



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

KOLOREKTAL ADENOMLARDA REVİZE VİYANA
SINIFLANDIRILMASINA
GÖRE PATOLOGLAR ARASINDAKİ UYUM İLE
KI-67 VE p53 İMMUNHİSTOKİMYASAL BOYAMALARININ
HİSTOPATOLOJİK TANIDAKİ ROLÜ

Dr. Melike NALBANT MORAY

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2014



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KOLOREKTAL ADENOMLARDA REVİZE VİYANA
SINIFLANDIRILMASINA
GÖRE PATOLOGLAR ARASINDAKİ UYUM İLE
KI-67 VE p53 İMMUNHİSTOKİMYASAL BOYAMALARININ
HİSTOPATOLOJİK TANIDAKİ ROLÜ**

Dr. Melike NALBANT MORAY

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Ömer YERCİ

BURSA-2014

İÇİNDEKİLER

Özet.....	.ii
İngilizce Özet.....	iv
Giriş.....	1-3
Kolorektum Anatomisi	4-11
Kolorektum Histolojisi.....	12-13
Kolorektal Tümörlerin Sınıflandırılması.....	13-14
Kolorektal Yerleşimli Adenomatöz Lezyonların Etyolojisi ve Epidemiyolojisi	15-16
Kolorektal Yerleşimli Adenomatöz Lezyonların Sınıflandırılması.....	16-19
Gastrointestinal Polipozis Sendromları.....	19-20
Kolorektal Displazi Kavramı ve Revize Viyana Sınıflandırması	21-24
Kolorektal Kanserin Genetik Temeli	25-28
Kolorektal Kanselerde Rol Oynayan Genler	28-30
Normal Hücre Siklusu.....	31-34
p53 Geni.....	35-36
Ki-67 (MIB-1) Proteini.....	37-38
Gereç ve yöntem.....	39-41
İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi ve Değerlendirilmesi	42-43
İstatistiksel Analiz.....	44
Bulgular.....	45-62
Tartışma ve sonuç.....	63-69
Kaynaklar.....	70-76
Teşekkür.....	77
Özgeçmiş	78

ÖZET

Çalışmamızın amacı; kolorektal bölgeden kaynaklanan mukozal neoplazilerde revize Viyana sınıflandırılmasına göre patoloğlar arası uyum ve Kİ-67 ile p53 immunohistokimyasal boyamalarının histopatolojik tanıdaki rolünü değerlendirmektir.

Kolorektal bölgedeki malignite şüphesi olan veya adenom ön tanısıyla eksize edilen 159 hastaya ait 224 neoplazi içeren kesitler çalışmaya dahil edildi. Bu olguların patoloji raporları retrospektif olarak incelendi ve raporlardan elde edilen yaş, cinsiyet, biyopsi ve materyalinin alındığı lokalizasyon ile histolojik tanı parametreleri belirlendi. Olguların Hematoksilen&Eosin boyalı preparatları birbirinden bağımsız 3 patoloğ tarafından 1 aylık bir süre içerisinde değerlendirildi. Gözlemciler; Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde çalışan gastrointestinal sistemde deneyimli bir patoloğ, Uzman patoloğ ve Araştırma görevlisinden oluşmaktaydı. Tüm olgular immunohistokimyasal olarak p53, Ki-67 belirteçleri ile boyanarak p53 ekspresyonu semikantitatif olarak değerlendirildi, Ki-67 proliferasyon indeksi hesaplandı.

Olgular; 1.gözlemci tarafından Kİ-67 ve P53 immünhistokimyasal sonuçlarıyla birlikte revize Viyana sınıflamasına göre değerlendirildiğinde 1 (%0,4) olgu 'kategori 2- kesin olmayan displazi', 85 (%37,9) olgu 'kategori 3- düşük dereceli mukozal neoplazi', 129 (%57,6) olgu 'kategori 4.1- yüksek dereceli mukozal neoplazi/adenoma', 1 (%0,4) olgu 'kategori 4.2- noninvaziv karsinoma (karsinoma in situ-CIS)', 5 (%2,2) olgu 'kategori 4.3- şüpheli invaziv karsinoma', 3 (%1,3) olgu 'kategori- 4.4 intramukozal karsinoma' tanısı aldı.

Gastrointestinal sistemde deneyimli olan 1.gözlemcinin sadece H&E boyalı kesitleri ve p53 ile Kİ-67 immunhistokimyasal boya bulguları ile birlikte değerlendirmesi arasında ve her 3 gözlemcinin H&E boyalı preparatlarla verdikleri tanıları arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu.

Sonuç olarak kolorektal neplazi ntanılı olguların; gastrointestinal sistemde deneyimli bir patolog tarafından değerlendirilmesinin ve rutin olarak p53 ile KI-67 immunhistokimyasal boyamaları ile birlikte değerlendirmenin daha faydalı olacağı sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Kolorektal neoplazi, p53, KI-67 proliferasyon indeksi, Revize Viyana sınıflaması.

SUMMARY

Revised Vienna Classification in Colorectal Adenomas: Interobserver Agreement Between Pathologist and The Diagnostic Role of Ki-67, p53 Immunoexpression

The aim of our study is to evaluate the accordance among pathologists according to revised Vienna classification on mucosal neoplasm which arose from colorectal region and the role of Ki-67 and p53 immunohistochemical staining on histopathologic diagnosis.

Hematoxylin&Eosin stained 224 sections of 159 cases diagnosed as neoplasia, which have suspicious for malignancy or precancerous lesions in colorectal region are included in the study.

The records of these cases are examined retrospectively and age, gender, regions of gastrointestinal system, which the material and biopsy are taken from, and histologic diagnosis parameters are identified. The H&E stained sections are evaluated by 3 irrelative pathologists during the period of a month. Observers consist of an experienced pathologist who works in the Faculty of Medicine, an expert pathologist and a research assistant. All of the facts are stained via p53; Ki-67 reagents, p53 manifestations are evaluated semiquantitatively, Ki-67 proliferation indicator is calculated.

When the cases were evaluated according to revised Vienna classification with Ki-67 and p53 immunohistochemical results, one case (0,4 %) is diagnosed with "category 2-indefinite for neoplasia", 85 (53,4 %) cases diagnosed with "category 3-low grade mucosal neoplasia"; 129 (81,2 %) cases are diagnosed with "category 4.1 – high grade mucosal neoplasia/adenoma"; one case (0,4 %) is diagnosed with "category 4.3 – non-invasive carcinoma (carcinoma in situ – CIS)"; five cases (3,1 %) are diagnosed with "category 4.3 – suspicion of invasive carcinoma"; three cases (1,9 %) are diagnosed with "category 4.4 – intramucosal carcinoma".

The facts of the first observers experienced in the gastrointestinal tract and p53 and Ki-67 immunohistochemical only HE stained with paint and all three observers of the evaluation of the HE stained preparations, significant differences were found between their diagnosis.

In conclusion; the incidence of colorectal adenoma by an experienced pathologist in the gastrointestinal tract and p53 and Ki-67 immunohistochemical staining as a routine evaluation would be more useful along with concluded.

Key words: Colorectal neoplasm, p53, Ki-67-antigen proliferative indeks, Revised Vienna classification.

GİRİŞ

Kolorektal kanserler (KRK); gelişmiş ülkelerde ciddi morbidite ve mortaliteye yol açan önemli bir sağlık sorunudur. Örneğin Amerika Birleşik Devletleri'nde en sık görülen üçüncü kanser olup kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada yer almaktadır (1).

Kolorektal kanserlerin çoğunluğu, mevcut olan adenomatöz poliplerin zemininde gelişmektedir. Bu adenomatöz polip-karsinom süreci 10–15 yıl olup; bu süreçte kontrollerde prekanseröz adenomatöz poliplerin saptanması ve tedavisi mümkün olmaktadır. Bu amaçla yapılan birçok prospektif olgu-kontrol çalışmaları ve prediktif çalışmalarda, çeşitli tarama stratejilerinin ve testlerinin kolorektal kanser mortalitesini azalttığı kanıtlanmıştır (2-7). Prekanseröz lezyonların bu açıdan bakıldığında erken tanısı ile kolorektal kanserler önlenabilir ve tedavi edilebilir bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Bu sebeple prekanseröz adenomatöz lezyonların tanısı ve erken tedavi uygulanması kolorektal kanser mortalite ve morbiditesini azaltmak açısından büyük önem taşımaktadır.

Sindirim sistemi biyopsilerini değerlendirirken patoloğlar, gerek kolumnar gerekse skuamöz epitelde invaziv karsinom olmayan ama onların öncülerine ait yapısal ve sitolojik özelliklerle sıklıkla karşılaşmaktadır. Yıllar önce, bu şekilde lamina propriada invazyon göstermeyen ama epitelde açıkça ve kesin neoplazi yönünde değişiklikler gösteren lezyonlara 'Displazi' terminolojisi kullanılırdı. Ancak zamanla displazi derecelenmesi, invaziv karsinom kriterleri açısından değişik ülke patoloğları (Amerika, Avrupa, Japonya) arasında uyumsuzluk ve farklı görüşler ortaya çıktı.

2000 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) bu kavram karmaşasını ortadan kaldırmak için displazi terimi yerine 'intraepitelyal neoplazi' (İEN) terimini eş anlamlı olarak ileri sürdü ve değişik ülkelere gelen bir grup gastrointestinal patoloğ ile Viyana sınıflaması geliştirildi. Bu sınıflama daha önce kullanılan sistemlere benzemekle birlikte farkları: 'intraepitelyal neoplazi' ya da 'displazi' terimi yerine 'noninvaziv karsinom' kavramının

gelmesi ve 'invaziv karsinom şüphesi' kategorisinin getirilmesidir. İnvaziv karsinom tanısındaki farklar ise tanı için batılıların submukozada infiltrasyon ararken, Japonların yapısal/sitolojik özelliklere dayanmasına bağlıdır.

Revize Viyana sınıflamasında gastrointestinal İEN'nin değerlendirilmesinde beş tanı kategorisi yer almıştır (Tablo-1). Farklı biyolojik davranışlar göstermesi beklenen lezyonların beş farklı kategoride toplanması özellikle biyopsi sonrası klinik takip konusunda yardımcı olmaktadır. Sınıflamanın oluşumu sırasında neoplastik ya da non-neoplastik olduğuna karar verilemeyen lezyonlar için 'belirsiz neoplazi', lamina propria invazyonu kesin olarak belirlenemeyen lezyonlarda ise, WHO 2000 sınıflamasında yer almayan, ancak Japon ve batılı patologların rutin pratiklerinde kullandıkları tanımlar arasında yer alan 'invaziv karsinom şüphesi' terimlerinin kullanılması kararlaştırılmıştır. Bu sınıflamada 'yüksek dereceli displazi/adenom', 'karsinoma in situ' ve 'invaziv karsinom şüphesi' tanımları 'non-invaziv yüksek dereceli neoplazi' başlığı altında tek bir kategoride (kategori-4) toplanmıştır. Belirtilen üç lezyonun her seferinde birbirinden ayırımındaki güçlük ve önerilen tedavinin bu her üç lezyon için aynı olması tek bir kategoride değerlendirilmelerini haklı kılmaktadır (8).

Son yıllarda yapılan birçok çalışmada neoplazilerin çoğuna, hücre siklus mekanizmasındaki bir veya birkaç seviyedeki kopukluğun neden olduğu görüşüne varılmıştır (9). Bu görüşten yola çıkarak tüm gastrointestinal kanalda olduğu gibi kolorektumdan kaynaklanan lezyonlarda da hücre siklus proteinlerinin rolü araştırılmıştır.

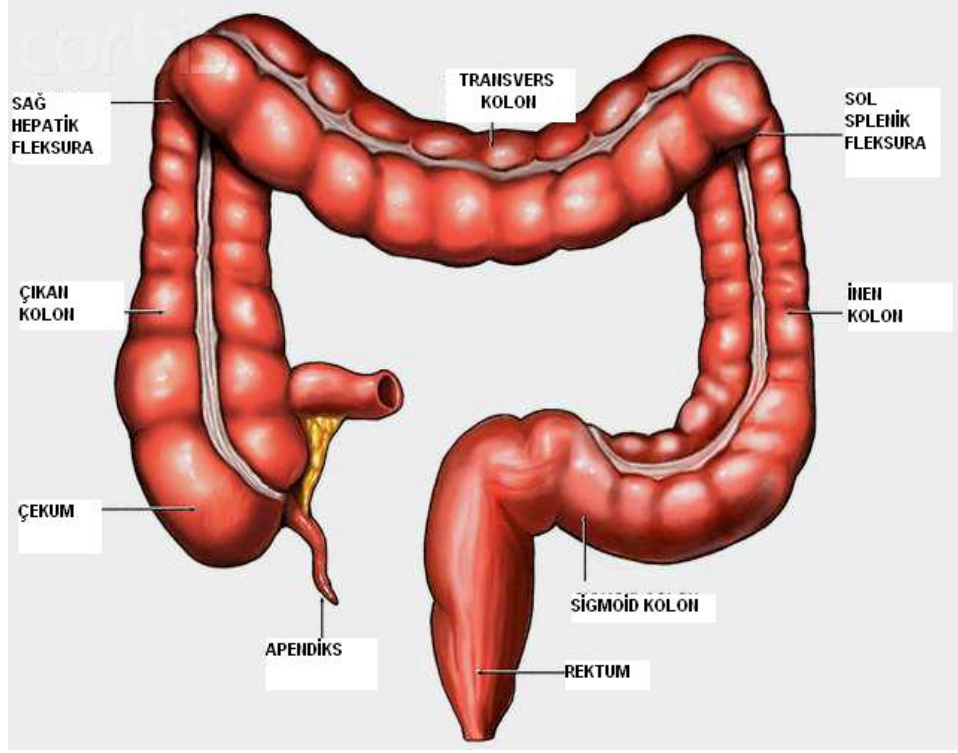
Tablo-1: Revize Viyana Sınıflandırması (RVS).

KATEGORİ	TANI
1	Negatif displazi
2	Kesin olmayan displazi
3	Düşük dereceli mukozal neoplazi Düşük dereceli adenoma Düşük dereceli displazi
4	Yüksek dereceli mukozal neoplazi 4.1 yüksek dereceli adenoma/displazi 4.2 non invaziv karsinoma(karsinoma in situ-CIS) 4.3 şüpheli invaziv karsinoma 4.4 intramukozal karsinoma
5	Submukozal karsinoma

I. Kolorektal Anatomi

I.A. Kolon Anatomisi

Kalın barsak veya kolon, proksimalde ileoçekal valfden başlayıp distalde rektosigmoid bileskeye kadar uzanır. Yaklaşık olarak 150 cm uzunluğundadır (10). Kolon abdominal kavitenin periferinde yerleşir ve sağda çekum ile çıkan kolon, transvers kolon, solda inen kolon ile sigmoid kolondan oluşur (Şekil-1). Sağ kolon soldan daha geniş çaplıdır ve çekum en geniş kalibrasyona sahiptir (10).



Şekil-1: Kolon segmentleri (10).

I.A.a. Kolon Segmentleri

Çekum ve İleoçekal Bileşke

Çekum; sağ iliak fossada yerleşimli, luminal çapı 6–9cm arasında değişen, kör sakküler bir poş olup kolonun en ince duvarı olan kısmıdır. Genel olarak çekum; ileoçekal plika ile fiske sekilde retroperitoneal yerleşimlidir. İleum, çekum medial duvarına ileoçekal valf ile açılır. Intraluminal olarak orifis superior ve inferior mukozal dudaklardan oluşur (10).

Çıkan Kolon

Yaklaşık 12,5–20cm uzunluğundadır. Çıkan kolon; diğer kolonik segmentler gibi; çekumdan daha küçük çapa (4–7cm) sahiptir. Anterior, medial ve lateral yüzleri periton ile örtülü olup retroperitoneal olarak sağ alt kadrandan karaciğer sağ lobu (hepatik fleksura) komsuluğuna ve sağ böbrek ventraline uzanır. Sağ kolonik fleksura sağ renokolik, hepatokolik ve sağ frenikokolik ligamanlar ile fiksedir (10).

Transvers Kolon

Yaklaşık 40–50 cm uzunluğundadır. Transvers kolon intraperitoneal yerleşimlidir. Transvers mezokolon ve gastrokolik ligaman ile asılı durur. Karaciğer, safra kesesi, duodenum ve pankreas, mide, omentum majus ve ince barsak ansları ile iliskidedir. Sol kolonik fleksura sağdakinden daha yukardadır ve dalak (splenik fleksura) ve sol böbrek ile komsudur. Sol kolonik fleksura splenokolik, sol renokolik ve sol frenikokolik ligamanlar ile fiske olmuştur (10).

İnen Kolon

İnen kolon; sol kolonik fleksuradan itibaren dorsal abdominal duvar boyunca solda aşağıya doğru uzanır. Çapı 3–4 cm arasında değişir. Çıkan kolona benzer şekilde retroperitoneal olarak fikse olmuştur ve renal fasyanın ventral kılıfına (Gerota fasyası) tutunmuştur ve bu nedenle transvers kolondan daha az mobildir (10).

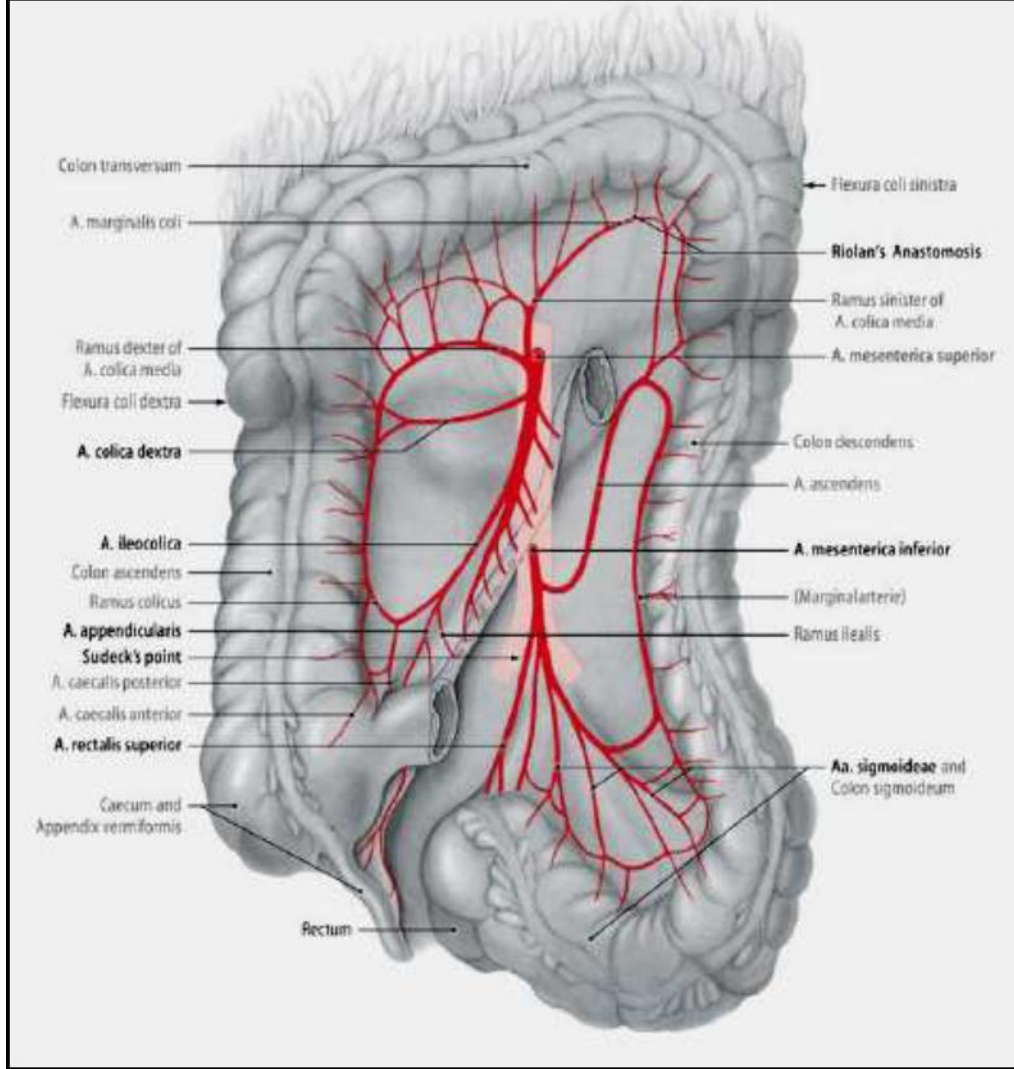
Sigmoid Kolon

Intraperitoneal yerleşimli olan sigmoid kolon; inen kolonun devamında sol iliak fossadan pelvik kavitede rektum superioruna kadar uzanır. Yaklaşık 12 cm ile 60 cm arasında değişen uzunluğa sahiptir. Fleksible mezosuna bağlı olarak sigmoid kolon çok mobildir ve kolayca pozisyonunu değiştirebilir. Mezosigmoid kökü psoas major kasının medial kenarından baslar; sol üreter, sol genital kan damarları ve aortik bifurkasyonu geçer ve kaudalde 3. sakral vertebra seviyesine ulaşır(10).

I.A.b. Kolon Arterleri

Kolon superior ve inferior mezenterik arter dalları tarafından beslenir

(Şekil- 2).



Şekil-2: Kolonun normal arterleri (10).

