerin Bcl 2 α ile de yüksek boyandığını gördük. Ancak bu korelasyon tümörlerde mevcut değildi. VEGF'nin insan karsinomlarının patogenezi ve prognozundaki rolü olduğu bir çok araştırmacı tarafından öne sürülmektedir (42). VEGF ekspresyonu lokal doku hipoksisi, sitokinler, onkogenler, tümör süpresör genler, ve değişik büyüme faktörleri ile düzenlenir. Kolorektal karsinomlarda ilk olarak Brown ve ark. in situ hibridizasyon yöntemiyle normal epitelin aksine malign epitelyal hücrelerin kuvvetli bir şekilde

VEGF mRNA eksprese ettiğini ve immunohistokimyasal olarak da tümör hücrelerinin VEGF ile kuvvetli boyandığını göstermişlerdir. Deneysel bilgiler yüksek VEGF ekspresyonu olan tümörlerin hızlı büyüdüğü ve metastatik yetenek gösterdiği yönündedir. İmmunohistokimyasal olarak VEGF ekspresyonunun tümördeki damar sayısı ve metastaz yapması ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir (43,44,65). Bizim çalışmamızda tümörler VEGF ile normal mukozaya göre daha yüksek oranda boyandı. Bu yükseklik istatistiksel olarak da anlamlıydı. Tümörlerin VEGF skorlarının ortalaması $3,28 \pm 2,30$ iken poliplerin boyanma skorlarının ortalaması $0,65 \pm 1,32$ idi ve aralarındaki fark istatistiksel olarak da anlamlıydı. Tümörlerde lenf nodu metastazı görülen grup ile lenf nodu metastazı görülmeyen grup arasında VEGF boyanması açısından anlamlı bir fark bulunmadı.

Kolorektal polipler ve kolorektal karsinomların COX 2 ile normal mukozaya kıyasla daha yüksek oranda pozitif boyanması kolorektal karsinogenezde COX 2 enziminin rolü olduğunu düşündürmektedir. Ki67, Bcl 2 α , p53, VEGF ile COX 2 arasında korelasyon mevcut olmadığı için COX 2'nin hücre proliferasyonu, apoptoz ve anjiogenez üzerine etkili olmadığını düşünmekteyiz. COX 2 ile poliplerin daha yüksek oranda pozitif boyanması kolorektal karsinogenezin erken dönemlerinde COX 2 enziminin rolü olabileceğini akla getirmektedir.

VI. SONUÇLAR

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar maddeler halinde aşağıda özetlenmiştir:

- 1- Tümörler COX 2, Bcl 2 α , MMP 7, VEGF, p53, Ki67, Siklin D1 ve TUNEL ile normal mukozaya kıyasla daha yüksek oranda pozitif boyanmıştır. Tümörlerin COX 1 ile pozitif boyanma ortalaması normal mukozanın ortalamasından yüksek olmakla birlikte aralarındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.
- 2- Polipler COX 2, Bcl 2 α , p53, Ki67, Siklin D1 MMP 7, TUNEL ile normal mukozaya kıyasla daha yüksek oranda pozitiflik göstermiştir. VEGF ile ise normal mukoza poliplere kıyasla daha yüksek oranda pozitif boyanmıştır. COX 1 ile poliplerin ortalama skorları normal mukozadan yüksek olmakla birlikte bu farkın istatistiksel bir anlamı tespit edilememiştir.
- 3- Polipler Bcl 2 α ile tümörlere kıyasla daha yüksek boyanma gösterirken tümörler, MMP 7, VEGF, p53, Ki 67 ile poliplerden daha yüksek boyanma göstermiştir. COX 2, Siklin D1, TUNEL ve COX 1 boyanma skor ortalamaları açısından polipler ve tümörler arasında bir fark izlenmemiştir.
- 4- Poliplerde Bcl 2 α ile MMP 7, VEGF ve Ki67 arasında, p53 ile TUNEL arasında ve Ki67 ile Siklin D1 arasında pozitif bir korelasyon izlenirken tümörlerde sadece p53 ile VEGF arasında negatif bir korelasyon izlenmiştir.
- 5- COX 2 ile yapılan boyaların hiç birisi arasında bir korelasyon saptanmamıştır.
- 6- Tümörlerde lenf nodu metastazının varlığı, tümör çapı ve derecesi ile polip tipi ve çapı hiçbir boyanın boyanma skoru üzerine etkili bulunmamıştır.