Superior Mezenterik Arter

Çekum, apendiks, asendan kolon ve transvers kolonun 2/3 ünü besler. Aşağıdan yukarıya doğru ileokolik arteri, sağ kolik arteri ve orta kolik arteri verir. İleokolik arter ileal arterleri çıkımından sonra superior mezenterik arterin devamıdır. Çıkan kolon için superior dalı ve çekum (kolik dal) ile apendiks (apendikular arter) için inferior dalı verir. Sağ kolik arter direkt superior mezenterik arterden, ileokolik arterden veya orta kolik arterden kaynaklanabilir. Çıkan kolon ve sağ kolonik fleksurayı besler. %70 hastada

tanımlanabilir sağ kolik arter mevcut değildir, bu nedenle sağ kolon ileokolik arterin kolik dalından ve orta kolik arterin sağ dalından beslenir. Orta kolik arter superior mezenterik arterin infrapancreatik segmentinden kaynaklanır ve transvers mezokolon içerisinde sağdan orta hatta doğru seyrederek. Transvers kolona ulaşmadan önce arteriyel trunkus %50 olguda sağ ve sol dala ayrılır (10).

İnferior Mezenterik Arter

Transvers kolonun sol 1/3 ünü, inen ve sigmoid kolonu ve rektumun büyük kısmını besler. Sol kolik arter inferior mezenterik arterin sol tarafından çıkar, sol böbreği geçer ve sol kolik fleksura, giden asendan dal ile inen ve sigmoid kolona giden desendan dala ayrılır. Sigmoid arterler inferior mezenterik arterden kaynaklanır, sol üreter ve gonadal damarları mesosigma içerisinde geçer ve sigmoid kolona ulaşır. Dallar sol kolik arter ve superior rektal arterlerle anastomoz yapar (kolonun marjinal arteri). Son tarif edilen anastomoz "Sudeck's point" olarak tanımlanır (10).

I.A.c. Kolon Venleri

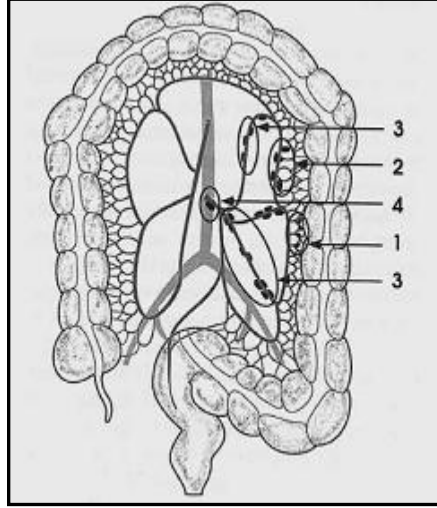
Kolon venleri kolon arterlerini izlerler ve aynı adı alırlar. Sağ kolonun venleri superior mezenterik veni oluştururlar. Pankreas boynu arkasında splenik ven ile birleşerek portal veni yaparlar. Sol kolonun venleri inferior mezenterik veni oluştururlar ve aynı adlı arterlerin yanında kraniale seyredip splenik vene dökülürler (10).

I.A.d. Kolon Lenfatikleri

Kolonik lenf nodları dört gruba ayrılabilir (Şekil- 3):

1. Epiplöik lenf nodları; serozal yüzde epiplöik apendices içerisinde
2. Parakolik lenf nodları; kolonik duvara komşu
3. İntermedier lenf nodları; kolik kan damarları boyunca

4. Preterminal lenf nodları; superior ve inferior mezenterik arterlerin ana trunkusları boyunca Preterminal lenf nodları bu visseral arterlerin orijini lokalizasyonundaki paraaortik lenf nodlarına drene olurlar ve kolonun en yüksek lenf nodu istasyonu olarak bilinir (10).



Şekil-3: Kolonik lenf nodları; 1. Epikolik, 2. Parakolik, 3. Intermedier, 4. Santral (10).

I.A.e. Kolon Sinirleri

Kolon otonom sinir sisteminden sempatik ve parasempatik dallar alır. Sempatik innervasyon kolonik duvarın relaksasyonuna ve ileoçekal valf ile damarsal kas tabakalarının kasılmasına neden olur. Aferent sinir lifleri visseral ağrı duyusundan primer olarak sorumludur.

Parasempatik inervasyon kolonik duvar kaslarının kontraksiyonuna, internal anal sfinkter relaksasyonuna ve sekretomotor fonksiyonlara neden olur. Distansiyon ve ağrı hissi aferent parasempatik sinir lifleri ile taşınır (10).

Sempatik Sinirler

Çekum, çıkan kolon ve transvers kolonun 2/3'ü 5–12. torasik segmentlerden kaynaklanan sempatik sinirlerle inerve olurlar. Preganglionik sinir lifleri major ve minör splanik sinirler yoluyla çölyak ve superior mezenterik pleksusa ulaşırlar ve buradaki ganglionlarda sonlanırlar. Postganglionik sinir lifleri superior mezenterik arter boyunca periarteriyel pleksus yoluyla kolonik duvara ulaşırlar.

Transvers kolonun sol 1/3'ü, inen ve sigmoid kolon lomber ve üst sakral spinal segmentlerden kaynaklanan sempatik sinirlerle inerve olurlar.

Preganglionik sinir lifleri lomber splanknik sinirler yoluyla inferior mezenterik pleksusa ve sakral splanknik sinirler yoluyla superior ve inferior hipogastrik pleksusa ulaşırlar. Postganglionik sinir lifleri inferior mezenterik arter boyunca periarteryel pleksus yoluyla kolonik duvara girerler (10).

Parasempatik Sinirler

Çekum, çıkan kolon ve transvers kolonun 2/3'ü vagus sinirinden kaynaklanan parasempatik sinir lifleri ile inerve olurlar. Vagal sinir lifleri çölyak ve superior mezenterik sinir lifleri yoluyla kolonik duvara ulaşırlar ve burada intramural ganglion hücrelerinde sonlanırlar.

Transvers kolonun sol 1/3'ü, inen ve sigmoid kolon 2–4. sakral segmentten kaynaklanan parasempatik sinirler yoluyla inerve olurlar. Parasempatik sinir lifleri pelvik splanknik sinirler yoluyla inferior ve superior hipogastrik pleksusu geçerler ve inferior mezenterik arter dallarının takip ederek kolonik duvara ulaşırlar (10).

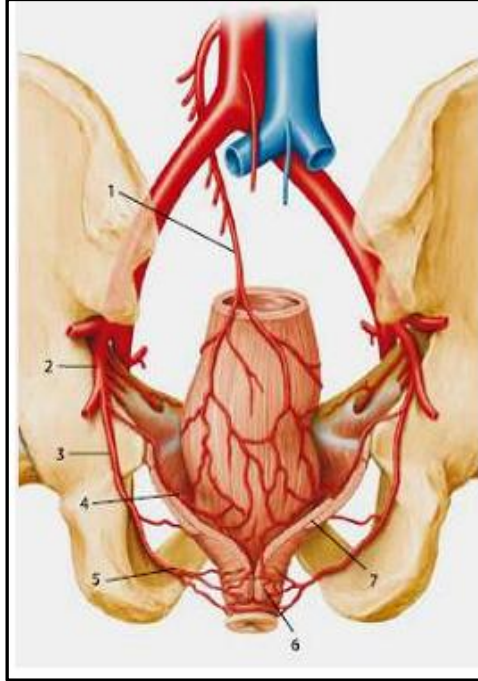
I.B. Rektum Anatomisi

Rektum kalın barsağın en son segmentini oluşturur ve kontinans ile defekasyondan sorumludur. Rektum yaklaşık 15–19 cm uzunluğunda olup 3. sakral vertebra hizasından perineye kadar uzanır. Sakrokoksigeal kavite boyunca aşağıya doğru inen ve anorektal bileşimde pelvik duvarı geçen intrapelvik organlar içerisinde en dorsalde yerleşimli olanıdır. Rektum iki segmente ayrılır: rektal ampulla, anal kanal. Sabit semilunar transvers foldları vardır; orta fold (Kohlrausch), superior ve inferior fold (Houston) olarak adlandırılır. Rektumun inferior ve dorsal kısmı ekstraperitoneal yerleşimlidir ve mezenterisi yoktur. Rektal ampulla; rektumun en geniş kısmıdır. Ön duvarı visseral periton ile kaplı olup periton buradan erkekte mesane ve seminal veziküllere (rektovezikal pos); kadında uterus ve posterior vajen duvarının superioruna (rektouterin pos, Douglas posu) uzanır. Anal kanal ve anüs; anal kanal yaklaşık 2,5–4cm uzunluğundadır (10).

I.B.a.Rektumun Arterleri

Esas olarak inferior mezenterik arterin terminal dalları ve superior rektal arter tarafından beslenir. Mezorektum içerisinde geçen arter 2–3 dala ayrılır ve rektum duvarının posterolateralini çevreler. Internal iliak arterden

kaynaklanan medial rektal arterler %10 olguda mevcuttur. Anal kanal inferioru ve internal anal sfinkter inferior rektal arterden kaynaklanan ana arterlerle beslenir (Şekil-4) (10).



Şekil-4: Rektum ve anal kanal arterleri; **1.** Superior rektal arter, **2.** İnternal iliak arter, **3.** Pudendal arter, **4.** Medial rektal arter, **5.** İnferyor rektal arter, **6.** Eksternal anal sfinkter, **7.** Levator ani kası (10).

I.B.b Rektumun Venleri

Rektumun venöz drenajı portal ve sistemik dolasına olur. Superior rektal (hemoroidal) ven, rektumun üst kesimini drene ederek inferior mezenterik vene ve oradan da portal vene dökülür. Orta rektal ven ise rektum alt kesimini drene eder. Inferior rektal ven anal kanalı drene eder. Orta ve inferior mezenterik ven de pudendal ve hipogastrik venler aracılığıyla internal iliak vene drene olur. Böylece potansiyel bir porta-kaval şant oluşur (10).

I.B.c Rektumunun Lenfatikleri

Rektum ve anal kanal zengin bir lenfatik ağa sahiptir. Dentate çizgi üzerinde lenf; inferior mezenterik ve internal iliak nodlara drene olur. Dentate çizginin altında ise superfisial inguinal lenf nodlarına dökülür.

Rektumun üst 2/3'ünün lenfatikleri genellikle inferior mezenterik ve paraaortik nodlara dökülür. Alt 1/3'ünün lenfleri ise baslıca iki yoldan buradan ayrılır. İlki hemoroidal ve inferior mezenterik arterler boyunca; ikincisi ise orta hemoroidal damarları takip ederek lateraldeki internal iliak nodlara doğrudur (10).

I.B.d Rektumun Sinirleri

Rektum ve anal kanal superioru otonomik sinirlerle inerve olurken anal kanal inferioru ve anüs pudental sinirler yoluyla somatik olarak innerve olur.

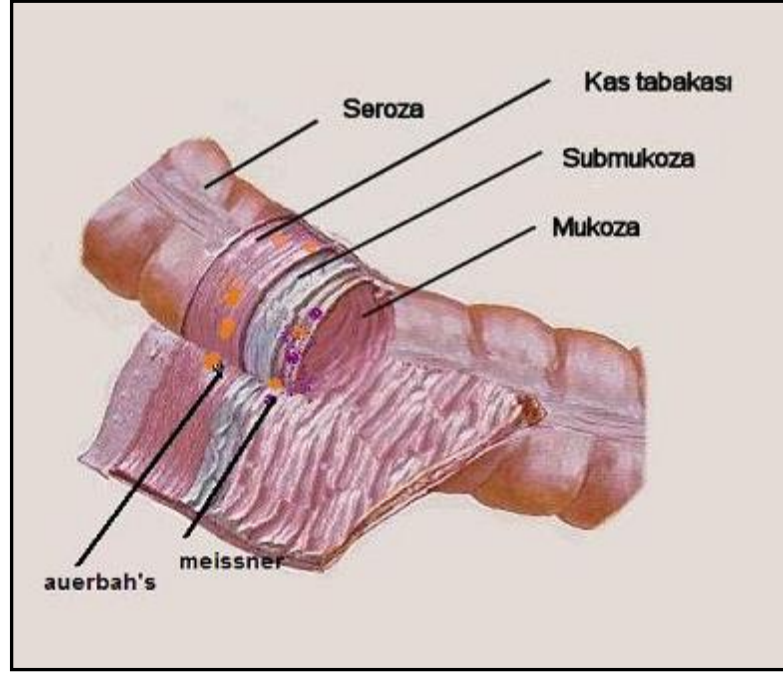
Otonomik sinirler; lomber sempatik sinirler periarteryel sinir ağı, inferior mezenterik ve superior hipogastrik pleksusu oluşturmak üzere inferior mezenterik ve superior rektal arter boyunca seyreder. Superior hipogastrik pleksustan sağ ve sol hipogastrik sinirler kaynaklanır ve paryetal pelvik fasyaya (Waldeyer fasyası) tutunmuş olarak her iki taraftan pelvik kaviteye girerler. Lateral rektum duvarlarına ulaşırlar ve intrapelvik sinir ağını, inferior hipogastrik pleksusu oluştururlar. Sakral parasempatik sinirler inferior hipogastrik pleksusa pelvik splenik sinirler (nervi erigentes) yoluyla katılırlar ve sıklıkla rektum duvarına girip intramural yerleşimli olan enterik sinir sistemi ile bağlantı kurarlar.

Somatik sinirler; anal kanal inferioru pudental sinirlerin perianal dallarıyla beslenir.

Otonom inerve olan rektuma karşı anodermal segment yoğun olarak bulunan somatosensör sinir uçlarına bağlı olarak dokunma, basınç, ağrı ve ısıya oldukça duyarlıdır (10).

II. Kolonun Histolojisi

Gastrointestinal kanalın tamamı bazı genel yapısal özellikler gösterir. Ortasında değişen çapta lümen vardır. Bu lümen 4 tabakadan oluşan bir duvarla çevrilidir. İçten dışa sırayla; mukoza, submukoza, muskularis, serozadır (Şekil-5) (11).



Şekil-5: Kolonun Duvarının Histolojik Katları (11).

Mukoza: Epitelyum, lamina propria ve muskularis mukozadan oluşmuştur. Lamina propria kan ve lenf damarlarından zengin bir bağ dokusudur. Muskularis mukoza ise mukozayı submukozadan ayıran içte sirküler dışta longitudinal kasta oluşur. Mukozaya müköz membran da denir. Submukoza çok sayıda kan ve lenf damarları ve submukozal bir sinir pleksusu (Meissner) içeren gevşek bağ dokusudur. Muskularis tabakası lümene yakın kısmı sirküler, dış kısmı longitudinal olan iki kas tabakasından oluşur. Bu iki kas tabakası arasında myenterik (Auerbach's) sinir pleksusu ile kan ve lenf damarlarını içeren gevşek bağ dokusu vardır. Seroza ise ince ve gevşek bir bağ dokusuyla örtülüdür. Kan, lenf ve yağ dokusundan zengindir. Mezotelyum tek katlı yassı epitelyumle örtülüdür (11).

Kolonun mukozası distal kısmı (rektum) hariç katman içermez. Barsağın bu bölümünde villus yoktur. İntestinal bezler uzundur ve çok sayıda goblet ve emici hücre ile az sayıda enteroendokrin hücre ile karakterizedir. Emici hücreler silindirik ve kısa düzensiz mikrovilluslara sahiptir. Bu organın asıl fonksiyonlarına çok uygunluk gösterir ve suyun emilimi, dışkı kıvamının sağlanması ve mukus salgılamayı sağlar. Mukus

sulu jel kıvamındadır ve sadece intestinal yüzeyi kayganlaştırmakla kalmaz, bakteri ve partiküllü maddelerin üzerini örter. Lamina propria lenfatik hücreler ve nodüllerden zengindir. Nodüller genellikle submukoza içinde yer alır. Lenfoid dokunun fazla olmasının nedeni, kalın barsaktaki oldukça yüksek bakteri popülasyonudur. Muskularis tabakası longitudinal ve sirküler kas tabakalarından oluşmuştur. İnce barsaktan farklı olarak longitudinal kas lifleri taenia coli denen 3 kalın longitudinal bant halinde toplanmış olmasıdır. Kolonun intraperitoneal kısmında appendiks epiploika denen yağ dokusunun oluşturduğu küçük kabarıklıklar mevcuttur (11).

Anal bölgede bir dizi longitudinal katlanmalar oluşmuştur, bunlara rektal morgagni sütunları adı verilir. Anal açıklığın 2. cm'sinde lamina propria büyük bir kan damarı pleksusu içerir, bu kısmın normalin üstünde genişlemesi ile hemoroidler oluşur (11).

Kolon mukozası bezlerin 1/3 alt kısmındaki hücrelerin farklılaşması ve proliferasyonu yaklaşık her 6 günde bir gerçekleşir (11).

III. Kolorektal Tümörlerin Sınıflandırılması

Dünya Sağlık Örgütü (WHO 2010) sınıflamasına göre kolorektal kanserler histolojik açıdan şu başlıklar altında incelenmektedir (12),

Epitelyal Tümörler:

Premalign Lezyonlar

-Adenom

- Tübüler
- Villöz
- Tübülovillöz

İntraepitelyal neoplazi (displazi), düşük dereceli

İntraepitelyal neoplazi (displazi), yüksek dereceli

-Serrated lezyonlar

- Hiperplastik polip
- Sesil serrated adenom/ polip
- Geleneksel serrated adenom

-Hamartomlar

Cowden hastalığı ile ilişkili

Juvenil polip

Peutz-Jeghers polibi

Karsinomlar

Adenokarsinom

• Kribriform komedo tip adenokarsinom

• Medüller karsinom

• Mikropapiller karsinom

• Müsinöz adenokarsinom

• Serrated adenokarsinom

• Taşlı yüzük hücreli karsinom

Adenoskuamöz karsinom

İğsi hücreli karsinom

Skvamöz hücreli karsinom

İndiferansiye karsinom

Nöroendokrin Neoplaziler

Nöroendokrin tümör (NET)

• NET G1(karsinoid)

• NET G2

Nöroendokrin karsinoma (NEC)

• Büyük hücreli NEC

• Küçük hücreli NEC

Mikst adenonöroendokrin karsinom

ECC, serotonin üreten tümör

L-hücre, glukagon benzeri peptid ve PP/YY üreten tümör

Mezenkimal Tümörler

Leiyomyom

Lipom

Anjiosarkom

Gastrointestinal Stromal Tümör

Kaposi Sarkomu

Leiyomyosarkom

Lenfomalar

Sekonder Tümörler

IV. Kolorektum Adenomatöz Lezyonlarının Etyolojisi ve Epidemiyolojisi

Lümenli organlarda lümen içine doğru çıkıntı yaparak kitle oluşturan dokuya polip ismi verilir. Gastrointestinal polipler daha sık olarak kolonda görülürler. Endoskopik gelişmeler sonucu, poliplerin endoskopik olarak çıkarılabilmeleri ve histolojik tiplerinin tayin edilebilmeleri poliplere olan ilgiyi arttırmıştır. Bu yöntemle hasta takiplerinin yapılabilmesi ve kolon kanseri gelişiminin önlenmesi imkanı doğmuştur (13). Polipler saplı, sesil veya sapsız (flat) olabilirler. Büyüklükleri değişkendir. Özel ayırım histolojik tiplerine dayanır. Mukoza ile aynı veya farklı renkte, semptomatik veya asemptomatik olabilirler. Poliplerin kanserleşme potansiyellerini bu özelliklerinden çok, histolojik yapıları belirler (13). Bu nedenle radyolojik veya endoskopik olarak saptanan bir polip çapına bakılmaksızın çıkarılmalı histolojik tipi ve klinik davranışı aydınlatılmalıdır.

Kolonik mukozanın yüzey epiteli sağlıklı insanda 4-8 günde yenilenir. Normalde Lieberkuhn kriptlerinin 1/3 alt kısmında hücre çoğalımı olur, bölünen hücreler en uç kısma 9 günde çıkarlar. Yüzeğe çıktıkça olgun goblet hücresi veya absorbtif hücre halini alırlar. Kolon mukozasında polip gelişiminde 2 faz halinde izahı vardır. Mukoza yüzeyine gittikçe hücrelerde bölünme devam etmekte, bunun yanı sıra hücreler dökülmeyi önleyen özellikler geliştirdiği bilinmektedir.

Epidemiyoloji ve Etyoloji

Adenomaların prevalansı, popülasyona özgü ve yaş ile ilgilidir. Kolon kanserinin sık olduğu toplumlarda daha fazladır. Japonya'da adenom riski düşük iken, kolon kanserinin yüksek olduğu Hawai'ye göç eden Japonlarda, bu oran daha yüksektir. Yine Japonya'da kolon kanserinin yüksek olduğu

yörelerde, adenom insidansı da yüksektir. Yaş artıkça, adenom sıklığı, sayı, displazi ve büyüklük de artmaktadır (14).

Risk Faktörleri

1) Genetik yatkınlık: Herediter polipozis ve herediter nonpolipozis sendromları, buna örnektir. Kolorektal adenoma bulunanların 1. derece akrabalarında, normale göre 2-3 kat daha fazla adenoma bulunmaktadır. İkizlerde ve adenomatoz polipozisli hastaların ailelerinde de risk fazladır (15).

2) Diyet ve yaşam stili: Lifli diyet, bitkisel yiyecekler ve karbonhidrat, adenom gelişimine karşı koruyucudur. Düşük folat alınımı, diyetle yağ ve aşırı alkol alınımı, adenom riskini artırır. Diyetin içerdiği yağ, safra asitlerinin sentezini ve kolona verilmesini artırmaktadır. Bu safra asitlerinden bazılarının, kanser promote edici özellikleri vardır (15).

V. Kolorektal Poliplerin Sınıflandırılması

Polipler her durumda normal dışı proliferatif aktivite içeren lezyonlardır. Ancak polipler gerek yapıları gerekse seyirleri açısından önemli farklılıklar gösteren gruplara ayrılırlar. Temel ayırım, bir polipten yüksek oranda karsinom gelişip gelişmeme riskine göre yapılmaktadır. Buna göre kanser gelişme riski olmayan ya da çok düşük olan poliplere neoplastik olmayan polipler, riskin yüksek olduğu poliplere ise neoplastik polipler adı verilmektedir (16).

V.A. Neoplastik Olmayan Polipler

- İnflamatuvar
- Hamartomatöz
- Submukozal (lenfoid polip, lipom)
- Hiperplastik

İnflamatuvar polipler, mikroskopik olarak değişik çap ve şekillerde gland yapıları içerirler ancak epitelde atipi gözlenmez. Özel bir formu juvenil poliptir. Juvenil polipler aynı zamanda hamartomatöz olarak da

sınıflanmaktadır. En sık olarak 2-4 yaşta görülürler. Saplı ve büyük boyutlu olabilirler. Rektosigmoid bölgede yerleşirler. Kanamaya yol açabilirler ve otoampute olarak atılabilirler. Kanseri taşımazlar (17).

Hamartomatöz polipler, ön planda muskularis mukoza katmanındaki hiperplazi ile karakteristiktirler ve mukoza düzeyinde epitelyal bir atipi göstermezler. Bu nedenle de karsinom gelişim pratik olarak yok denebilir (17).

Submukozal polipler, genellikle çocukluk çağında görülen ve gerçek polip olmayan submukozal lenfoid yapılar ya da erişkinlerde görülen submukozal lipomlardır. Gerçek anlamda polip değildirler (17).

Hiperplastik polipler (HP), günümüzde en çok tartışılan poliplerdendir. Sıklıkları yaşla birlikte artar. Sıklıkla 5 mm ya da daha küçük boyuttadırlar. Saplı ya da sapsız olabilirler. Müsin içerikleri normal mukozaya göre artmıştır. Hücrelerde atipi görülmeşi önemli bir noktadır ve bu nedenle de neoplastik olmadıkları kabul edilmektedir. Tartışma konusu olan nokta da budur. Günümüzde hiperplastik poliplerin bazı koşullar varlığında kanser riski taşıdığı ya da kanser riskinin yükseldiğine işaret ettiği bildirilmektedir. Yapılan genetik çalışmalar, özellikle sağ kolonda yerleşen ve 10 mm'den büyük çaplara ulaşan hiperplastik poliplerde spesifik genetik değişiklikler (örneğin mikrosatellit instabilite - MSI) görülebileceğini ve bu tür hiperplastik poliplerden kanser gelişme riskinin artmış olacağını ortaya koymaktadır. Bunlara ek olarak, tanımı henüz yaygın olarak kabul görmemiş olsa da hiperplastik polipozis olguları bildirilmektedir. HP tanımlamaları çeşitli araştırmacılar tarafından farklı şekillerde yapılmaktadır. Ancak tüm bu tanımlamaların ortak noktası hiperplastik poliplerin 10 mm'den büyük olmaları ve sağ kolonda yerleşmelerinin riski artırdığıdır. Bazı tanımlarda, sadece iki adet 10 mm'den büyük hiperplastik polipin bulunması bile polipozis olarak adlandırılmaktadır. Günümüzdeki bilgiler ışığında, bir kişide saptanan hiperplastik polipler 10 mm'den büyük iseler ya da sağ kolonda yerleşik iseler ve kişisel ya da ailesel kolorektal kanser öyküsü mevcutsa bu kişiler hem genetik araştırmalara hem de kolonoskopik izleme programlarına adaydırlar.

Kısaca eskiden olduğu gibi, “hiperplastik polip varsa takibe gerek yok” mantığı günümüzde geçerliliğini yitirmiştir(17).

V.B. Neoplastik Polipler

Polip epitel hücrelerinde atipi bulgularının görülmesi polipin neoplastik olarak sınıflandırılmasına yol açar. Bu polipler günümüzde adenom olarak adlandırılmaktadırlar. Adenomlarda kural olarak belirli düzeyde displazi mevcuttur. Displazisiz bir adenom tanım olarak mümkün değildir. Kolorektal adenomlarda iki temel histolojik tip söz konusudur ve hemen tüm adenomlar bu iki tipi farklı oranlarda barındırmaktadırlar. Mikroskopik olarak ön planda displastik tübüller içeren forma tübüller adenom (TA) adı verilir. TA'lar değişik boyutlarda olabilirler ve genellikle sapsızdır. Boyutlarına göre değişmekle birlikte kanser gelişim riski % 5 dolaylarındadır. Bir adenoma TA denilebilmesi için villöz komponentin %25'ten az olması gerekir. Mikroskopta ince bağırsak villuslarını andırır şekilde parmaklı ve displastik uzantılar gösteren tip ise villöz adenom (VA) olarak adlandırılır. Bir adenomda %75 ya da daha yüksek oranda villöz komponent varsa VA olarak sınıflandırılır. Genellikle sapsız ve geniş tabanlıdır ve çok büyük boyutlara ulaşabilirler. Kanser gelişme riski % 30-40 dolaylarındadır. Bunlara ek olarak her iki özelliği de barındıran tübülovillöz adenomlarda(TVA) söz konusudur. Bu adenomlarda villöz komponent oranı % 25 ile % 75 arasındadır ve villöz komponentin ağırlığı arttıkça kanser riski de artmaktadır. Bu temel tiplere ek olarak, lezyonun klasik bir polip formunda lümen çıkıntı yapmadığı ancak epitelde ciddi displazi içeren flat adenomlar da mevcuttur. Bir adenomun flat adenom olarak sınıflandırılabilmesi için yüksekliğinin çevre mukoza yüksekliğinin en fazla iki katı olması gerekir. Bu lezyonların çapları % 50'si 5 mm'nin, % 90'ı ise 10 mm'nin altındadır. Flat adenom'da diğerlerinden farklı bir genetik sürecin söz konusu olduğu ve bu adenomların kansere ilerlemelerinin diğer adenomlardan çok daha hızlı olduğu bilinmektedir. 1990'da tanımlanan ve giderek önem kazanan bir başka adenom türü ise serrated (dişli, testere dişli şeklinde) adenomlardır. Serrated adenomlar, mikroskopikolarak hiperplastik polip mimarisine sahip olmakla birlikte hücre düzeyinde atipi içerirler. Spesifik genetik değişiklikler içerdikleri gösterilmiş

olan serrated adenomlar, hiperplastik poliplerin henüz tam olarak ayırdedilememiş bir alt grubundan gelişmekte ve klasik adenom-karsinom sekansından çok daha hızlı bir şekilde kanser gelişimine yol açmaktadırlar. Zaten bubulgular, yukarıda anlatıldığı gibi hiperplastik poliplerin artık tamamen masum lezyonlar olmadığı görüşünü ortaya çıkarmışlardır (17).

VI. Gastrointestinal Polipozis Sendromları

VI.A. Hamartomatöz Polipozis Sendromları

VI.A.a. Peutz-Jeghers Sendromu Polipleri: 1921 yılında Peutz tarafından tarif edilmiştir. Mukokutanöz melanotik pigmentasyon ve gastrointestinal sistemde poliplerle karakterize bir sendromdur. Ağız çevresindeki mukozada, kolda, avuç içinde ve perianal bölgede pigmentasyonlar görülebilir. Polipler gastrointestinal sistemde en sık jejunum ve ileumdur. %50'sinde ek olarak kolonda ve rektumda da olabilir. Hastaların %25'de gastrik polipler de olabilir. Bunun önemi eğer hastalarda multipl kolonik, rektal ve gastrik polipler varsa, polipler adenomatöz polipten ziyade hamartom olabilir. Poliplerin malignite potansiyeli %2–3 kadardır (18).

VI.A.b. Cowden Hastalığı: Multipl polipler dışında yüzde trikilemmoma, hiperkeratotik verrüler, el ayası ve ayak tabanında keratoderma, vitiligo, ağız mukozasında papillomlar, meme ve tiroit kanseri gibi ek bulgularla birlikte dir. Polipler olguların %35'inde bulunur. Polipler gastrointestinal sistemin herhangi bir yerinde olabilir (18).

VI.A.c. Juvenil Polip: Malign potansiyeli yoktur. Ortalama görülme yaşı 4 yaş civarındır. Erkek/kadın oranı 3/2 dir. Genellikle rektumda görülür. Polip oluşumuna muskularis mukoza katılmaz. Defekasyon sonrası kırmızı rektal kanama ile kendini gösterir. Kendiliğinden kopabilir (otoamputasyon). Genellikle tektir ancak %30 hastada multipl olabilir. 10'dan fazla polip olması durumunda polipozis olarak kabul edilirler. Tedavi yaklaşımında; polipler çıkartılmalı ve hasta ile ailesinin takibi esastır (18).

VI.A.d. Cronkhite-Canada Sendromu: Mide barsak polipleri, alopesi, deride hiperpigmentasyon alanları, tırnaklarda atrofi vardır. Kalıtsal

değildir ve kadın-erkek oranı eşittir. Tüm gastrointestinal sistemde olabilirler. Anemi ve hipoproteinemi olabilir. Sulu diyare, karın ağrısı ve sıvı-elektrolit kaybı vardır. Otozomal dominant (OD) geçislidir. Hamartomlar premalign değildir ancak gastrointestinal sistem dışı malign olgular bildirilmektedir (18).

VI.B Adenomatöz Polipozis Sendromları

VI.B.a. Familial Polipozis (Familial Adenomatosis Polipozis):

Tüm kolorektal kanserlerin %1'ini oluşturur. OD geçisli olup 8300 doğumda bir görülür. Kolon ve rektumda yüzlerce polip vardır. Polipler genellikle tubuler bazen de villöz tiptedir. 10 yaş civarında görülmeye başlarlar. Ortalama tanı yaşı 22'dir. 35 yaşından sonra yeni olgu nadirdir. Tüm aile taranmalıdır. Rektal kanama, diyare, karın ağrısı ve mukuslu gayta en önemli bulgularıdır. Kolon opere edilmezse %100 kanser gelişimi ile sonuçlanır. Malign dönüşüm için ortalama yaş 39'dur. Hastalarda kolon dışı bulgular da görülebilmektedir. Bunlar konjenital retinal pigment epitelyum hipertrofisi, mandibuler osteomlar, fazla sayıda diş, epidermal kistler, adrenal kortikal adenomlar, desmoid tümörler gibi çeşitli benign durumlar ile tiroid tümörleri, duodenal ya da ampuller adenokarsinoma neden olabilen gastrik ve ince barsak polipleri, beyin tümörleri gibi malign durumları içerir (19). Beyin tümörleri-Glioblastoma multiforme ya da medulloblastoma olabilir ve belirli beyin tümörleri ile ilişkili kolonik polipozis Turcot sendromu olarak adlandırılır (20).

VI.B.b. Gardner Sendromu: 14.000 doğumda bir görülür. Gastrointestinal polip yanı sıra osteom, epidermoid kist, desmoid tümör, dis anomalileri, deri lezyonları, glioblastoma, tiroid papiller karsinom, hepatoblastoma, safra yolları kanserleri ve pankreas karsinomu gibi patolojilerle birlikte görülür (16, 21, 22).

VI.B.c. Turcot Sendromu: Nadir olup OD geçis gösterir. Kolonda adenomatöz poliplerle birlikte sinir sisteminde tümörler (medulloblastoma) vardır (16, 21, 22).

VII. Kolorektal Displazi Kavramı ve Revize Viyana Sınıflandırılması

Sindirim sistemi biyopsilerini değerlendirirken, patoloğlar, gerek kolumnar gerekse skuamöz epitelde invaziv karsinom olmayan, ama onların öncülerine ait yapısal ve sitolojik özelliklerle karşılaşmaktadır. Yıllar önce, bu şekilde lamina propriada invazyon göstermeyen ama epitelde açıkça ve kesin neoplazi yönünde değişiklikler gösteren lezyonlara 'Displazi' adı verilirdi.

1982'de Riddell ve ark. (23) gastrointestinal sistemde (GİS) inflamatuvar barsak hastalığı (İBH) olan hastalarda displaziyi tarif ederek, hastalığın kansere ilerleme riski açısından anlamlı bir displazi sınıflaması ileri sürdü. Büyük kabul gören bu sınıflama, sonraları İBH dışı, Barrett özefagusu (BÖ), kronik gastrit ve kolorektal adenomlar ve özefagusda skuamöz lezyonlar gibi noninvaziv neoplastik lezyonlar için de uyarlanıp kullanılmaya başlandı. Ancak zamanla displazi derecelenmesi, invaziv karsinom kriterleri açısından değişik ülke patoloğları (Amerika, Avrupa, Japonya) arasında uyumsuzluk ve farklı görüşler ortaya çıktı.

1990'lı yılların ortalarından günümüze kadar bu sorunu ortadan kaldırmak ve gastrointestinal intraepitelyal neoplazi (İEN) tanımı için tüm dünyada geçerli terminolojileri belirlemek amacıyla gastrointestinal kanala ait biyopsi ve rezeksiyon materyallerinin incelenerek, tanısal yaklaşımların tartışıldığı çok sayıda seminer düzenlenmiştir (24-26). 6-7 Eylül 1998, tarihlerinde Viyana'da düzenlenen Dünya Gastroenteroloji Kongresi'nde 12 değişik ülkeden gastrointestinal patolojide deneyimli 30 patoloğun katıldığı toplantıda gastirik, özofageal ve kolorektal biyopsi ve rezeksiyon materyalleri incelenmiş, Japon ve batılı patoloğlar arasındaki tanısal uyum değerlendirilmiştir. Bu toplantının sonunda üzerinde uzun süredir tartışılan gastrointestinal epitelyal neoplazi terminolojisinde görüş birliği sağlanmıştır (27). Buna göre İEN derecelendirmesinde en önemli prognostik faktör ve metastatik potansiyelin göstergesi olan invazyon temel alınmıştır. Bu toplantıda şekillenen Viyana sınıflaması ile Japon-batılı patoloğlar arasındaki tanısal uyumsuzluk ve özellikle batılı patoloğların yaşadığı biyopsi,

rezeksiyon materyali tanısı arasındaki uyumsuzluğunun en aza indirilmesi hedeflenmiştir. Temelde yeni tanısal yaklaşım içermeyen, önceden kullanılan tanıların yeniden düzenlenmesiyle oluşturulan Viyana sınıflaması tüm gastrointestinal kanalda biyopsi ve rezeksiyon materyalinde kullanılabilme özelliği ile birlikte, değişik tanı kategorilerinde tedaviye yönelik önerileri de içermekte ve özellikle bu yönüyle bugüne kadar olan sınıflamalara üstünlük göstermektedir.

Viyana sınıflamasında; gastrointestinal İEN'nin değerlendirilmesinde beş tanı kategorisi yer almıştır. Farklı biyolojik davranışlar göstermesi beklenen lezyonların beş farklı kategoride toplanması özellikle biyopsi sonrası klinik takip konusunda yardımcı olmaktadır. Sınıflamanın oluşumu sırasında neoplastik ya da non-neoplastik olduğuna karar verilemeyen lezyonlar için 'belirsiz neoplazi', lamina propria invazyonu kesin olarak belirlenemeyen lezyonlarda ise, WHO-2000 sınıflamasında yer almayan, ancak Japon ve batılı patologların rutin pratiklerinde kullandıkları tanımlar arasında yer alan 'invaziv karsinom şüphesi' terimlerinin kullanılması kararlaştırılmıştır. Bu sınıflamada 'yüksek dereceli displazi/adenom', 'karsinoma in situ' ve 'invaziv karsinom şüphesi' tanımları 'non-invaziv yüksek dereceli neoplazi' başlığı altında tek bir kategoride (kategori-4) toplanmıştır. Belirtilen üç lezyonun her seferinde birbirinden ayrımındaki güçlük ve önerilen tedavinin bu her üç lezyon için aynı olması tek bir kategoride değerlendirilmelerini haklı kılmaktadır (27).

Tablo-2: Viyana-Revize Viyana Sınıflaması.

Tanı	Viyana Sınıflaması	Revize Viyana Sınıflaması	Tedavi Yaklaşımları
Neoplazi/displazi negatif	1	1	Klinik endikasyona göre takip
Belirsiz neoplazi/displazi	2	2	Takip
Non-invaziv düşük dereceli Neoplazi Düşük dereceli adenom/ Displazi	3	3	Takip/lokal tedavi
Non-invaziv yüksek dereceli neoplazi	4	4	Lokal tedavi
Yüksek dereceli adenom/ Displazi	4.1	4.1	Lokal tedavi
Non-invaziv karsinom (CIS)*	4.2	4.2	Lokal tedavi
İnvaziv karsinom şüphesi	4.3	4.3	Lokal tedavi
Intramukozal karsinom**	5	4.4	Lokal tedavi
Submukoza ya da derine invazyon	5	5	Cerrahi tedavi+lenf nodu disseksiyonu

*Non-invaziv karsinom: invazyonun bulunmadığı neoplazi.

**İntramukozal karsinom: Lamina propria veya muskularis mukozaya invazyonu olan, ancak submukozaya ulaşmamış neoplazi.

Viyana Sınıflandırmasında Tedavi Yaklaşımları

Viyana sınıflandırmasının en önemli avantajlarından biri farklı tanı kategorilerinde takip ve tedaviye yönelik önerileri de içermesidir (Tablo-2). Biyopsinin histolojik incelemesinde kategori 1'de neoplazi/ displazi negatif (normal, reaktif, rejeneratif, hiperplastik, atrofik ve metaplastik epitel dahil) tanısı alan lezyonların takibinin klinik endikasyona göre yapılması önerilmektedir. Kategori 2'de belirsiz neoplazi/displazi tanısında hastanın takibi lezyonun gerçek yapısı kesin olarak belirlenemediği için gereklidir. Kategori 3'de non-invaziv düşük dereceli neoplazide (düşük dereceli adenom/displazi) ise neoplazi bulunmakla birlikte invaziv karsinom gelişme riski düşüktür. Bu nedenle lezyon çıkarılabilir ya da takip edilebilir. Kategori 4'de non-invaziv yüksek dereceli neoplazi artmış invazyon ve metastaz gelişme riski taşımaktadır. Bu nedenle endoskopik mukozal rezeksiyon (EMR) ya da lokal cerrahi tedavi önerilmektedir. Kategori 5'de ise invaziv neoplazi tanısı alan hastalarda artmış derine invazyon ve metastaz riskleri nedeniyle en kısa sürede cerrahi tedavi uygulanması gerekmektedir. 'İntramukozal karsinom' tanısı orijinal Viyana sınıflamasında kategori 5'de ele alınmaktadır. Kategori 5'de acil cerrahi tedavinin önerilmesi 'intramukozal karsinom' olgularında gereksiz büyük cerrahi müdahalelere neden olabileceği eleştirilerini gündeme gelmiştir. Yapılan çalışmalarda mukozal karsinomlarda lenf nodu metastaz oranları oldukça düşük bildirilmektedir. Buna göre lenf nodu metastaz oranları gastrik intramukozal karsinomlarda %2-4, özofagusda %2-3 iken; kolorektal mukozal karsinomlarda bu oran %0 olarak saptanmıştır (28). Bu değerlendirmeler göz önüne alınarak 2000 yılının başında Viyana sınıflamasında revizyona gidilerek, 'intramukozal karsinom' subkategorisi lokal cerrahi tedavinin önerildiği kategori 4'e dahil edilmiştir (Tablo-2). Cerrahi sınırları sağlam lokal rezeksiyon materyalinde histolojik incelemede çapı 2 cm yi geçmeyen, lenfatik invazyon göstermeyen, yüksek dereceli displazi/adenom ya da iyi-orta derecede differansiye intramukozal adenokarsinom tanısının konması halinde ilave cerrahi tedavi önerilmemektedir. Bu duruma gerekçe olarak da, bu hastalarda bildirilen bölgesel lenf nodu metastaz riskinin hastaya uygulanacak cerrahi girişime

bağlı gelişebilecek morbidite ve mortalite riskinden az olması gösterilmektedir. 'İnvaziv karsinom şüphesi' tanısı alan olgularda lokal tedavi önerisinin dikkatli ve titizlikle verilmesi gerekmektedir. Aktif inflamasyona bağlı gelişen reaktif ve rejeneratif değişiklikler intraepitelial ve invaziv karsinom ayırımında özellikle küçük biyopsilerde sorun yaratabilmektedir. Bu tür durumlarda seviyeli yeni kesitlerin yapılması, gereğinde yeni biyopsi örneklerinin incelenmesi gerekli olabilmektedir. İEN tanısının verilmesi lezyona eşlik edebilecek invaziv karsinom olasılığını ortadan kaldırmamaktadır. Non-steroidal anti-inflamatuar (NSAII) / asetilsalisilik asit (ASA) kullanımının maligniteyi telkin eden hücrel ve yapısal değişikliklerle karakterli rejeneratif mukozaya neden olabileceği unutulmamalı, uygun tedavi sonrasında bu olgular neoplazi yönünden yeni biyopsilerle değerlendirilmelidir. Örnekleme hatasına bağlı olarak neoplastik değişikliğin derecesi ya da invazyon derinliği konusunda yanılgıların olabileceği göz önüne alınmalıdır. Lokal veya cerrahi tedaviye karar aşamasında biyopsi materyalinin histolojik tanısının klinik verilerin önemli bir parçası olduğu unutulmamalı, invazyon derinliğinin belirlenmesinde endoskopik, radyolojik ve ultrasonografik inceleme sonuçları ile birlikte değerlendirilmelidir (29).