VII. ÖZET

Kolorektal karsinomlar Amerika Birleşik Devletlerinde görülen ikinci en sık karsinom olup karsinom ölümlerinin de ikinci en sık nedenidir. Kolorektal karsinomların çoğu adenomlardan gelişir. Bu potansiyel olarak premalign lezyonların juvenil polip, hamartom ve inflamatuvar polip gibi karsinoma ilerlemeyen poliplerden ayrımının yapılması gereklidir. Son zamanlardaki bulgular serrated adenom, hiperplastik polip ve mikst poliplerin klasik adenomatöz poliplerden farklı olarak “mismatch” tamir anormalliği yoluyla geliştiğini düşündürmektedir. Histolojik tipi ne olursa olsun 1 cm’den büyük poliplerin kanser içerme olasılıkları daha fazladır.

Çok sayıda epidemiyolojik çalışma aspirini de içeren nonsteroid antiinflamatuvar ilaç kullanımının kolorektal polip ve kolorektal karsinom insidansında ve kolorektal karsinom mortalitesinde azalmaya yol açtığını göstermiştir. Bir çok tedavi Familial Adenomatöz Poliposis Sendromunda kolorektal karsinom gelişme riskini azaltmıştır. Sulindak adenom sayısını ve büyüklüğünü azaltır. Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar siklooksijenazı (COX: Prostaglandin Endoperoksit Sentaz) ve prostoglandin sentezini inhibe eder. Deneysel çalışmalarda nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar karsinojene maruz bırakılmış hayvanlarda kolon karsinom oluşumunu azaltmıştır. Memeli hücrelerinde yapısal olarak benzer fakat birbiri ile ilişkisiz COX 1 ve COX 2 olarak adlandırılan iki izoformu vardır. Bu iki protein farklı genler tarafından kodlanır. İki izoformun ekspresyonlarının düzenlenmesi farklıdır. Siklooksijenaz 1 (COX 1) bir çok dokuda eksprese edilir ve prostaglandin üretimi yolu ile normal homeostazın sürdürülmesinde etkilidir. Siklooksijenaz 2 (COX 2) sitokin, mitojen, büyüme faktörlerini içeren bir çok stimulus tarafından indüklenir inflamatuvar bölgelerde prostaglandin üretiminden sorumludur. Son çalışmalar COX-2'nin hücre proliferasyonu, apoptoz, anjioneogenezis, immun sistem modülasyonu ve ekstrasellüler matriksadezyonunu içeren bir çok farklı mekanizma yoluyla karsinogenezisi etkilediğini göstermiştir.

Bu çalışmada 32 adet kolorektal karsinom ve 35 adet kolorektal adenomda COX 1 ve COX 2 immunoreaktivitesi ve COX 2 ekspresyonu ile p53, Bcl 2 α , VEGF, MMP 7 ve TUNEL ile apoptotik indeks ilişkisi incelenmiştir.

Kolorektal karsinomların büyük bir kısmı (%96,9) COX 2 ile pozitif boyanırken %75 oranında MMP 7 ve VEGF ile pozitiflik tespit edilmiştir. p53 ve Siklin D1 pozitifliği sırasıyla %96,9 ve %84,4'tür. COX 1 sadece tümörlerin %31,2'sinde saptanmıştır. Kolorektal adenomlarda artmış COX 2 (%97,1), VEGF (%25,7), MMP 7 (%57,1), Siklin D1 (%85,7), p53 (%77,1) ekspresyonu gözlemlendi. Normal mukozada p53 ve Siklin D1 ile boyanma izlenmedi.