VIII. Kolorektal Kanserin Genetik Temeli

Kanser, hücre ve dokuları etkileyen karmaşık bir hastalık grubudur. Mutasyonların gen ifadesini değıstirmesi tüm kanserlerin ortak özelliğı olarak kabul edilmektedir. Kanser çeşitlerinin çoğunda mutasyonlar somatik hücrelerde meydana gelir ve bu mutasyonlar üreme hücreleriyle gelecek nesillere aktarılmaz. Ancak kanser olgularının %1'inde eşey kök hücrelerinin çeşitli genlerinde meydana gelen mutasyonlar sonraki nesillere aktarılır ve bu değışim yeni neslin kansere yatkınlığını oluşturur (30). Kanser genetiğinin amacı normal bir somatik hücrenin proliferen bir popülasyona ve invaziv kanser hücrelerine dönüşmesine yol açan seçici ve çok basamaklı mutasyon yolağının anlaşılmasını sağlamaktır (31).

Kolorektal karsinogenezde genomik instabilitenin tipine bağılı olarak iki farklı moleküler gelişim modeli tanımlanmıştır (32, 33). Bunlar; kromozomal instabilite arayolu ve DNA mikrosatellit instabilite arayoludur. Kolorektal karsinogenezdeki bu gelişim modellerinden ilkinde çeşitli onkogen ve tümör süpressör genlerde görülen seri mutasyonların ardı ardına kümülasyonu sonucu kromozomal instabilite ortaya çıkmaktadır. Bu arayolda, moleküler değişiklere tanımlanabilen bir dizi morfolojik değişilik eşlik etmekte ve lezyonların progresyonu sonucu kolorektal karsinoma gelişmektedir.

En erken lezyon lokalize epitelyal proliferasyonlar şeklindedir (34). Bunu, küçük adenoma oluşumu ve daha sonra bunların büyümesiyle displastik değişikliklerin ortaya çıkması ve sonunda da invaziv kanserin gelişimi izlemektedir (35). Bu modele adenoma- karsinoma sekansı adı verilmiştir ve ilk olarak Fearon and Vogelstein (36) tarafından 1990 yılında tanımlanmıştır. Bu konseptte göre, APC tümör supresör gende görülen mutasyon adenom 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. APC'deki germ-line mutasyonlar Familyal Adenomatöz Polipozis sendromuna yol açarken, sporadik kolorektal karsinomların %80'inde APC'de somatik mutasyon saptanmıştır. Bu model tanımlandıktan sonra geçen süre içinde başka mutasyonlar da tanımlanmıştır. Ancak bazı genetik değişikliklerin sekansda hemen daima ve belli aşamalarda yer aldığı izlenirken bazılarının ise sekansda daha değişken olarak yer aldığı görülmüştür. Günümüzde kolorektal karsinogenezde alternatif arayolların varlığında araştırılmaktadır.

İkinci arayol ise DNA mismatch (onarım) genlerindeki genetik bozukluklar nedeniyle oluşan mikrosatellit instabilitesi üzerinden gerçekleşmektedir. Buradada çeşitli gen mutasyonlarının akümüasyonu söz konusudur ancak etkilenen genler farklıdır ve adenoma-karsinoma sekansından farklı olarak bu genetik değişikliklerin tam karşılığı olabilecek morfolojik değişiklikler henüz tam olarak idantifiye edilmemiş olmakla birlikte, son yıllarda, "serrated" morfolojiye sahip öncü lezyonların karsinoma ilerleyebilecekleriileri sürülmektedir (37, 38). DNA "mismatch repair" genler

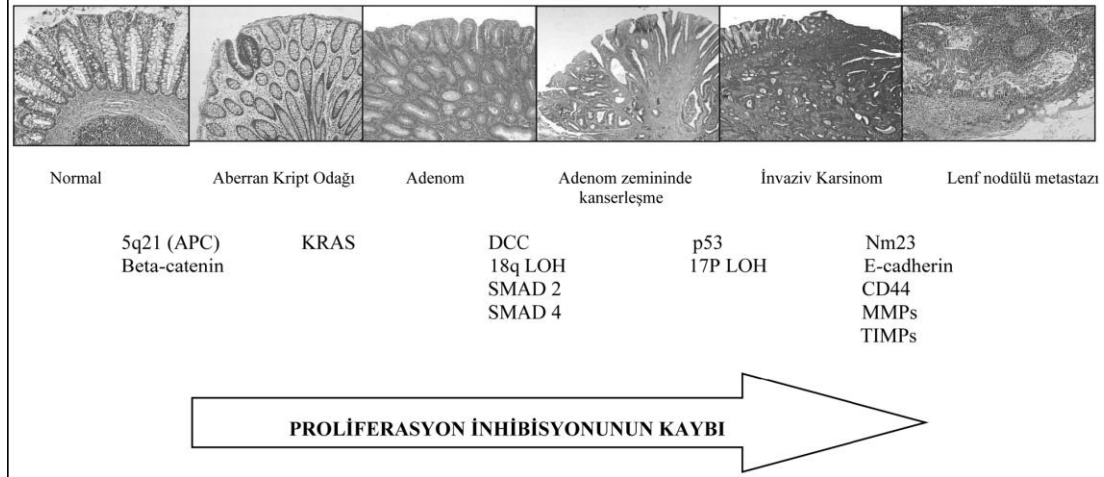
(MMR) spontan mutasyonlar sonucu DNA'da oluşan uyumsuz baz çifti eşleşmelerini belirler ve hatanın tespit edilmesinden sonra ortadan kaldırılması ve düzeltilmiş nükleotidin yerleştirilmesinden sorumludur. DNA "mismatch repair" genler replikasyon boyunca doğru DNA sentezinin sağlanmasında rol alarak genomun stabilizasyonunu sağlarlar. Etkin MMR gen aktivitesinin yokluğunda mikrosatellit instabilite (MSI) gözlenir. DNA onarım genlerindeki germline mutasyonlar "Hereditör Non Polyposis Colorectal Cancer"(HNPCC)'e neden olurken, somatik mutasyonlar sporadik kolorektal kanserlerin %10-15'inde görülmektedir (33,39). MSI gösteren tümörlerin farklı klinik özellik gösterdiği saptanmıştır. Bu tümörler proksimal kolonda lokalizedir, genellikle musinöz veya andiferansiye özelliktedir. Stromalarında belirgin lenfositik infiltrasyon bulunmaktadır ve mikrosatellit stabil tümörlere göre daha iyi prognoz gösterirler. Özellikle sağ kolonda lokalize bazı hiperplastik poliplerin bu tümörlerin öncü lezyonları olabileceklerine ilişkin son yıllarda literatürde birçok çalışma yer almaktadır. Bu arayolda da hiperplastik polip, serrated adenoma ve müsinöz karsinoma fleklinde gelişebilecek bir morfolojik spektrumun bulunabileceği düşünülmektedir.

VIII.A. Adenoma-Karsinoma Sekansı ve Prekürsör Lezyonlar

Kolorektal karsinogenezin genetik değişikliklerin akümüasyonu ile normal mukozadan karsinomaya doğru ilerleyen farklı morfolojik değişikliklere yol açarak farklı lezyonların gelişimi ile karakterli bir süreç olduğu kabul edilmektedir. Histolojik gözlemler sonucunda çoğu kolorektal kanser olgusunda mukozada normal epitel-adenomatöz epitel-adenomatöz displazi ile karakterli giderek ilerleyen bir sekans olduğu gösterilmiştir (şekil 6) (32, 36, 39). Kolorektal karsinomların büyük kısmının bu sekans üzerinden geliştiği kabul edilmektedir. Adenoma-karsinoma sekansında tanımlanmış erken morfolojik prekürsör lezyon "aberrant kript odağıdır (34, 40).

Aberrant kript odağı (ACF), kolorektumda epitelyal neoplazinin erken morfolojik prekürsörü olarak kabul edilen ACF'in normal kolon mukozası ve adenomatöz polip arasında bir geçiş lezyonu olduğu düşünülmektedir (34, 40). Kolorektal karsinogenezdeki rolü, bazı ACF'lerde

displazinin ve kolorektal kanserde gözlenen bazı genetik ve epigenetik değişikliklerin (APC değişiklikleri, K-ras mutasyonları, MSI ve p16 geni ve diğer CpG adalarının metilasyonu gibi) saptanması ile desteklenmektedir. İlk olarak azoxymetan verilmiş sıçanlarda metilen mavisi ile boyalı mukozal tabakanın mikroskopik muayenesi veya “magnifying” endoskopi ya da kromoendoskopi ile azalmış mün içeriği ile birlikte normale göre daha genişlemiş, kalınlaşmış ve koyu boyanmış kriptler şeklinde tanımlanmıştır. ACF tek bir kript ya da 200 veya daha fazla kriptten oluşabilir. Yüzey düz ya da hafif kabarık olabilir. Mikroskopik olarak ise Hiperplastik (heteroplastik/nondisplastik), displastik ve Mikst tipleri vardır. ACF’ın %65-95’inin hiperplastik özellikte olduğu bildirilmektedir. Displastik ACF, FAP olgularında sporadik kolorektal kanserlere göre daha sık görülmektedir.



Şekil-6: Adenom-karsinom sekansı.

İyonize radyasyon, kimyasallar ve virüsler gibi çevresel karsinojenler genelde etkilerini mutasyona neden olarak gösterirler. Oluşan bu mutasyonlar kanserde merkezi rol oynamaktadır (30). Hayvan virüs ailelerinde yer alan ve tümör virüsü olarak adlandırılan bir çok virüs deney hayvanlarında veya insanlarda doğrudan tümör oluşturabilir (41).

VIII.B. Kolorektal Kanselerde Rol Oynayan Genler

KRK gelişiminde rol oynayan genetik değişiklikler (mutasyonlar), protoonkojenler inaktivasyonu, tümör supressör genlerin inaktivasyonu ve DNA onarımıyla ilgili genlerdeki (MMR: mismatch repair gen) bozukluklar

olmak üzere üç temel grupta incelenebilir. Tek bir gende yukarıda bahsedilen mutasyonlardan herhangi birinin ortaya çıkması, KRK oluşumu için yeterli değildir. Kanseri geliştiren için, birden fazla gende, çok sayıda mutasyonun zaman içerisinde birikmesi gereklidir(42-44).

VIII.B.a. Proto-onkojenler

Hücrede uyarı iletiminde ve hücre büyümesinin kontrolünde rol oynayan genlerden olup, normalde inaktiftirler. Bu genlerin uygun olmayan aktivasyonları, hücre yüzeyinden nükleusa gelecek mesajların anormal iletimine, anormal hücre proliferasyonuna ve sonuç olarak tümör gelişimine yol açar. Proto-onkojenler mutasyona uğradığında onkojen adını alırlar. Onkojenler dominant olarak fonksiyon gösterirler (44). Ras geni, üzerinde en çok çalışılan onkojendir. İnsanda hücre içi uyarı iletimini düzenleyen üç ras geni (K-ras, N-ras, H-ras) mevcuttur. K-ras geni 12. kromozomun kısa kolunda yer alır. Allellerden birindeki mutasyon, bu genin etkili olması için yeterli olmaktadır. K-ras geni mutasyona uğradığında, hücre içinde GTP (guanozintrifosfat) hidrolizi yapılmadığı, G proteininin devamlı olarak aktif formunda kaldığı, sonuç olarak da kontrolsüz hücre bölünmesine yol açtığı düşünülmektedir. Ancak, tümör gelişimi için tek başına K-ras mutasyonu yeterli değildir KRK'lerin %65'inde, bir ras geninde (genellikle K-ras) nokta mutasyonu saptanmıştır. Kolon kanserlerinde ve 1 cm'den büyük adenomların yarısından fazlasında ras mutasyonu saptanırken, 1 cm'den küçük adenomlarda bu oran %10'a düşmektedir (45, 46).

VIII.B.b. Tümör Supressör (baskılayıcı) Genler

Mutasyona uğradığı takdirde KRK gelişiminde rol oynayan belli başlı tümör supressör genleri, APC (Adenomatous Polyposis Coli), DCC (deleted in colorectal carcinoma) ve p53'tür.

Tümör supressör genler resesif karakterde olduğundan, ancak her iki allelde de mutasyon olduğunda tümör oluşumu başlayabilmektedir.

APC geni: Bu gende yer alan defekt, ilk kez FAP'lı hastalarda tanımlanmıştır. FAP, KRK'lerin yaklaşık %1'ini oluşturmaktadır. Ancak, mutant APC geni, sporadik KRK'lerinde %80'inde saptanmaktadır(44). Bu gende ortaya çıkan mutasyonların, FAP ve diğer sporadik kolon adenomlarının gelişiminde en

önemli ilk adım olduğu düşünülmektedir (42, 43) APC geni, 5. kromozomun uzun kolunda (q21) yer alır. FAP'lı hastalar, APC geninin bir allelinde mutasyonlu olarak doğarlar. İkinci allel, bireyin yaşamı esnasında çevresel faktörlerin de etkisiyle sonradan mutasyona uğrar. Polip gelişimini başlatmak için, her iki APC geninin de mutasyona uğraması gereklidir. Ancak, polipin kanserleşmesi için ayrıca, ilave genetik mutasyonlarında eklenmesi zorunludur. APC genindeki mutasyonun yeri, FAP olgularının klinik seyri ile de yakın ilişkilidir. Genin uç bölümlerinde ortaya çıkan mutasyonlar, daha hafif seyirli olan AAPC (Attenuated Adenomatous PolyposisColi) varyantının oluşumuna yol açarken, genin orta bölümünde görülen mutasyonlarda ise daha ağır klinik seyirli klasik FAP formları ortaya çıkar (47). AAPC ya da AFAP (Attenuated Familial Adenomatous Polyposis) olarak adlandırılan varyantta, klasik FAP olgularına kıyasla daha az sayıda polip mevcuttur. Ayrıca bu olgulara daha geç yaşta tanı konur ve ekstra-kolonik bulgulara daha seyrek rastlanır (43).

DCC (deleted in colorectal carcinoma) geni: 18. kromozomun kısa kolunda lokalize olmuş (18q21) diğer bir tümör supressor gendir ve malign dejenerasyon için her iki allelde de mutasyon gerekir. Hücre diferansiyasyonu üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Mutant DCC, KRK'ların %70'inde saptanmaktadır ve varlığı prognozu olumsuz yönde etkilemektedir (44).

p53 geni: Bu gen, 17. kromozomun uzun kolunda (17p) yer alır. Tamiri mümkün olmayan genetik değişikliklere maruz kalan hücrelerde apoptozu (programlanmış hücre ölümü) başlatmakta önemli role sahiptir (47). Mutasyona uğradığında, bu fonksiyonunu yerine getirememekte ve insanda çeşitli tipte tümörlerin gelişimine yol açmaktadır. Bu gene ait mutasyon, KRK'ların da %75'inde görülmektedir. Ancak, KR adenomlarda nadiren görüldüğünde, p53 genindeki mutasyonun adenom-karsinom sekansının geç dönemlerinde ortaya çıktığı düşünülmektedir (43, 48).

VIII.B.c. Mismatch Repair Genleri (MMR)

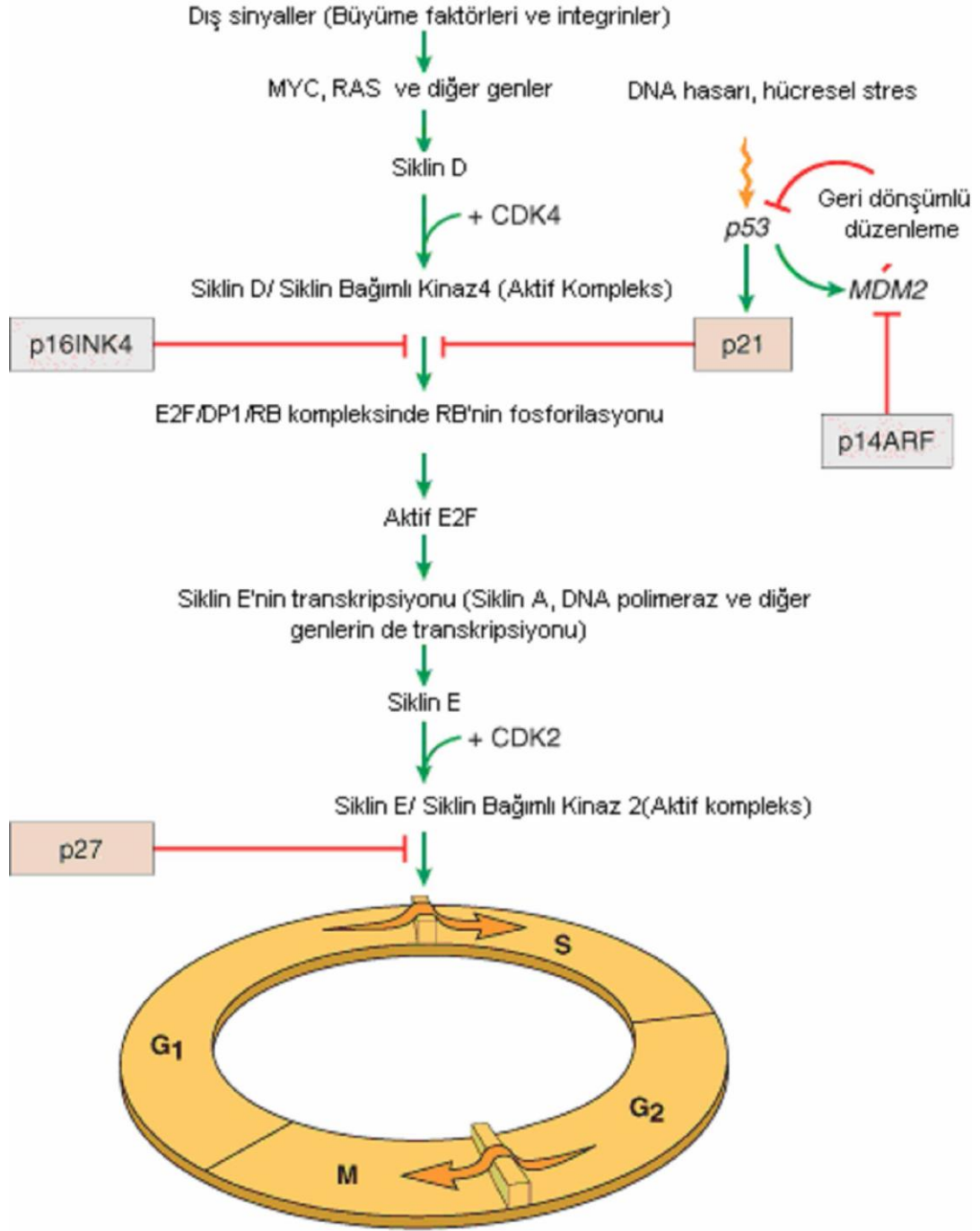
İnsan genomu, 23 çift kromozomda bulunan yaklaşık 100.000 gende yer alan 3 milyara yakın nukleotidden oluşmuştur. Kromozomlardaki nukleotid şifresi (dizilimi), hücre bölünmesi sırasında kopyalanıp yeniden

eşleşmek suretiyle, yeni oluşan hücrelere aktarılır. “DNA replikasyonu”adı verilen bu süreçte ortaya çıkan hataların tanınmasında ve onarımında hayati role sahip olan çok sayıda gen tanımlanmıştır. Bunlara MMR (yanlış eşleşmeyi onaran genler)adı verilir. Bugüne kadar tanımlanan MMR genleri arasında hMSH2 (%40-50), hMLH1 (%20-30), hPMS1, hPMS2, hMSH3 ve hMSH6 sayılabilir (44, 47). Genomun protein kodlamayan bölümlerinde yer alan, kısa ve tekrarlanan DNA sekanslarına “mikrosatellit” adı verilir. Bu bölgeler, replikasyon hatalarına özellikle yatkındır. MMR genlerindeki mutasyonlar, mikrosatellitlerde değişkenliklere yol açarlar ve bu tabloya mikrosatellit kararsızlığı (MSI) adı verilir. Böyle bir genomik kararsızlık (genomik instability), kolon karsinogenezinde rol oynayan önemli bir mekanizmadır. MSI'nin hassas genlerde giderek fazla sayıda mutasyona yol açması, sonuçta malign fenotipin ortaya çıkmasını sağlar (47). MMR ile ilgili değişiklikler, sporadik KRK'da %15-20 oranında görülür. Oysa herediter bir KRK formu olan HNPCC olgularında ise bu oran %85'tir (43, 49) HNPCC, FAP'a göre daha sık görülmesine rağmen yine de nadirdir ve tüm KRK'lerin yaklaşık %3-5'ini oluşturmaktadır (43, 49). HNPCC'de, diğer polipozis sendromlarının aksine, kolonda polipozis bulunmaz. Ancak, kanser, daha önce ortaya çıkan bir adenomdan gelişir. Otozomal dominant geçiş gösteren herediter bir hastalıktır ve MMR genlerindeki mutasyona bağlı olarak gelişir. En sık olarak, 2. kromozomda bulunan hMSH2 (%40-50) ve 3. kromozomda bulunan hMLH1 (%20-30) genlerinde mutasyon görülür (46). Mutant geni taşıyan bireylerin %70'inde ileride kanserleşme ortaya çıkacaktır (44). Sporadik KRK'lere göre daha genç yaşta ortaya çıkarlar, daha proksimal kolonda yerleşim göstermeye eğilimlidirler, senkron ve metakron kolon kanseri görülme oranı da daha fazladır (43, 44, 49).

VIII.C.a Normal Hücre Siklusu

Son yıllarda, moleküler olayların etkili olduğu hücre proliferasyonu ile ilgili bilgilerde büyük bir artış mevcuttur. Normal hücre proliferasyonuna etkileri saptanan protoonkogen ve tümör supresör genler olarak isimlendirilen hücresel genler ortaya çıkarılmıştır. Hücrelerin replikasyonu genellikle büyüme faktörleriyle ya da ekstrasellüler matriks komponentlerinin integrinleri

uyarmasıyla stimüle olur. DNA replikasyonunun oluşması ve bölünme için hücre, hücre siklusu olarak bilinen yüksek kontrollü döngüye girer (50-52). Hücre siklusunun farklı evreleri süresince hücrelerin düzenli ilerlemesini siklinler, siklin bağımlı kinazlar (SBK) ve bunların inhibitörleri yönetir (53). Siklusun harekete geçmesi hücrelerin bir sonraki evreye geçebilmeleri için gerekli olan kritik hedef proteinlerin SBK'lar tarafından fosforillenmesi ile olur. Hücre siklusu boyunca SBK'lar inaktif formda bulunurlar. Siklinler adı verilen protein ailesine bağlanarak fosforile olduktan sonra aktif hal alırlar (51). Siklinlerin fonksiyonu SBK'ları aktive etmektir ve hücre siklusunun spesifik evrelerinde sentezlenirler. Bir ya da daha fazla SBK'a bağlanan siklinler görevlerini tamamladıktan sonra düzeyleri hızla düşer. Sayıları 15'ten fazla olup hücre siklusunda sırasıyla siklin D, E, A ve B görülür (Şekil-7).



Şekil-7: Siklin, Siklin Bağımlı Kinaz ve Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitörlerinin G1/Şücre siklusu geçişinde düzenleyici rollerini gösteren şema (22).

VIII.C.b. Hücre Siklus İnhibitörleri

SBK inhibitörleri denen inhibitörler siklin-SBK komplekslerinin aktivitesini sıkı birşekilde denetler (53). SBK inhibitörleri 2 ana sınıfa ayrılır: Cip/Kip ve INK4/ARF (“inhibitor of kinase 4a/alternative reading frame”)

aileleri. Bu inhibitörler tümör supresör olarak görev yaparlar ve sıklıkla tümörlerde değişikliğe uğrarlar. Cip/Kip ailesi p21, p27 ve p57 olmak üzere 3 komponentten oluşur ve siklin ile SBK'lar arasında oluşan komplekslere bağlanarak bu kompleksleri inaktive eder. p21'in transkripsiyonel aktivasyonu; mutasyonu insan kanserlerinde çok görülen tümör supresör gen p53'ün kontrolü altındadır. p53'ün hücre siklusundaki temel rolü; hasarlı hücrelerde kontrol noktalarında ilerlemeyi yavaşlatmak ya da durdurmak ve DNA tamiri gerçekleşmezse hücreyi apoptoza yönlendirmektir. İnsan INK4a/ARF loküsü hücre siklusunu bloke eden ve tümör supresör gibi davranan 2 proteini kodlar. Bunlar p16INK4a ve p14ARF proteinleridir. p16INK4a, SBK4'e bağlanmak için siklin D ile yarışır ve siklin D- SBK4 kompleksinin retinoblastom (RB) genini fosforilleme yeteneğini inhibe ederek hücre siklusunu geç G1 fazında durdurur. p16INK4a, insan kanserlerinde sıklıkla mutasyona uğrar ya da hipermetilasyonla inaktive edilir. INK4a loküsü p53 üzerinde etkili ikinci bir gen ürünü olan p14ARF'yi kodlar. P14ARF, INK4a geninin alternatif okunmasından ortaya çıkar ve gen kodlama sekansında kullanılan "ekonomik" bir yol sağlar (53). Hem p16INK4a, hem de p14ARF hücre siklusunu bloke etseler de hedefleri farklıdır. p16INK4a, siklin D-SBK4 üzerinde etkili olurken, p14ARF ise p53'ün feedback döngüsünü inhibe ederek p53'ü azalmaktan korur (54).

VIII.C.c. Hücre Siklusunda Kontrol Noktaları

Hücre siklusunun kendi internal kontrol noktaları vardır. Biri G1/S geçiş bölgesinde, diğeri G2/M geçişinde olmak üzere iki temel kontrol noktası bulunur (53-56). S fazı hücre siklusunda geri dönüşü olmayan bir noktadır. Hücre replikasyona girmeden önce G1/S kontrol noktası DNA hasarını kontrol eder. Eğer DNA hasarı varsa DNA tamir mekanizmaları çalışır ve siklus durur. Siklus ilerlemesinde ertelenme tamir için gerekli zamanı sağlar. Eğer hasar tamir edilemezse apoptotik yollar aktive olur. Böylece G1/S kontrol noktası DNA defektli hücreyi replikasyondan korur. DNA hasarı replikasyondan sonra bile kromatidler ayrılıncaya kadar onarılabılır. G2/M kontrol noktası DNA replikasyonunun tamamlanmasını denetler ve hücrenin güvenli bir şekilde mitozu başlamasını ve kardeş kromatidlerin ayrılmasını

kontrol eder. Bu kontrol noktası özellikle iyonizan radyasyona maruz kalan hücrelerde önemlidir. Hücreler iyonize radyasyonla hasarlanırsa G2/M kontrol noktası aktive olur ve siklus G2'de durur. Bu noktadaki hatalar kromozom anomalilerine neden olur. Düzenli fonksiyon için hücre siklusunun kontrol noktaları DNA hasarı için algılayıcılara, sinyal ileticilerine, efektör moleküllere ihtiyaç duyar. DNA hasarındaki algılayıcılar ve ileticiler G1/S ve G2/M kontrol noktaları için aynı gibi gözükmektedir. G2/M noktasında hücre siklusunun durması p53 bağımlı ve p53 bağımsız mekanizmalarla olur. Hücre siklusu kontrol noktalarındaki defekt, kanser hücrelerindeki genetik instabilitenin en önemli nedenlerinden biridir. Hücre siklusunun G1/S kontrol noktasında durması p53 ile olur. Bu durumu da hücre siklusu inhibitörü p21 indükler (51, 55, 56). p16, SBK4 inhibitörüdür. Spesifik olarak siklin D-SBK4/6 kompleksine bağlanarak hücre siklusunu G1/S interfazında RB aracılığı ile kontrol eder (53).

p53

Kromozom 17p13.1'de lokalize p53 geni, insan tümörlerinde genetik mutasyonların en sık hedefidir. Tümörlerin %50'den fazlası bu gende mutasyon taşır. Kansere bağlı ölümlerin en sık üç nedenlerinden olan akciğer, meme, kolon karsinomları dahil olmak üzere hemen her kanserde p53 gen aktivitesinde homozigot kayıp bulunur (57).

p53 mutasyonlarının çeşitli insan tümörlerinde sık görülmesi p53 proteininin kanser oluşumuna karşı kritik bir bekçi (gatekeeper) fonksiyonu olduğunu desteklemektedir. p53 hasar görmüş hücrelerin yayılmasını engelleyen bir moleküler polis gibi davranmaktadır. p53 proteini nükleusa lokalize DNA bağlayıcı bir proteindir. Çok sayıda genin transkripsiyonunu kontrol etmek suretiyle fonksiyon görür (57).

İnsan kanserlerindeki p53 nokta mutasyonlarının yaklaşık %80'i proteinin DNA'ya bağlı kısmında lokalizedir. DNA'ya bağlı olmayan mutant p53, normal proteinin aksine bloke eden defektif bir protein üretir. p53 proteinin majör fonksiyonel etkinliği DNA hasarına yanıt olarak hücre siklusunu durdurması yani büyümenin durdurulması ve apoptozun başlatılmasıdır. DNA hasarını takiben p53'te acil yükseliş olur. Aynı zamanda

DNA bağımlı protein kinaz ve ataksi telenjektazi-mutant (ATM) gibi kinazlar, DNA hasarına yanıt olarak aktive olur. p53 bu enzimleri fosforile eder, DNA'ya bağlanma yeteneği kazanır ve aktif bir transkripsiyon faktörü haline gelir. p53 hücre siklusunun durdurulmasına ve apoptoza aracılık eden çeşitli genlerin transkripsiyonunu uyarır (57).

Fizyolojik koşullar altında p53 yarılanma ömrü (20 dakika) kısadır. Eğer hücre bölünmesi sırasında DNA hasarı başarı ile onarılmaz ise normal p53, son bir hareketle BAX gibi apoptozu uyaran genleri aktive ederek hücreyi ölüme gönderir. BAX apoptozu inhibe eden bcl2 proteinine bağlanır ve onu antagonize eder; BAX hücre ölümünü uyarır (57).

Özet olarak p53; DNA onarımı, hücre siklusunun durdurulması ve apoptoz arasında bağlantı kurar. DNA hasarına yanıt olarak hasara duyarlı olan ve DNA onarımında görev alan genler aracılığı ile fosforile olur.

p53; siklusun G1'de durmasına yol açarak, DNA onarım genlerini uyararak DNA onarımına yardımcı olur. Onarılamayacak kadar hasara uğramış DNA p53 tarafından apoptoza yönlendirilir. Bu aktiviteleri göz önüne alındığında haklı olarak p53 'genomun bekçisi' olarak isimlendirilir. P53'ün homozigot kaybı olduğunda DNA hasarı onarılamaz. Bölünen hücrelerde mutasyonlar kalıcı olur ve hücre malign transformasyona giden tek yönlü bir yola girer (57) .

p53'ün DNA hasarına yanıt olarak apoptozu kontrol etmesi önemli pratik ve terapötik anlam taşır. Kanser tedavisinde en sık kullanılan yöntem olan radyoterapi ve kemoterapi etkilerini DNA hasarını uyararak ve takiben apoptozisi uyararak gösterir. Genin mutant allellerini taşıyan tümörlere göre normal p53 içeren tümörlerin bu tedavilere yanıt vermesi olasıdır (57).

Yapılan çalışmalarda; p53 mutasyonları adenomadan karsinomaya giden ilerlemenin önemli bir faktörü olarak düşünülen apoptozisin, p53-aracılı yollarının kaybı ile beraber kolorektal tümörlerin gelişiminde kısmen geçiken olaylar olarak açıklanmaktadır (58). p53 tümör supressör gen mutasyonları, kolon tümör oluşumunda gerçekleşen kolon kanserinde yaygın olarak bulunmaktadır (59). Kolon tümörlerinde tespit edilen p53 gen dönüşümü oranları farklılık göstermektedir, önceki verilere göre kolon

kanserinin % 75'inde değişim gözlenmiştir, yeni tahminlerde kolon tümörlerinin % 40-50 arasında değişim gerçekleştiğini göstermektedir. Kolon tümörlerinde gerçekleşen birçok mutasyon missense mutasyonlar olarak rapor edilmiştir ve bu mutasyonların kapsamlı olarak incelenen gen raporları, kolon tümörlerinde meydana gelen p53 mutasyonlarının % 87'si, ekson 5-8 de gerçekleştiğini göstermiştir (60). Kolorektal kanserde p53 geninin nokta mutasyonu, durumun yaklaşık olarak % 50-60'ında oluşurken ve kötü olgu prognozu ve tümör gelişimi ile birleşirken, p53 genindeki allellik kayıp tümörün % 70'inde oluşabileceğini göstermektedir (61).

Ki-67

İlk kez 1983'de Ki-67 monoklonal antikoru taze donmuş materyallerde proliferasyonun histolojik olarak değerlendirilmesi için kullanılmıştır (45). Ki-67, hücre siklusunun G0 fazı dışında tüm fazlarında bulunan nonhiston bir nükleer proteindir. 345 ve 395 kilodalton ağırlığındaki iki molekülden oluşur ve geni 10. kromozom üzerinde yer alır (63-66).

Ki-67, çoğalan hücrelerde görülen bir çekirdek proteindir. Esas olarak G1, S, M ve G2 fazında görülür. G0 fazında yoktur (67). Hücre proliferasyonunun morfolojik özelliklerini iyi bir şekilde gösteren protein olup, mitotik indeks ve tümör gradelemesinde sıklıkla kullanılır (62). Orijinal antikoları sadece frozen kesitlerinde pozitif olabilir. Monoklonal antikoları formaline dirençli epitoplardan geliştirilmiştir (MIB1, MIB2). Genel olarak Ki-67 boyanması ile mitoz arasında iyi bir korelasyon vardır (68) .

İmmünohistokimya ile Ki-67 için pozitif nükleer boyanma gösteren hücre yüzdesi, proliferasyon indeksini gösterir. Agresif tümörlerde bu oran yüksektir. Birçok sistem tümörlerinde (meme, akciğer, özofagus, böbrek ve prostat kanseri, malign melanom, nonhodgkin lenfoma, glial tümörler vs.) yüksek Ki-67 oranı, kötü prognostik faktör olarak gösterilmiştir (69).

Ki-67 kolorektal adenom ve karsinomlarında proliferasyon aktivitesini belirlemede önemli bir antijendir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda adenokarsinomların Ki-67 indeksi adenomlardan, az diferansiye adenokarsinomların Ki-67 indeksi, iyi diferansiye adenokarsinom ve orta derecede diferansiye adenokarsinoma göre yüksek bulunmuştur (70).

Özellikle tanı konma güçlüğü yaşanan adenomatoid kolon lezyonlarında Ki-67 indeksi oldukça yararlıdır. Yüksek olarak saptanması her zaman karsinom tanısını desteklemez. Klinik parametreler ve invazyon varlığıyla korele edilerek tanıya gidilmelidir.

Biz bu çalışmada kolorektal bölgeden kaynaklanan neoplazilerde revize Viyana sınıflandırılmasına göre patoloğlar arası uyum ve Ki-67 ile p53 immunohistokimyasal boyamalarının histopatolojik tanıdaki rolünü değerlendirmeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 01/06/2012 – 30/12/2012 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı'nda tanı amaçlı kolorektal bölgedeki malignite şüphesi olan veya polip ön tanısıyla gönderilen lezyonlardan alınan, Genel Cerrahi tarafından polip eksizyonu amacıyla opere edilen veya başka bir operasyon sırasında insidental olarak saptanan polip eksizyon materyallerinin histopatolojik tetkik amacıyla Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderilen 159 hastaya ait 223 neoplazi tanısı alan 707 prepatattan oluşan endoskopik biyopsi ve eksizyon materyalleri yeniden değerlendirildi.

Çalışmaya, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu'nun 17.12.2013 tarih ve 2013-21/11 no'lu kararı ile onay alındı.

Çalışmamızda patoloji raporlarından elde edilen yaş, cinsiyet, biyopsi ve polip eksizyon materyalinin alındığı kolorektal bölgeler belirlendi.

Histopatolojik tetkik ve tanı amacıyla Tıbbi Patoloji Laboratuvarına gönderilen endoskopik biyopsi ve eksizyon materyalleri fiksasyon amacıyla 24 saat %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda bekletildikten sonra rutin histopatolojik takip işlemlerinden geçirilip hazırlanan kesitler Hematoksilen&Eozin (H&E) ile boyandı.

Tüm olgular immunohistokimyasal olarak p53, Ki-67 (MIB-1) belirteçleri ile aşağıda belirtilen yöntemler ile boyanarak p53 immunoreaktivitesi semikantitatif olarak değerlendirildi, Ki-67 proliferasyon indeksi hesaplandı.

Olguların H&E boyalı lamaları birbirinden bağımsız 3 patoloğ tarafından 1 aylık bir süre içerisinde Viyana sınıflamasının histopatolojik tanı kriterleri göz önüne alınarak değerlendirildi (Tablo-3). Gözlemciler Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde çalışan gastrointestinal sistemde deneyimli bir patoloğ, uzman patoloğ ve araştırma görevlisinden oluşmaktaydı. Olgular revize Viyana sınıflandırılması esas alınarak kategorize edildi (Tablo-4).

Tablo-3: Viyana sınıflamasının histopatolojik tanı kriterleri.

KRİTERLER	
Glandüler yapı	Düzcün Düzenli yapıda hafif kalabalıklaşma Düzensiz yapılanma Değişik çap Değişik şekil Kompleks tomurcuklanma ve dallanma Kribriform , papiller yapılanma
Nukleus	Düzenli dizilim,bazale yerleşim,spindle şekil Homojen kromatin Hafif-orta-belirgin hiperkromazi Stratifikasyon yok/hafif Belirgin stratifikasyon Değişik çap ve/veya büyüklük Nukleus/sitoplazma oranında artma Polarite kaybı,Yuvarlaklaşma Vezikülasyon Büyük belirgin nukleol Artmış atipik mitoz
Hücreler	Değişik çap ve şekillerde epitel hücreleri Belirgin iltihabi infiltrat Normalden atipiyeye geçiş derecesi
İnvazyon	Yok Psödo (glandların muskularis mukoza ve submukoza doğru ilerlemesi) Lamina propria Muskularis mukoza Submukoza

Tablo-4: Viyana Sınıflandırılmasında Kategori Kriterleri.

Negatif Displazi	<p>Yüzey epitelyum hücreleri; alttaki glandüler yapılardan daha matür, yüzeydeki hücrelerde nükleus/ stoplazma oranı düşük</p> <p>Glandüler yapılar arasında lamina propria geniş</p> <p>Sitolojik özellikler normal</p> <p>Yüzeyde ve derinde nükleer polarite korunmuş</p> <p>Çekirdek kontürleri korunmuş</p> <p>Az miktarda yüzey mûsin kaybı</p> <p>İnflamasyon olabilir</p>
Kesin olmayan displazi	<p>Yüzey epitelyum hücrelerinde matürasyon mevcut; ancak sitolojik atipilerin eşlik ettiği olgular</p> <p>Genel yapı korunmuş ancak glandlarda bir miktar kalabalıklaşma olabilir</p> <p>Nükleer çentikleşme, hiperkromazi, derin galndl epitelyum hücrelerinde mitozla rastlanabilir.</p> <p>İnflamasyon olursa yapısal anormallikler gözlenebilir</p>
Noninvaziv neoplazi Düşük dereceli Displazi	<p>Yüzey epitelyum hücreleri; alttaki gland yapılarına benzer</p> <p>Orta derecede yada belirgin olarak glandlarda kalabalıklaşma mevcut ancak arada lamina propria seçilebiliyor</p> <p>Sitolojik değişiklikler az da olsa yüzeye yansımali</p> <p>Çekirdek membranında düzensizlik, bir miktar hiperkromazi</p> <p>Nükleer çentiklenme yada polarite kaybı</p> <p>Az miktarda inflamasyon</p>
Non invaziv neoplazi Yüksek dereceli	<p>Yüzeyde maturasyon kaybı belirgin</p> <p>Anormal yapı ve düzende kalabalıklaşmış glandlar</p> <p>Lamina propria daralmış</p> <p>Nükleuslar hiperkromatik ve çentikli, sınırları düzensiz</p> <p>Hücrelerde nükleer polarite kaybı varmitozlar belirgin</p>

Displazi	olarak seçilebiliyor İnflamasyon minimal
Şüpheli invaziv karsinoma	Mide, özefagus, ince barsak için lamina propriada, kolon için submukozadaşüpheli invazyon alanları içeren ve yüksek dereceli neoplazinin tüm özelliklerini gösteren olgular Yüksek dereceli displazi ve erken intramukozal karsinoma ayırımı sıklıkla zor Sırt sırta vermiş mikroglandüler yapılar, tek tek yada diffüz dağılmış atipik hücreler Dezmoplazi belirgin özellik değil
İnvaziv adenokarsinoma	Kolonda submukoza diğer yerlerde lamina propriada belirgin invazyon mevcut

İmmünohistokimyasal Boyama

İmmünohistokimyasal boyama için olgulara ait parafin bloklardan ikişer adet 4-5 mikron kalınlıkta poli-L-lizinli lamlara kesitler alındı. Hazırlanan kesitler, streptoavidin-biotin-peroksidaz ve mikrodalga antigen retrieval kombinasyon metodu ile boyandı.

Alınan kesitler 50-55 C sıcaklıktaki etüvde bir gece bekletildi. Etüvden çıkarıldıktan sonra 25 dakika ksilende deparafinize edildi. Ksilenden çıkan preparatlar, absolü alkolde 10 dakika, %96'lık alkolde 5 dakika bekletildikten sonra 5 dakika akan suda yıkandı ve 10 dakika distile su dolu şalede bırakıldı.

%10'luk sitrat buffer (pH=6,0) içine alınan kesitler, mikrodalga fırında önce 800 W'da 5 dakika, sonra 400 W'da 15 dakika tutuldu. Mikrodalga fırından çıkarılan kesitler 20 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Kesitler soğuduktan sonra 3 defa distile suda 5'er dakika yıkandı ve %3'lük hidrojen peroksit dolu şalelerde 15 dakika bekletilip, akar su ile yıkandı. Daha

önceden hazırlanmış olan fosfat buffer salin (PBS) solüsyonuna (PBS 0,001, pH=7,2) alındı.