Kolorektal karsinomlar adenom ve normal mukozaya kıyasla MMP 7 ile daha yüksek boyandı.

Kolorektal karsinomlardaki COX 2 ekspresyonu normal mukozadan anlamlı derecede farklıydı.

Kolorektal adenom ve karsinomlarda COX 2 ekspresyonu ve p53, Bcl 2 α , VEGF, MMP 7 immunoreaktivitesi arasında korelasyon yoktu. Tümörlerde VEGF ekspresyonu ile p53 immunoreaktivitesi arasında negatif korelasyon vardı (r: -0,30 p: 0,05).

Bu sonuçlar ve daha önceki incelemeler kolorektal karsinom gelişimiyle COX 2 arasında bir ilişki olduğunu düşündürmekle birlikte COX 2'nin kolorektal karsinom gelişimindeki rolü henüz tam anlaşılamamıştır.

VIII. SUMMARY

Colorectal cancer is the second most common cancer and the second leading cause of cancer death in the United States. Most colorectal cancers arise from preexisting adenomas. Such potentially premalignant lesions should be distinguished from juvenile polyps, hamartomas, and inflammatory polyps, which are not thought to progress to colorectal cancer. Recent evidence suggests that serrated adenomas, hyperplastic polyps, and admixed polyps may arise through a pathway different from that of conventional adenomatous polyps through abnormalities in mismatch repair. Regardless of histologic class, polyps larger than 1.0 cm in diameter are more likely to contain carcinoma.

Most epidemiologic studies have reported reductions in the incidence of colorectal adenomas, colorectal cancer, and colon cancer mortality associated with the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), including aspirin. Several medications may reduce colorectal cancer risk in FAP. Sulindac reduces the size and number of adenomas. Non-steroidal anti-inflammatory drugs, which inhibit cyclooxygenase (COX: prostaglandin endoperoxide synthase) and the synthesis of prostaglandins (PGs), can reduce the formation of colon cancers in experimental animals given carcinogens. Mammalian cells contain two related, but unique, isoforms of COX, referred to as COX 1 and COX 2. These two proteins are encoded by separate genes. The most dramatic difference between these two isozymes is observed in their patterns of expression. COX-1 is present in most tissues and is involved in the physiological production of PGs for maintaining normal homeostasis, whereas COX 2, which is induced by mitogens, cytokines and growth factors, is primarily responsible for PGs produced in inflammatory sites. Recent studies have demonstrated that COX 2 could affect carcinogenesis via several different mechanisms, including cell proliferation, apoptosis, modulation of the immune system, angiogenesis and adhesion to the extracellular matrix.

The purpose of the present study was to analyze proportions of COX 2 and COX 1 immunoreactivity in 32 resected specimens of colorectal cancer

and 35 colorectal adenomas, to investigate whether there was an association between COX 2 expression and apoptotic index with TUNEL, immunoreactivity of p53, bcl-2 α , VEGF, MMP-7. A large proportion (96.9%) of colorectal cancers expressed COX 2; MMP 7 and VEGF were also detected in 75% of tumors. p53 and cyclinD1 immunoreactivity were % 96,9 and %84.4 respectively. COX 1 was only present in 31.2 % of tumors. The enhanced COX 2(97.1), VEGF(25.7), MMP-7(57.1), cyclin D1(85.7), p53(77.1) expression was also observed in colorectal adenomas. There was no staining p53 and cyclin D1 in normal mucosa. Colorectal carcinomas were showed significantly increased MMP-7 expression compared with adenomas and normal mucosa.

COX 2 expression in colorectal cancers was significantly different from that in normal mucosa.

There was no correlation between COX 2 expression and immunoreactivity of p53, bcl-2 α , VEGF, MMP-7 in adenomas and colorectal cancers.

The expression of VEGF in tumor tissues was inversely correlated with those of p53 immunoreactivity (r: -0,30 p: 0,05).