Kesitler kurutulmadan üzerlerine protein blokaj damlatıldı ve 5-10 dakika bekletildi. Lamlar silkelenip, her lama ait primer antikolar (P53 Dilüsyon oranı: 1/40 ve Kİ-67 Dilüsyon oranı 1/50) damlatıldı ve 60 dakika bekletildi. Bu süre sonunda lamlar önce distile suda, sonra akan suda yıkandı ve PBS içinde 10 dakika bekletildi. Mape üzerine tekrar alınan preparatlardaki kesitlere biotin damlatıldı, 15 dakika bekletildi. Lamlar şalelere alınıp, akan suda yıkandı. 10 dakika PBS içinde bekletildi. Tekrar mapeye dizilen lamların üzerine streptoavidin damlatıldı ve 15 dakika bekletildi. Daha sonra lamlar tekrar şalelere alınıp önce akan suda, sonra distile suda yıkandı ve PBS'de 10 dakika bekletildi. Kesitler üzerine 1-2 damla diaminobenzidin (DAB) kromojen damlatıldı. Kahverengi renk değişimi saptanıncaya kadar 5-10 dakika bekletildi. Kesitler çeşme suyunda yıkandı ve hematoksilen boyamaya geçildi.

Mayer hematoksilende 1 dakika bekletildikten sonra tekrar çeşme suyu ile yıkandı. Amonyaklı suda renk değişinceye kadar (yaklaşık 10 saniye) bekletildikten sonra çeşme suyu ile yıkandı. Sırasıyla %96'lık ve absölü alkolden geçirildi. Oda sıcaklığında kurumaya bırakılan kesitler ksilene batırılıp çıkarıldıktan sonra kanada balsamı ile kapatıldı.

Pozitif kontrol olarak p53 için kolon karsinomu, Kİ-67 için lenf nodülü dokuları kullanıldı. Bu pozitif kontrollere ait kesitler de çalışma olgularına ait preparatlarla eş zamanlı olarak boyandı.

Lamlar, parlak alan ışık mikroskobunda (Olympus BX50) incelendi.

İmmünohistokimyasal Boyamanın Değerlendirilmesi

Çalışmamızda p53 ve Kİ-67 immünohistokimyasal boyalarını uyguladığımız preparatlarda en fazla boyanmanın olduğu (hot spot) alanlar belirlendi ve bu seçilen alanlarda Olympus mikrometre kullanılarak 100 hücre sayıldı. Sadece nükleer boyanma gösteren hücreler pozitif kabul edildi.

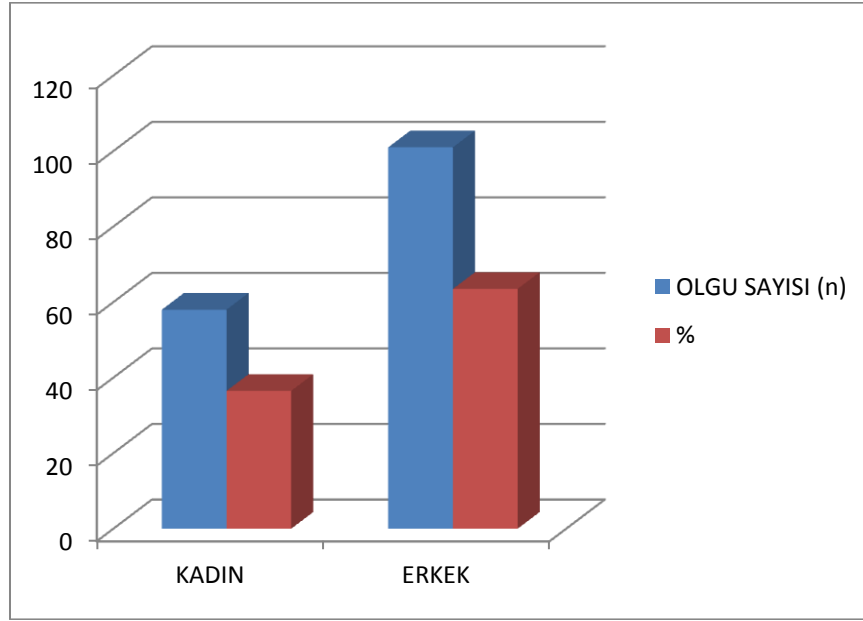
Kİ-67 için %30'un üzerindeki boyanma pozitif, altındaki ise negatif, P53 için % 5 in üzerindeki boyanma pozitif, altındaki ise negatif olarak değerlendirildi.

İstatiksel Analiz

Sonuçların istatiksel değerlendirilmesi Uludağ Üniversitesi Biyoistatistik Anabilim Dalı tarafından SPSS for Windows Ver.13.0 (Chicago,IL.) istatistik paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği incelendikten sonra kategorik veriler için Pearson Ki-Kare testi yapıldı. Anlamlılık düzeyi $p \leq 0.05$ olarak belirlendi.

BULGULAR

Çalışmamızda 2012 yılında 06-12. aylar arasında bölümümüze gelen 159 hastaya ait 224 adenom tanısı alan 707 adet lamı tekrar değerlendirdik. Olgularımızın %36,5'i (n=58) kadın, %63,5'i (n=101) erkekti. E/K oranı=1,74 olarak bulundu (Grafik-1).



Grafik-1: Olguların cinsiyete göre dağılımı.

Olgularımızın yaşlarının median değeri 62.2 yıldır (en genç yaş 19, en ileri yaş 88). Kadınların yaşlarının median değeri 61,3 yıl (en genç yaş 19, en ileri yaş 88), erkeklerin yaşlarının median değeri 62,7 yıldır (en genç yaş 31, en ileri yaş 86). 65 yaş ve üzerindekiilerin sayısı 70, altındakiilerin sayısı 89'dur.

Olgular 1.gözlemci tarafından Ki-67 ve p53 immünohistokimyasal sonuçlarıyla birlikte revize Viyana sınıflamasına göre değerlendirildiğinde 1 (%0,4) olgu '2, kesin olmayan displazi' (Şekil-9), 85 (%37,9) olgu '3, düşük dereceli mukozal neoplazi (Şekil-10-12)', 129 (%57,6) olgu '4.1 yüksek dereceli mukozal neoplazi/adenoma' (Şekil-13-15), 1 (%0,4) olgu '4.2 non invaziv karsinoma(karsinoma in situ-CIS)' (Şekil-16-17), 5 (%2,2) olgu '4.3

şüpheli invaziv karsinoma' (Şekil-18,19), 3 (%1,3) olgu '4.4 intramukozal karsinoma' (Şekil-20, 21, 22) tanısı aldı (Tablo-5).

Tablo-5: Revize Viyana Sınıflandırılmasına göre p53 ve Kİ-67 ile birlikte verilen tanımlar.

Revize Viyana Sınıflandırılmasına göre p53 ve Kİ-67 ile birlikte verilen tanı kategorisi	Olgu sayısı n (%)
Kategori 2	1 (%0.4)
Kategori 3	85 (%37.9)
Kategori 4.1	129 (%57.6)
Kategori 4.2	1 (%0.4)
Kategori 4.3	5 (%2.2)
Kategori 4.4	3 (%1.3)
Toplam	224 (%100)

Kİ-67 proliferasyon indeksi 224 adenom olgusunun 73'ünde (%32,6) düşük, 151'inde (%67,4) yüksek olarak değerlendirildi (Tablo-6).

Tablo-6: Kİ-67 proliferasyon indeksi değerlendirme sonuçları.

Kİ-67 değerlendirme sonucu	Olgu sayısı n (%)
Düşük	73 (%32.6)
Yüksek	151 (%67.4)
Toplam	224 (%100)

p53, 224 adenom olgusunun 65'inde (%29.0) negatif, 159'unda (%71.0) pozitif olarak değerlendirildi (Tablo-7).

Tablo-7: p53 ekspresyonu değerlendirme sonucu.

p53 değerlendirme sonucu	Olgu sayısı n (%)
Negatif	65 (%29.0)
Pozitif	159 (%71.0)
Toplam	224 (%100)

Olgular 1. gözlemci tarafından Kİ-67 ve p53 immünohistokimyasal sonuçlarıyla birlikte revize Viyana sınıflamasına göre değerlendirildiğinde Ki-67 proliferasyon indeksi bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p < 0,001$). 'Kesin olmayan displazi kategori 2' olarak tanı alan 1 (%100) olguda Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek, 'Düşük dereceli mukozal neoplazi, kategori 3' tanısı alan 85 olgunun 12 'sinde (%14.1) Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek, 73 'ünde (% 85.9) düşük, 'Yüksek dereceli mukozal neoplazi/adenoma, kategori 4.1' tanısı alan 129 olgunun hepsinde (% 100) Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek, 'non invaziv karsinoma (karsinoma in situ-CIS), kategori 4.2' tanısı alan 1 olguda (% 100) Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek, 'Şüpheli invaziv karsinoma, kategori 4.3' tanısı alan 5 olguda (%100) Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek, 'Intramukozal karsinom, kategori 4.4 tanısı alan 3 olguda (%100) Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek bulundu. Toplamda 224 olgunun 151 inde (%67.4) Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek, 73 ünde (%32.6) Kİ-67 proliferasyon indeksi düşük olarak değerlendirildi (Tablo-8).

Tablo-8: Revize Viyana Sınıflandırılmasına göre yapılan sınıflamada Ki-67 proliferasyon indeksi.

Revize Viyana Sınıflandırılmasına göre p53 ve Ki-67 ile birlikte verilen tanı kategorisi	Ki-67 proliferasyon indeksi düşük n (%)	Ki-67 proliferasyon indeksi yüksek	P
Kategori 2	0 (%0.0)	1 (%100)	(p<0,001)
Kategori 3	73 (%85.9)	12 (%14.1)	
Kategori 4.1	0 (%)	129 (%100)	
Kategori 4.2	0 (%0.0)	1 (%100)	
Kategori 4.3	0 (%0.0)	5 (%100)	
Kategori 4.4	0 (%0.0)	3 (%100)	

Olgular 1. gözlemci tarafından Ki-67 ve p53 immünohistokimyasal sonuçlarıyla birlikte revize Viyana sınıflamasına göre değerlendirildiğinde p53 immunreaktivitesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0,001). 'Kesin olmayan displazi kategori 2' olarak tanı alan 1 (%100) olguda p53 pozitif, 'Düşük dereceli mukozal neoplazi, kategori 3' tanısı alan 85 olgunun 20'sinde (%23.5) p53 pozitif, 65'inde (% 76.5) negatif, 'Yüksek dereceli mukozal neoplazi/adenoma, kategori 4.1' tanısı alan 129 olgunun hepsinde (% 100) p53 pozitif, 'non invaziv karsinoma(karsinoma in situ-CIS), kategori 4.2' tanısı alan 1 olguda (% 100) p53 pozitif, 'Şüpheli invaziv karsinoma, kategori 4.3' tanısı alan 5 olguda (%100) p53 pozitif, 'İntramukozal karsinom, kategori 4.4' tanısı alan 3 olguda (%100) p53 pozitif bulundu. Toplamda 224 olgunun 159'unda (%71.0) p53 pozitif, 65'inde (%29.0) p53 negatif olarak değerlendirildi (Tablo-9).

Tablo-9: Revize Viyana Sınıflandırılmasına göre yapılan sınıflamada P53 ekspresyonu.

Revize Viyana Sınıflandırılmasına göre p53 ve Ki-67 ile birlikte verilen tanı kategorisi	p53 negatif	p53 pozitif	P
Kategori 2	0 (%0.0)	1(%100)	(p<0,001)
Kategori 3	65 (%76.5)	20 (%23.5)	
Kategori 4.1	0 (%0.0)	129 (%100)	
Kategori 4.2	0 (%0.0)	1 (%100)	
Kategori 4.3	0 (%0.0)	5 (%100)	
Kategori 4.4	0 (%0.0)	3 (%100)	

p53 immunhistokimyasal boyama sonuçları olgularda bulunan Ki-67 proliferasyon indeksi ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0,001). Ki-67 si düşük bulunan 73 olgunun 63'ünde (%86.3) p53 te negatif, 10'unda (%13.7) p53 pozitif olarak değerlendirildi.

Ki-67 proliferasyon indeksi yüksek bulunan 151 olgunun 2'sinde (%1.3) p53 negatif, 149'unda (%98.7) p53 pozitif olarak değerlendirildi (Tablo-10).

Tablo-10: Ki-67 proliferasyon indeksi ve p53 ekspresyonunun karşılaştırılması.

	p53 negatif n (%)	p53 pozitif n (%)	P
Ki-67 proliferasyon indeksi düşük	63 (%86.3)	10 (%13.7)	(p<0,001)
Ki-67 proliferasyon indeksi yüksek	2(%1.3)	149(%98.7)	

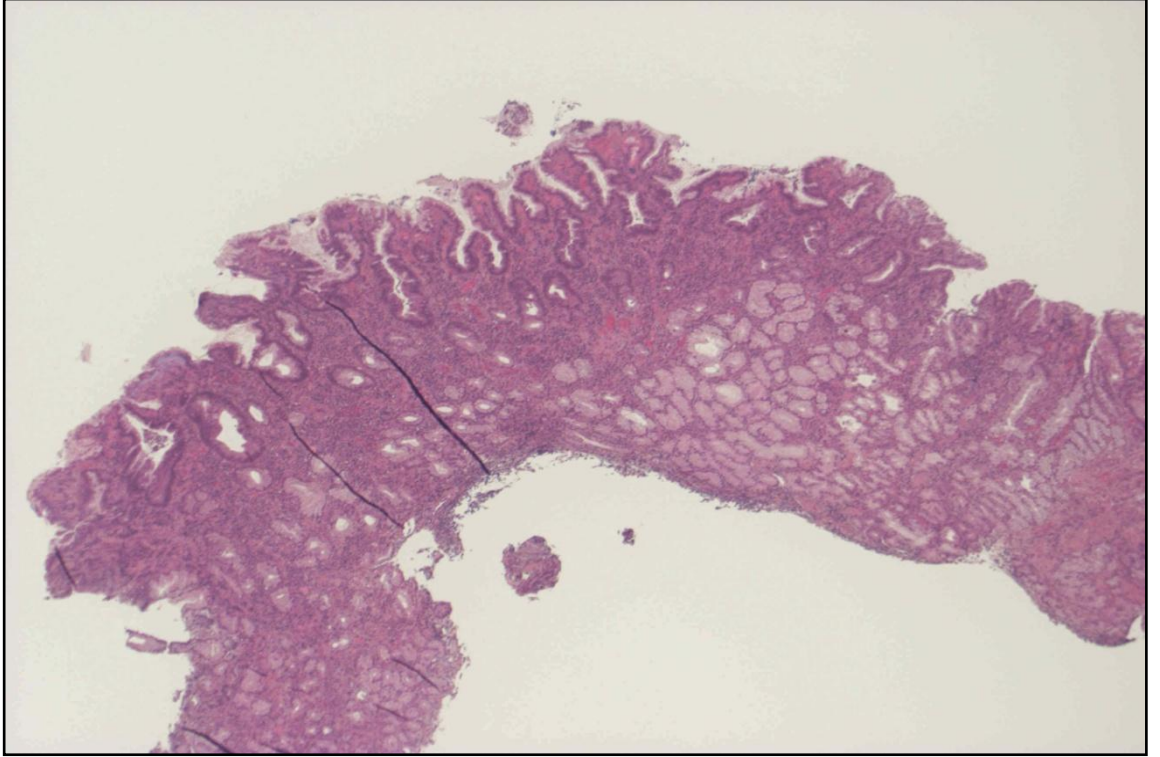
p53 immunhistokimyasal boyama sonuçları olgularda bulunan Kİ-67 proliferasyon indeksi ile tüm kategorilerde ayrı ayrı kıyaslandığında 'kategori 3' te istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0,001$). 'Kesin olmayan displazi kategori 2' olarak tanı alan 1 (%100) olguda p53 pozitif, Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek, 'Düşük dereceli mukozal neoplazi, kategori 3' tanısı alan 85 olguda Kİ-67'si düşük bulunan 73 olgunun 63'ünde (%86.3) p53 negatif, 10'unda (%13.7) p53 pozitif olarak değerlendirildi. Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek bulunan 12 olgunun 2'sinde (%16.7) p53 negatif, 10'unda (%83.3) p53 pozitif olarak değerlendirildi (Tablo-11). 'Yüksek dereceli mukozal neoplazi/adenoma, kategori 4.1' tanısı alan 129 olgunun hepsinde (% 100) p53 pozitif, Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek, 'non invaziv karsinoma (karsinoma in situ-CIS), kategori 4.2' tanısı alan 1 olguda (% 100) p53 pozitif, Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek, 'Şüpheli invaziv karsinoma, kategori 4.3' tanısı alan 5 olguda (%100) p53 pozitif, Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek, 'İntramukozal karsinom, kategori 4.4' tanısı alan 3 olguda (%100) p53 pozitif, Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek bulundu.

Tablo-11: Kategori 3tanısı alan olgularda Kİ-67 proliferasyon indeksi ve p53 ekspresyonunun karşılaştırılması.

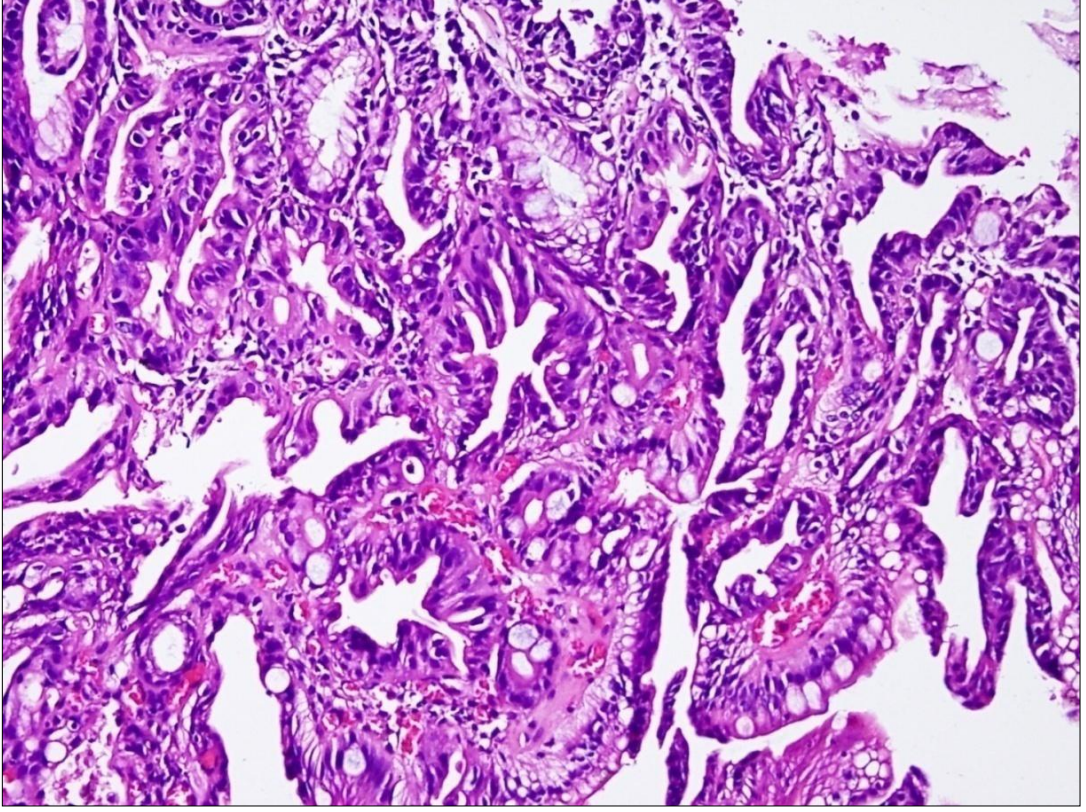
	Kategori 3 p53 negatif n (%)	Kategori 3 p53 pozitif n (%)	P
Kategori:3 Kİ-67 proliferasyon indeksi düşük	63 (%86.3)	10 (%13.7)	(p<0,001)
Kategori:3 Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek	2(%16.7)	10(%83.3)	

Olguların HE boyalı lamları birbirinden bağımsız 3 patolog tarafından 1 aylık bir süre içerisinde değerlendirildiğinde 3 gözlemci arasında %100

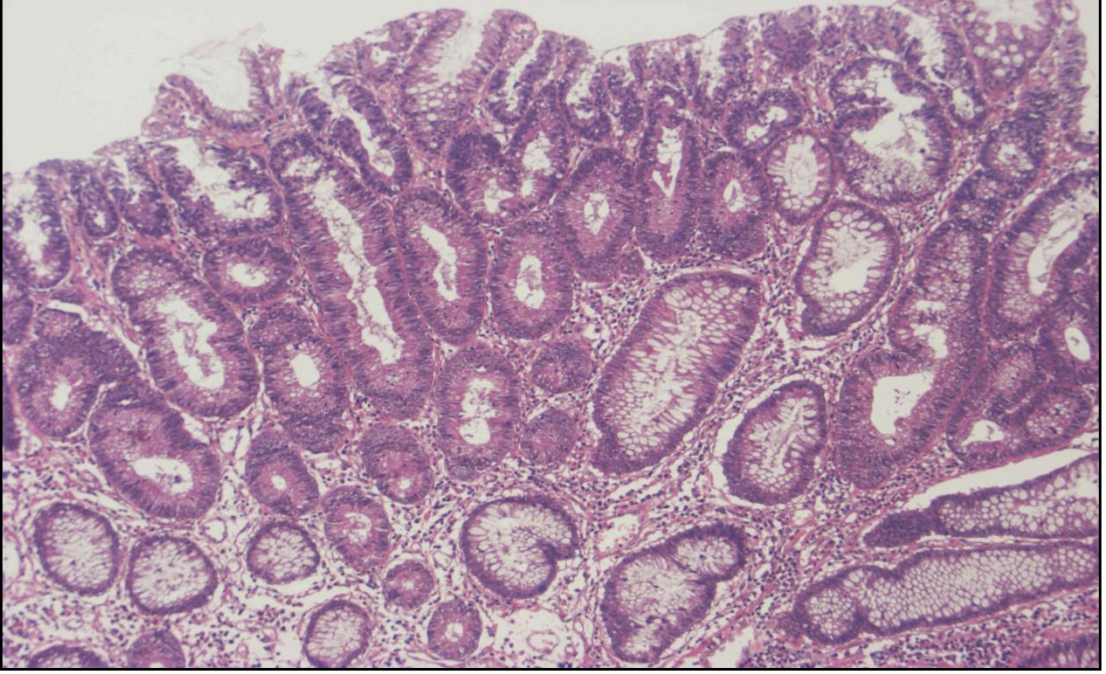
uyumla aynı tanı verilen olgu sayısı 17 (%0.8) bulundu. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde çalışan gastrointestinal sistemde deneyimli patoloğun 'önce sadece H&E boyalı preparatları değerlendirip verdiği tanı ile daha sonra aynı preparatları Ki-67 ve p53 desteğiyle verdiği tanı arasında % 100 uyum gösteren olgu sayısı 130 (%58) bulundu.



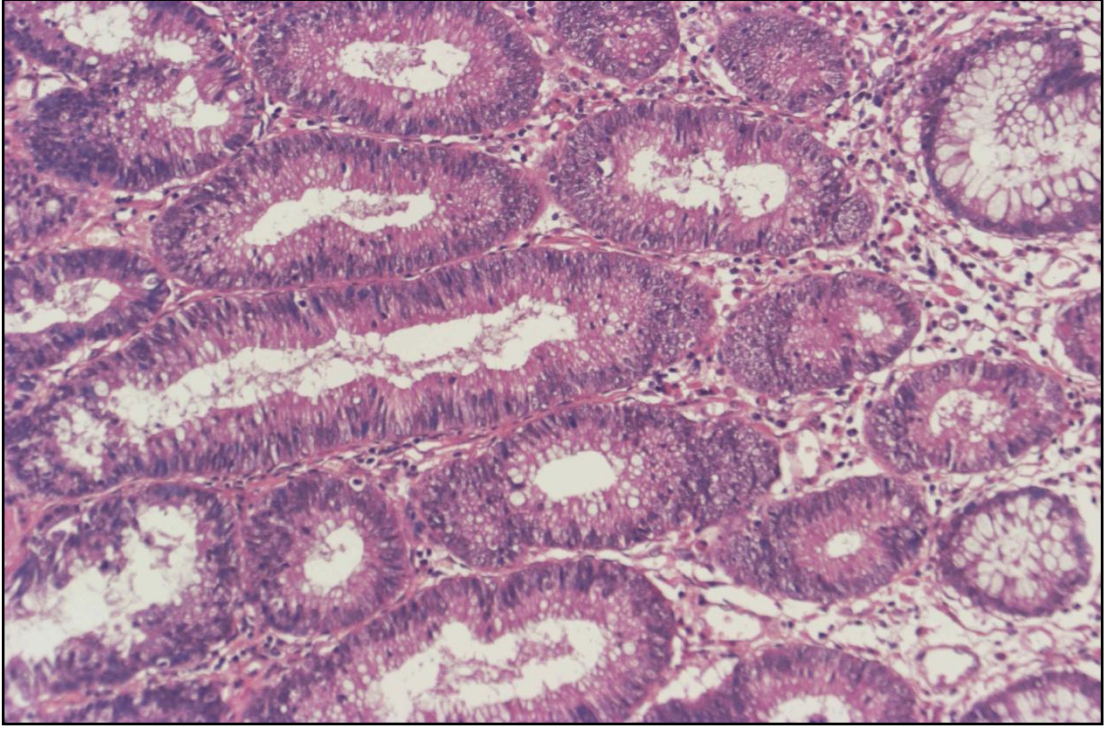
Şekil-8: Negatif displazi (Kategori 1).



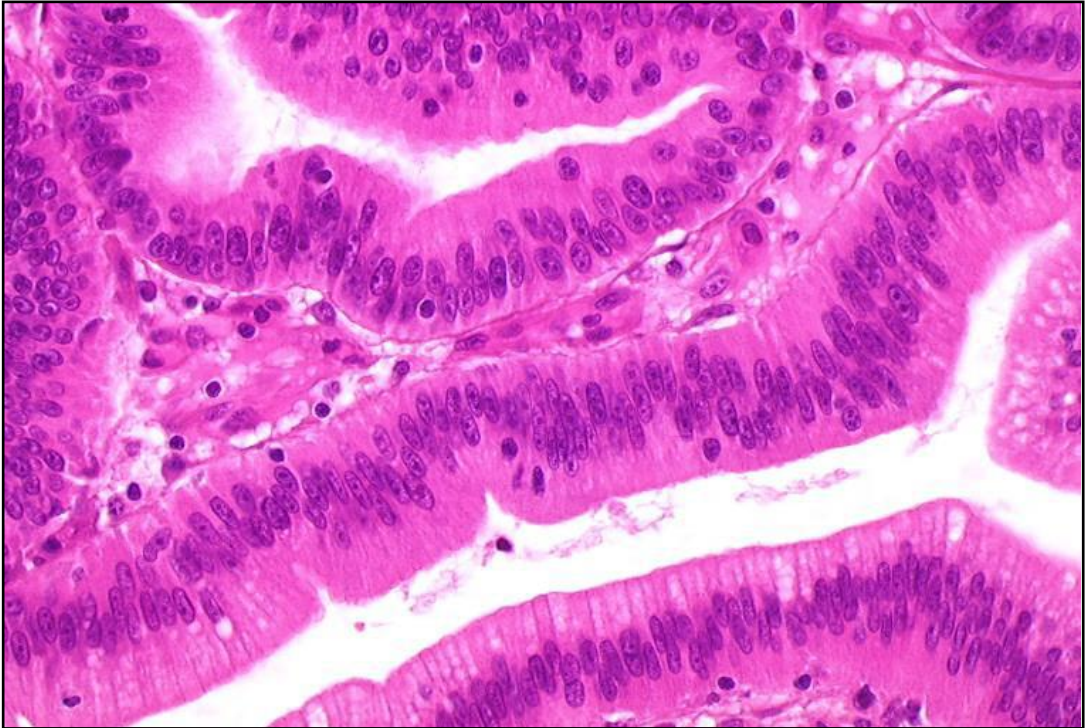
Şekil-9: Kesin olmayan displazi (Kategori 2).



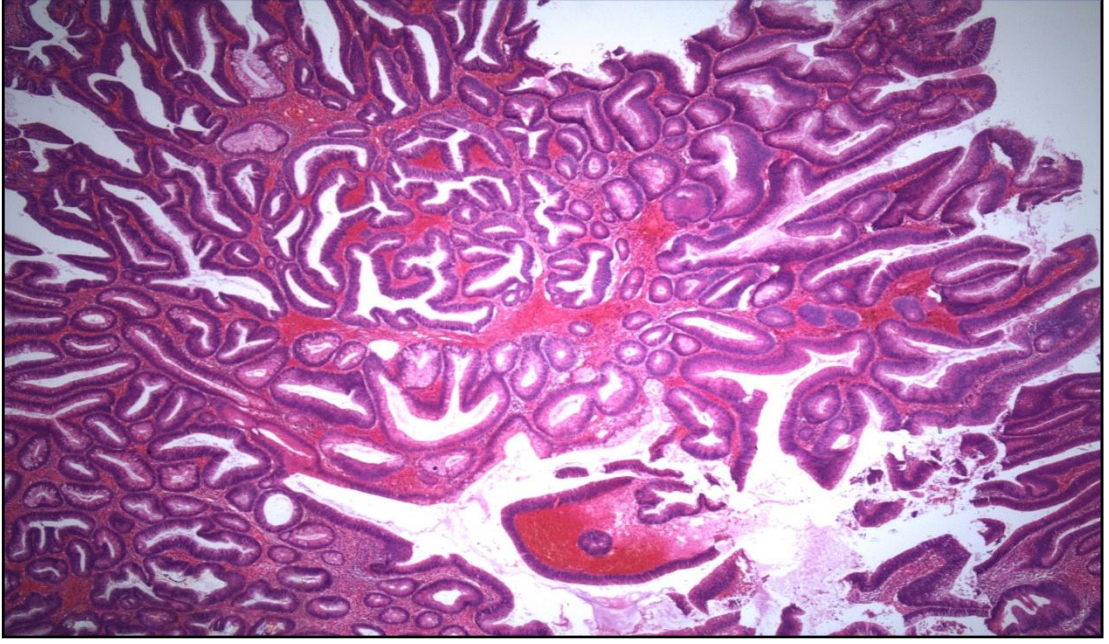
Şekil-10: Non invaziv düşük dereceli neoplazi (Kategori 3).



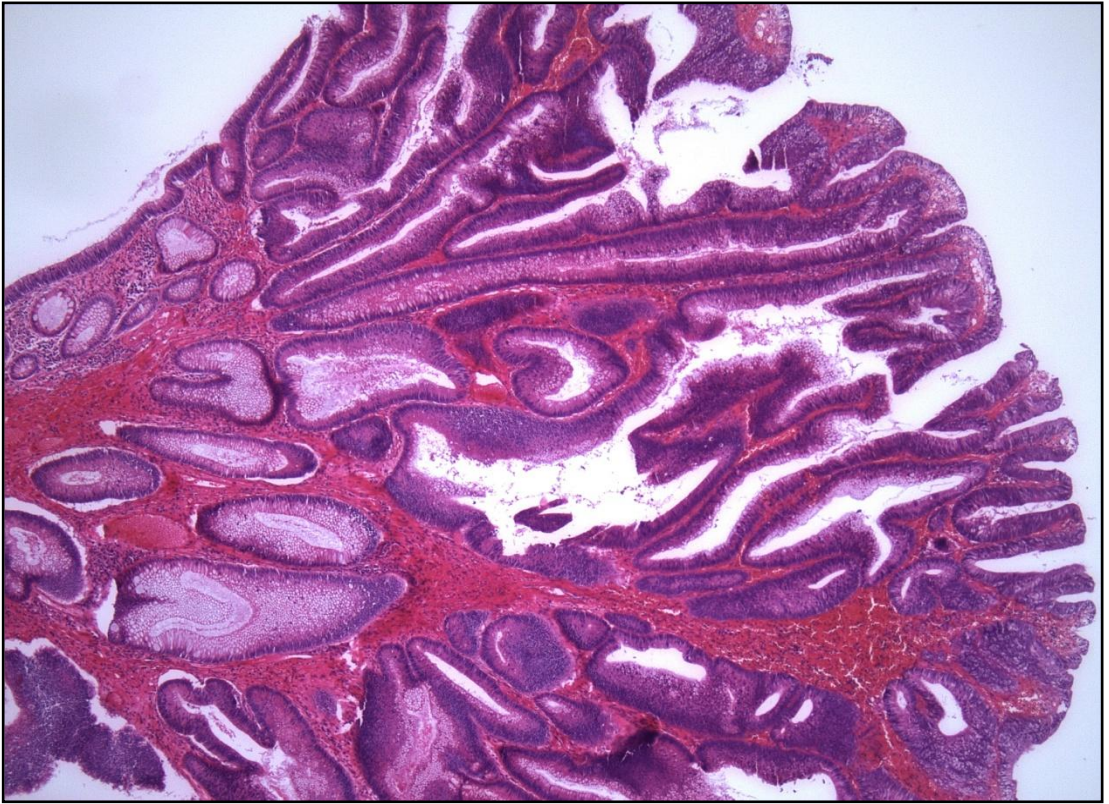
Şekil-11: Non invaziv düşük dereceli neoplazi (Kategori 3).



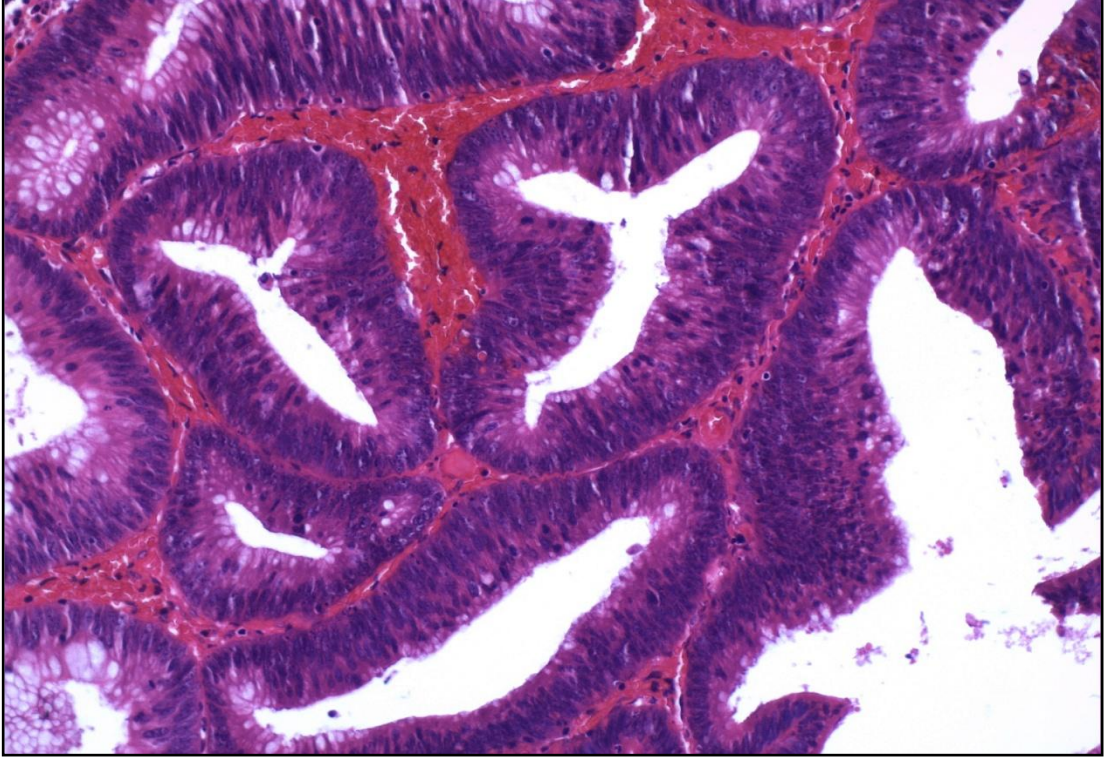
Şekil-12: Non invaziv düşük dereceli neoplazi (Kategori 3).



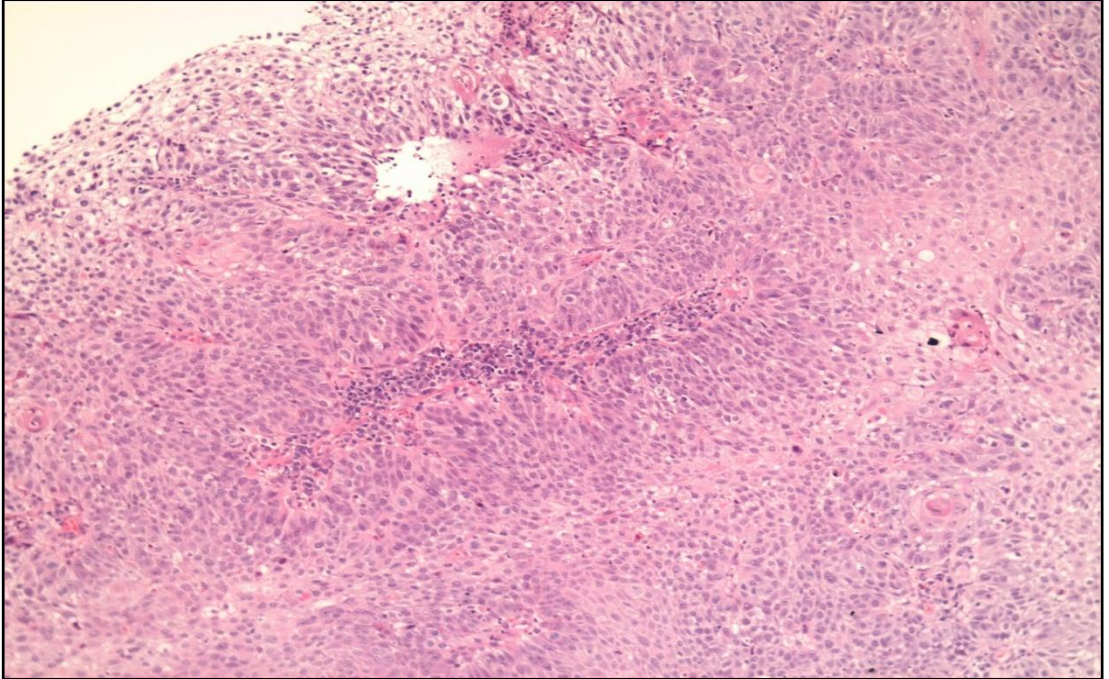
Şekil-13: Non invaziv yüksek dereceli neoplazi (Kategori 4.1).



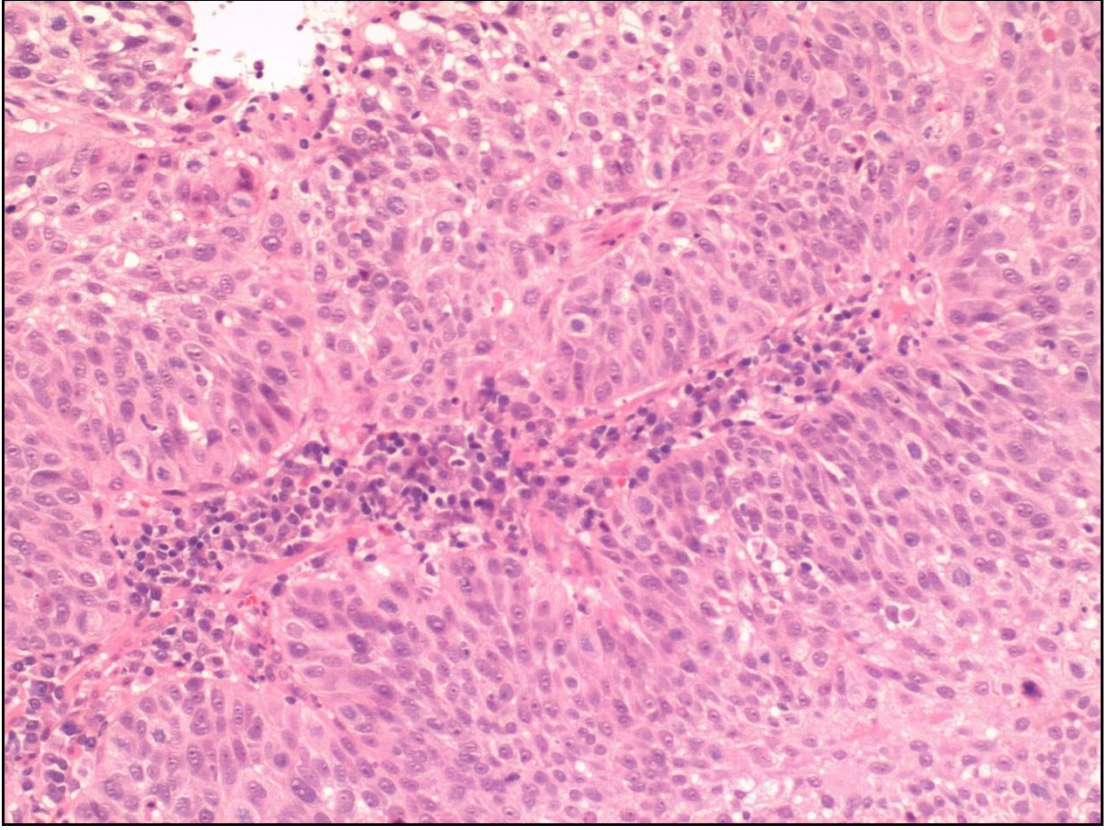
Şekil-14: Non invaziv yüksek dereceli neoplazi (Kategori 4.1).