These results and those of other investigators suggest that COX 2 may be related to the development of colorectal cancer, but the precise role of COX 2 in colorectal cancer is not yet fully known .

IX. KAYNAKLAR

1. Hamilton R.S, Aaoltenen L.A (eds), Tumors of Colon and Rectum In: Pathology and Genetics of Tumors of the Digestive System, IARCPress Lyon, 2000. 101-314
2. Kumar V., Abbas A., Fausto N.(eds), Gastrointestinal Tract In: Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Elsevier Philadelphia, 2005, 7rd ed. 856-870
3. Rosai J.(ed), Gastrointestinal Tract In: Rosai and Ackerman's Surgical Pathology Mosby Edinburg, 2004 9rd ed .11:799-821.
4. Cooper H. Intestinal Neoplazms In: Mills S, Carter D, Reuter V, Greenson J, Stoler M, Oberman H (eds), Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology, Lippincott Williams& Wilkins Philadelphia, 2004,4rd ed p.34; 1543- 1601
5. Ensari A. Kolon Karsinomunda Neoplastik Sürece Onkopatolojik Yaklaşım, 18. Ulusal Patoloji Sempozyumu, 2006; 87-92
- 6- Cheng L., Lai M. Aberrant crypt foci as microscopic precursors of colorectal cancer, World J Gastroenterol, 2003; 9(12):2642-2649
- 7- Oka S., Tanaka S., Hiyama T., Ito M, Kitadai Y, Yoshihara M, Haruma K, Chayama K. Colorectal serrated adenoma: clinicopathologic and endoscopic features, Gastrointest Endosc, 2004; 59:213-9.
- 8- Riddel R.H, Petras R.E, Williams G.T, Sobin L.H. Epithelial Neoplasia of the Intestines In: Atlas of Tumor Pathology Tumors of the Intestines, AFIP. 2003,85-240

- 9- Snover D., Jass, J., Fenoglio-Preiser C., Batts, P. Serrated Polyps of the Large Intestine: A Morphologic and Molecular Review of an Evolving Concept, *Am J Clin Pathol*, 2005; 124(3):380-91.
10. Ladabaum U., Scheiman J., Fendrick A.M. Potential effect on, COX-2 specific inhibitors on the prevention of colorectal cancer: A cost effective analysis, *Am J Med*, 2003; 114(7):546-551
11. Liang J.T., Huang K.-C., Jeng Y.-M., Lai H.-S., Hsu H.-C. Microvessel density COX-2 expression, K-ras mutation and p53 overexpression in colonic cancer, *British J Surg*, 2004; 91:355-361
12. Munne A., Fabre M., Marinoso M.L., Galen M., Real F.X. Nuclear B- catenin in colorectal tumors: To Freeze or not Freeze?, *J Histochem Cytochem*, 1999; 47:1089-1094
13. Sellin J.H., Umar S., Xiao J., Morris A.P. Increased beta-catenin expression and nuclear translocation accompany cellular hyperproliferation in vivo, *Cancer Res*, 2001; 61:2899-2906
14. Brabletz T., Jung A., Reu S., Porzner M., Hlubek F., Kunz-Schughart L.A., Knuechel R., Kirchner T. Variable B- catenin expression in colorectal cancer indicates tumor progression driven by the tumor environment, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;28;98(18):10356-61
15. El-Bahrawy M., Poulsom S.R., Rowan A.J., Tomlinson I.T., Alison M.R. Characterization of the E-cadherin/catenin complexes in colorectal carcinoma cell lines, *Int J Exp Pathol*, 2004;85(2):65-74
16. Ougolkov A.V., Yamashita K., Mai M., Minamoto T. Oncogenic B catenin and MMP 7 Cosegregate in late-state clinical colon cancer, *Gastroenterol*, 2002;122:60-71

17. Sakuma K., Fujimori T., Hirabayashi K., Terano A. COX-2 immunoreactivity and relationship to p53 and ki67 expression in colorectal cancer, *J Gastroenterol*, 1999;34:189-194
18. Ota S., Bamba H., Kato A., Kawamoto C., Yoshida Y., Fujiwara K. Review article: COX-2, prostanoids and colon cancer, *Aliment Pharmacol Ther*, 2002; (16)2:102-6.
19. Peek R.M. Enzymology; Selective COX inhibition downregulates VEGF dependent tumor mechanisms, *Angiogenesis*, 2003;24
20. Sheehan K., MacSweeney F., Conray R., Fitzgerald D., Murray F. The relationship between COX-2 expression and colorectal cancer, *JAMA*, 1999;96;282(13):1254-7
21. Sheehan K., O'Connell F., O'Grady A., Conray R. The relationship between cyclooxygenase-2 expression and characteristics of malignant transformation in human colorectal adenomas, *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2004;16(6):619-25
22. Cianchi F., Cortesini C., Bechi P., Fantappie O., Vannachi M.A., Sardi I., Baroni G., Boddi V., Mazzanti R., Masini E. Up-regulation of COX-2 gene expression correlates with tumor angiogenesis in human colorectal cancer, *Gastroenterol*, 2001;121:1339-1347
23. Castela J.E., Bart R.D., DiPierna C.A., Sievers E.M., Bremmer R.M. Lung cancer and COX-2, *Ann Thorac Surg*, 2003;76(4):1327-35
24. Sato T., Yoshinaga K., Okabe S., Okawa T., Higuchi T., Enomoto M., Takizawa T., Sugihara K. COX-2 expression and its relationship with proliferation of colorectal adenomas, *Jpn J Clin Oncol*, 2003;3:631-635

25. Yeon J., Sung-Jig L., Kyeongmee P. COX-2 and c-erb-b2 expression in colorectal carcinoma assessed using tissue microarrays, *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2004;12(1):67-70
26. Einspahr J., Krouse R.S., Yochim J.M., Danenberg P.V., Danenberg K.D., Bhattacharyya A.K., Martinez M.E., Alberts D.S. Association between COX expression and colorectal adenoma characteristics, *Cancer Res*, 2003;13:3891-3893
27. Chapple K., Cartwright G.H., Tisbury A., Bonifer C., Windsor A., Guillou P., Markham A., Coletta L., Hull M. Localization of COX-2 in human sporadic colorectal adenomas, *Am J Pathol*, 2000;156:545-553
28. Shariat S.F., Matsumoto K., Kim J., Ayala G., Zhou J-H., Jian W., Benedict W., Lerner S. Correlation of COX-2 expression with molecular markers, pathological features and clinical outcome of transitional cell carcinoma of bladder, *J Urol*, 2003;170:985-989
29. Haginomori S-I., Kawata R., Yagi M., Takenaka H., Maeda T. Expression of COX-1 and COX-2 in mitotic cells in squamous cell carcinoma of the head and neck: a Preliminary study, *Bull Osaka Med Coll*, 2003;49(1,2):17-20
30. Sato T., Yoshinaga K., Okabe S., Okawa T., Higuchi T., Enomoto M., Takizawa T., Sugihara K. COX-2 expression in colorectal adenomas, *Dis Colon Rectum*, 2003;786-792
31. Hao X., Bishop A., Wallace M., Wang H., Willcocks T., Maclouf J., Polak J., Knight S., Talbot I. Early expression of COX-2 during sporadic colorectal carcinogenesis, *J Pathol*, 1999;187:295-301
32. Azumaya M., Kobayashi M., Ajioka Y., Honma T., Suzuki Y., Takeuchi M., Narisawa R., Askura H. Size-dependent expression of COX-2 in sporadic

colorectal adenomas relative to adenomas in patients with familial adenomatous polyposis, *Pathol Int.* 2002;52(4):272-276

33. Bottone F.G., Martinez J.M., Alston-Mills B., Eling T.E. Gene modulation by COX-1 and COX-2 specific inhibitors in human colorectal carcinoma cancer cells, *Carcinogenesis*, 2004;25(3):349-357

34. Chapple K.S., Scott N., Guillou P.J., Coletta P.L., Hull M.A. Interstitial cell COX-2 expression is associated with increased angiogenesis in human sporadic colorectal adenomas, *J Pathol*, 2002;198:435-441

35. Sheehan K., O'Connell F., O'Grady A., Conroy R., Leader M. Byrne M., Murray F., Kay E. The relationship between COX-2 expression and characteristics of malignant transformation in human colorectal adenomas, *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2004;16(6):619-625

36. Zha S., Yegnasubramanian V., Nelson W., Isaac W., De Marzo A. COX in cancer: Progress and perspective, *Cancer Lett.* 2004, 215:1-20

37. Martell-Pelletier J., Pelletier J.P., Fahmi H. New insights into prostaglandin biology, *Brain Res Rev*, 2005;45(2):352-9

38. Lagorce C., Paraf F., Vidaud D., Couvelard A., Wendum D., Martin A. COX-2 is expressed frequently and early in Barrett's oesophagus and associated adenocarcinoma, *Histopathol*, 2003;42:457-465

39. Sheehan K., Steele C., O'Grady A., Leader M.B., Murray F.E., Kay E.W. Associated between COX-2 expressing macrophages, ulceration and microvessel density in colorectal cancer, *Histopathol*, 2005;46:287-295

40. Kim G.E., Kim Y.B., Cho N.H., Chung H-C., Pyo H.R., Lee J.D., Park T.K., Koom W.S., Chun M., Suh C.O. Synchronous coexpression of epidermal growth

factor receptor and COX-2 in carcinomas of uterin cervix: A Potantial predictor of poor survival, Clin C Res, 2004;10:1366-1374

41. Ding Z.X., Hennig R., Adrian T. Lipoxygenase and cyclooxygenase metabolism: new insight in treatmeant and chemoprevention of pancreatic cancer, Mol. Cancer, 2003; 7:2-10

42. Usubütün A, Hücresel Patoloji In: Mocan Kuzey G (ed), Temel Patoloji. Güneş Kitabevi. Ankara, 2007;25

43. Asad U., Viner J., Anderson W., Hawk E. Development of COX inhibitors in cancer prevention and therapy, Am J Clin Oncol, 2003;26(4):S48-57

44. Brash A. Arachidonic acid as a bioactive molecule, J Clin Inves, 2001;107(11): 1339-1345

45. Liu C.H., Chang S-H., Narko K., Trifan O., Wu M-T., Smith E., Haundenschild C., Lane T., Hla T. Overekspression of cyclooxygenase- 2 sufficient to induce tumorigenesis in transgenic mice, J Biol Chem, 2001;276(21): 18563-18569

46. Kaklamanis L., Trichas M., Amarantidis K., Spathari N., Micheli A., Karayiannakis A., Chatzaki E., Georgoulas V., Kakolyris S. VEGF expression in the colorectal adenoma-carcinoma sequence, Oncol Res, 2006;15:445-451

47. Özuysal S Tümöral anjiogenezis, Türk Patoloji Derneği, 2001;17(3-4):90-93

48. Leeaman M.F, McKay J.A., Murray G.I. Matrix metalloproteinase 13 activity is associated with poor prognosis in colorectal cancer, J Clin Pathol, 2002;55(10):758-62

49. Curan S., Dundas S.R., Buxton J., Leeman M., Ramsay R., Murray G. Matrix metalloproteinase/tissue inhibitors of matrix metalloproteinase phenotype identifies poor prognosis colorectal cancer, *Clin C Res*, 2004;10:8229-8234
50. Boedefeld W., Song R., Weiss H., Diasio R., Urist M., Bland K., Heslin M. E1A-F is over expressed early in human colorectal neoplasia and associated with COX-2 and Matrix metalloproteinase 7, *Mol Carcinog*, 2005;43:13-17
51. Brabletz T., Jung A., Dag S., Hlubek F., Kirchner T. Beta catenin regulates the expression of the Matrix metalloproteinase 7 in human colorectal cancer, *Am J Pathol*, 1999;155(4):1033-1038
52. Luo H., Zhou Z., Yang L., Yu Y., Tian C., Zhou B., Zheng X-L., Tian C., Li Y., Wang R. Clinicopathologic and prognostic significance of MMP 7 expression in human rectal cancer, *Jpn J Clin Oncol*, 2005;35(12):739-744
53. Tuna B, Yorukoğlu K, Gürel D, Mungan U, Kirkali Z, Significance of COX 2 expression in human renal cell carcinoma, *Urology*. 2004;64(6):1116-20
54. Richardson C.M, Sharma R., Cox G., O'Byrne K. Epidermal growth factor receptors and COX 2 in the pathogenesis of non-small cell lung cancer: potential targets for chemoprevention and systemic therapy. *Lung Cancer*, 2003;391-13
55. Lynch C., Crawford H., Matrisian L., McDonnel S. Epidermal growth factor upregulates matrix metalloproteinase 7 expression through activation of PEA3 transcription factors, *Inter J Oncol*, 2004;24:1565-1572
56. Soumaoro LT, Uetake H, Takagi Y, Iida S, Higuchi T, Yasuno M, Enomoto M, Sugihara K. Coexpression of VEGF-C and COX-2 in human colorectal cancer and its association with lymph node metastasis, *Dis Colon Rectum*, 2006;49:392-398

57. Jon K.P., Gouw A., Peeters P., Bulthuis M., Menkema L., Porte R., Slooff M., van Goor H., van den Berg A. p53 mutation analysis of colorectal liver metastases: Relation to actual survival, angiogenic status, and p53 overexpression, *Clin Cancer Res*, 2005;11(11): 4067-4072
58. Georgiou L., Minopoulos G., Lirantzopoulos N., Demetriou A., Maltezos E., Sivridis E, Angiogenesis and p53 at the invading tumor edge: Prognostic markers for colorectal cancer beyond Evre, *J Surg Res*, 2006;131(1):118-123
59. Scopa C., Tsamandas A., Zolota V., Kalofonos H., Potantial role of Bcl 2 and Ki67 expression and apopitosis in colorectal carcinoma: a clinicopathologic study. *Dig Dis Sci*. 2003;48(10):1990-7
60. Balcerczak E., Walczak P., Kumor P., Panczyk M., Kordek R., Wierzbicki, Mirowski M. Cyclin D1 protein and CCND1 gene expression in colorectal cancer, *Eur J Surg Oncol*, 2005;31:721-726.
61. Boedefeld W.M. 2nd, Bland K.I., Heslin M.J. Recent insights into angiogenesis, apoptosis, invasion and metastasis in colorectal carcinoma, *Ann Surg Oncol*, 2003;10(8):839-851
62. Murray G., Duncan M.E., Arbuckle E., Melvin M.T., Forthergill J.E. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gastric cancer, *Gut*, 1998;43:791-797
63. Leeman M.F., Curan S., Murray G. New insights into the roles of matrix metalloproteinases in colorectal cancer development and progression, *J Pathol*, 2003;201:528-534
64. Hilska M., Collan Y.U., Path P.R.C., Laina M.J., Kössi J., Hirsimaki P., Laato M., Roberts P. The significance of tumor markers for proliferation and apoptosis in predicting survival in colorectal cancer, *Dis Colon Rectum*, 2005;8:2197-2208

65. Perez R., Wu N., Klipfel A., Beart R. A better cell cycle target for gene therapy of colorectal cancer: Cyclin G, *J Gastrointest Surg*, 2003;7(7):884-889

66. Wong N., Mayer N., Anderson C., McKenzie H., Diebold J., Mayr D., Brock I. Royds J., Gilmour H., Harrison D. Cyclin D1 and p21 in ulcerative colitis-related inflammation and epithelial neoplasia: a study of aberrant expression and underlying mechanisms, *Cancer Res*, 2003;34(6):580-588