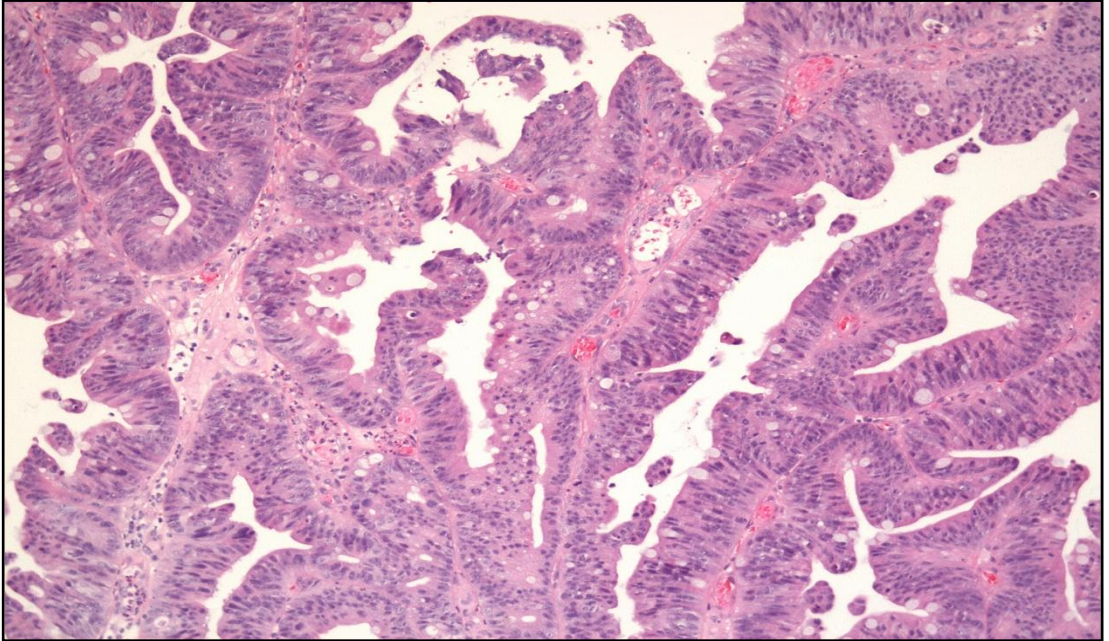
Şekil-15: Non invaziv yüksek dereceli neoplazi (Kategori 4.1).



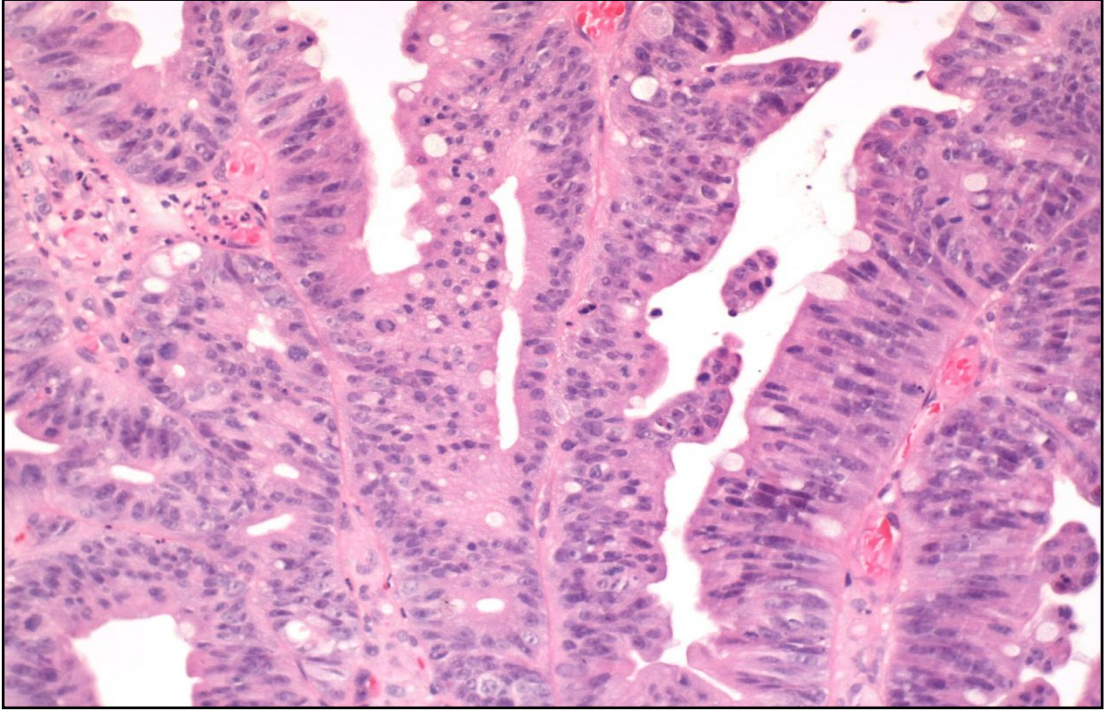
Şekil-16: Non-invaziv karsinoma (CİS)Yüksek dereceli mukozal neoplazi (Kategori 4.2).



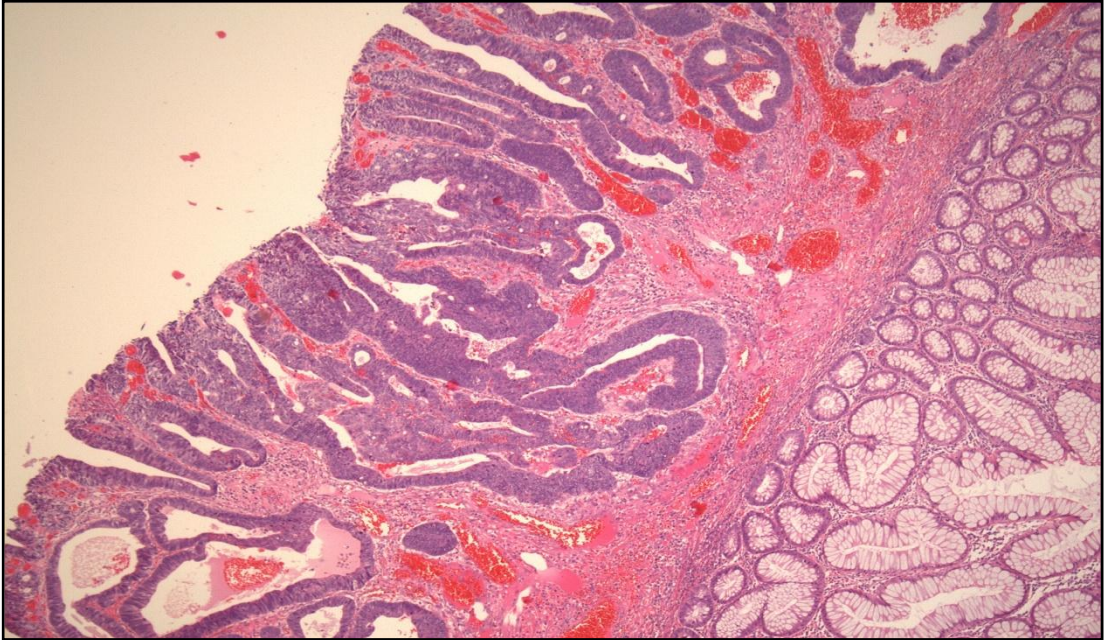
Şekil-17: Non-invaziv karsinoma (CİS)Yüksek dereceli mukozal neoplazi (Kategori 4.2).



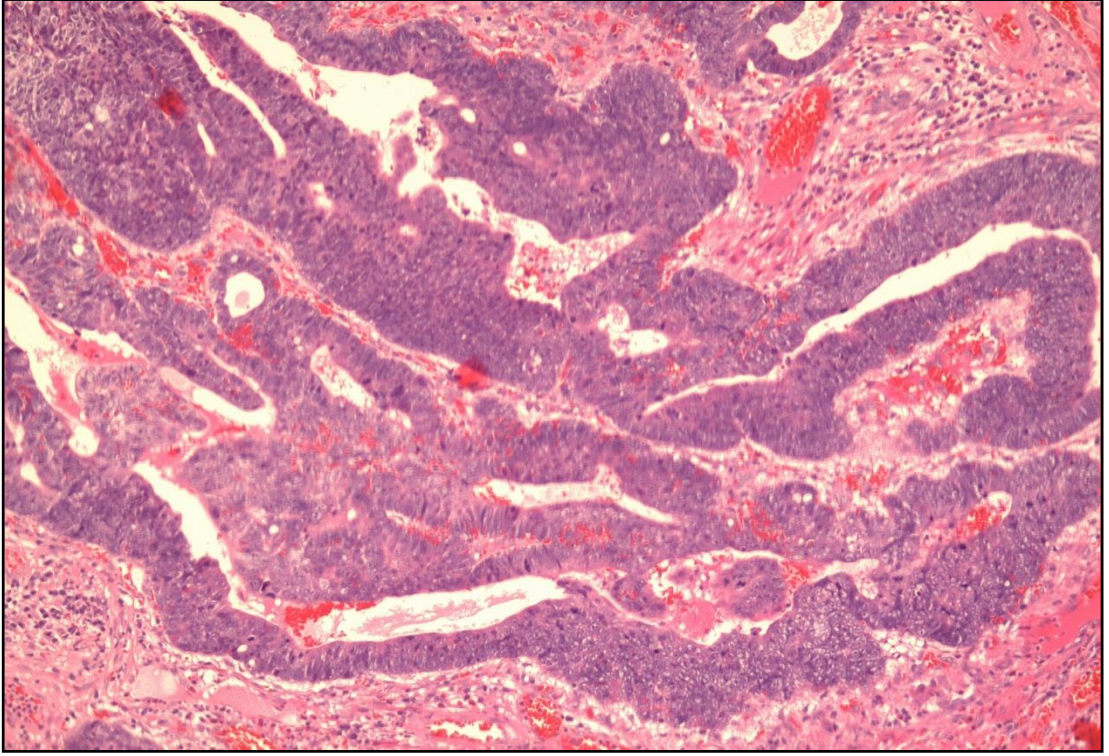
Şekil 18: Şüpheli invaziv karsinom yüksek dereceli mukozal neoplazi (Kategori 4.3).



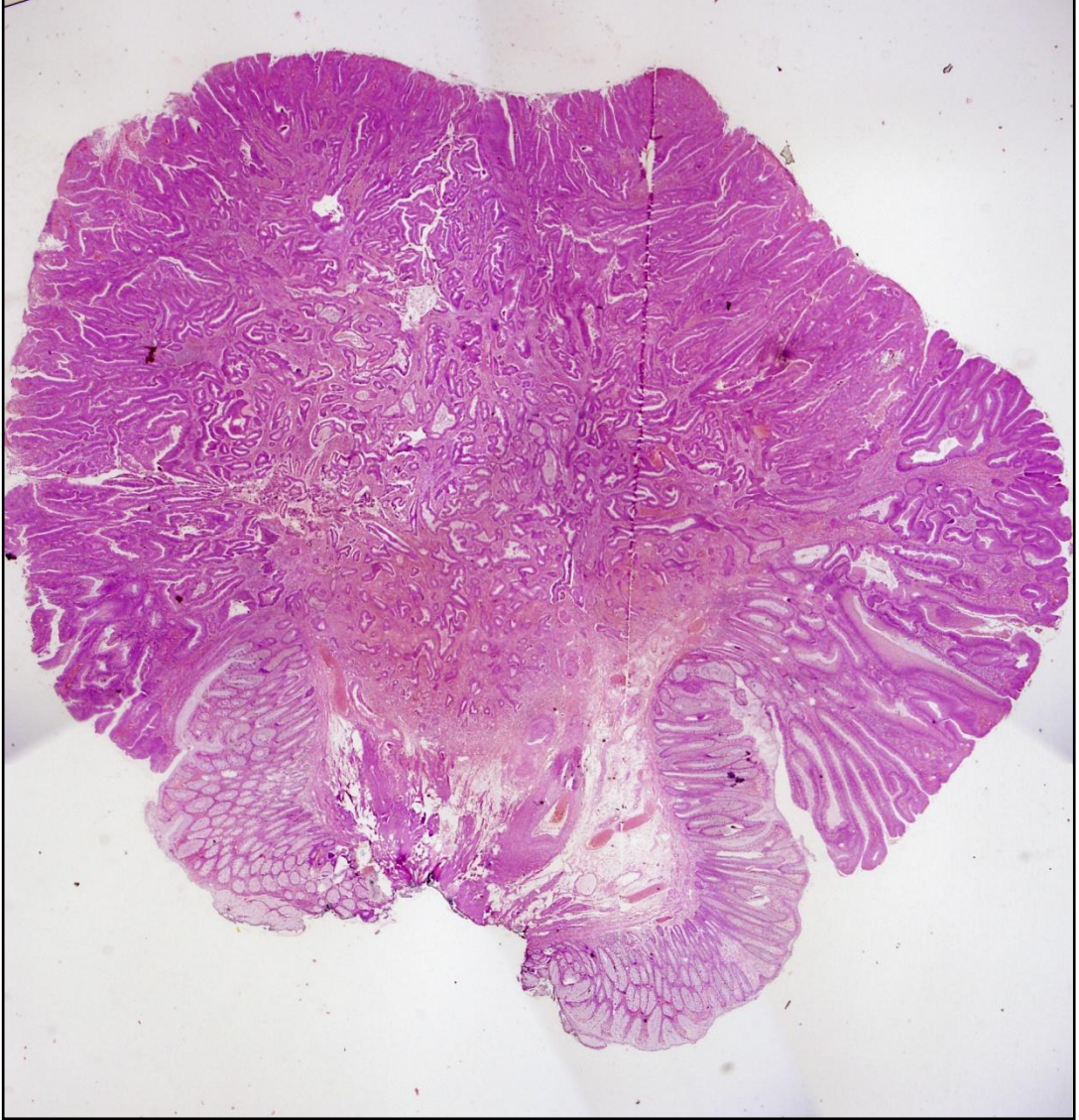
Şekil-19: Şüpheli invaziv karsinom yüksek dereceli mukozal neoplazi (Kategori 4.3).



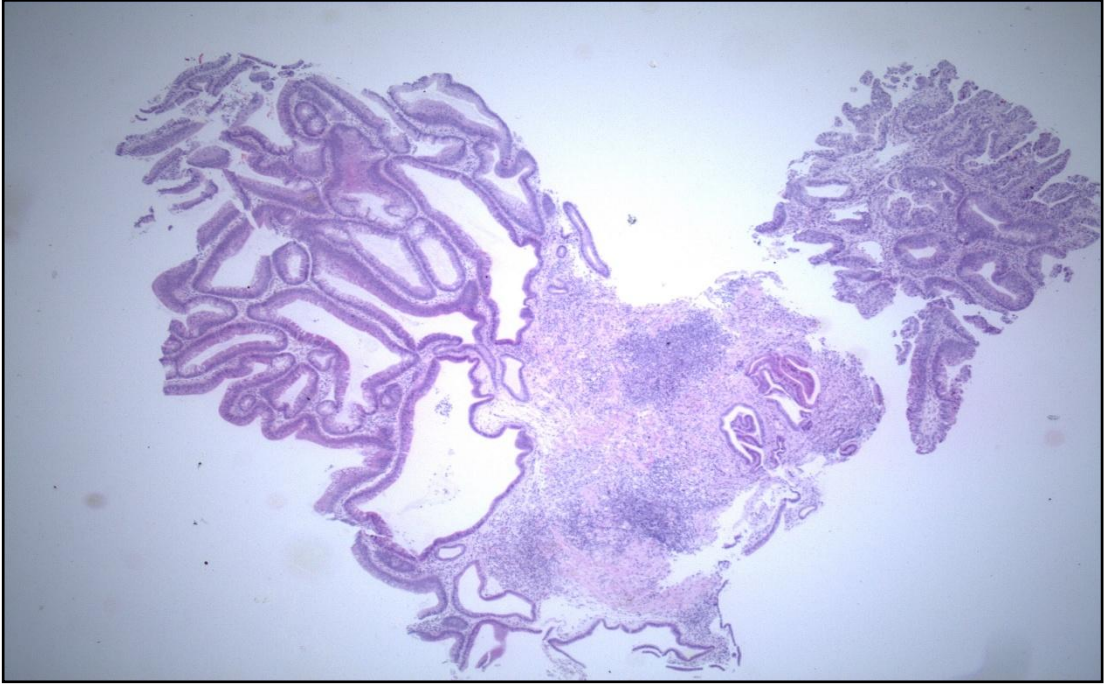
Şekil-20: İntramukozal karsinoma yüksek dereceli mukozal neoplazi (Kategori 4.4).



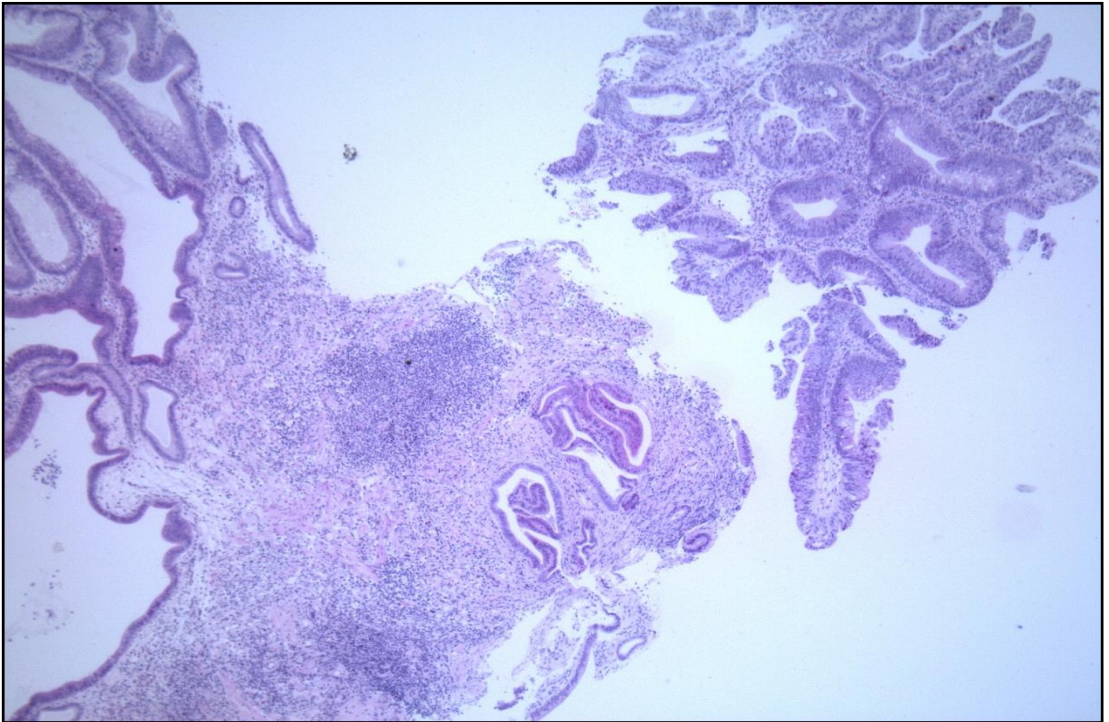
Şekil-21: İntramukozal karsinoma yüksek dereceli mukozal neoplazi (Kategori 4.4).



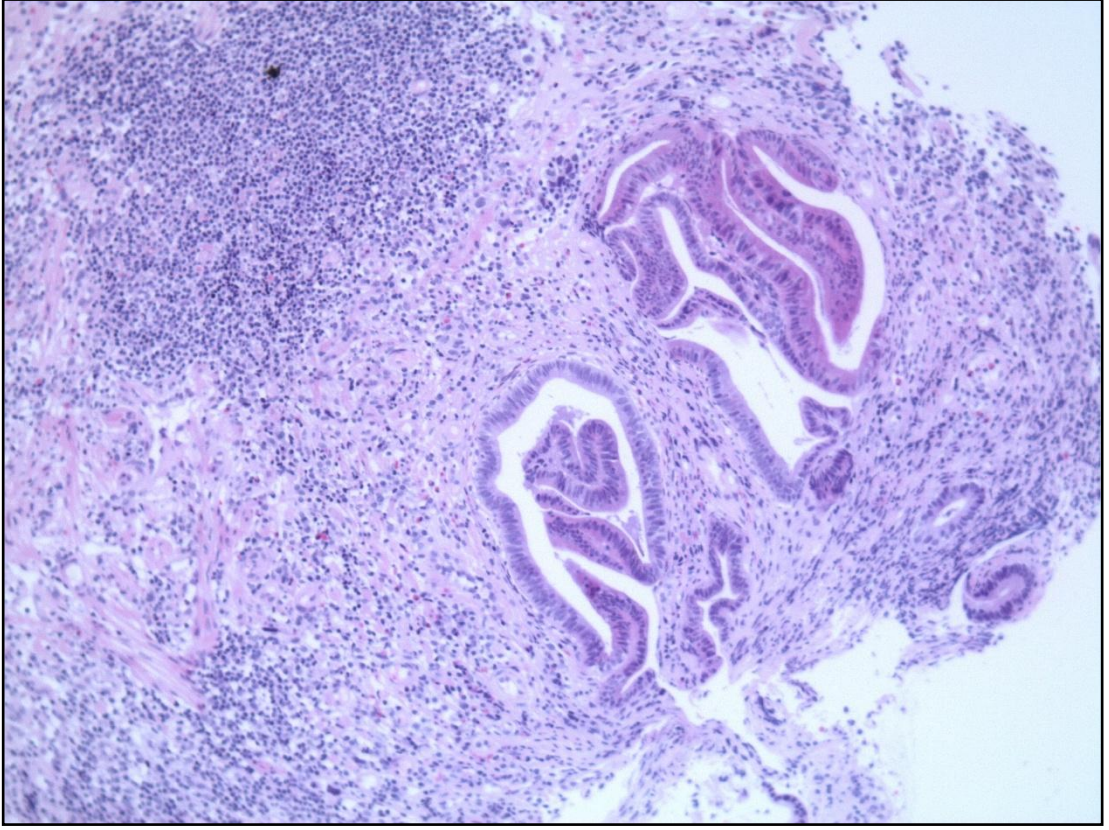
Şekil-22: İnamukozal karsinoma yüksek dereceli mukozal neoplazi (Kategori 4.4).



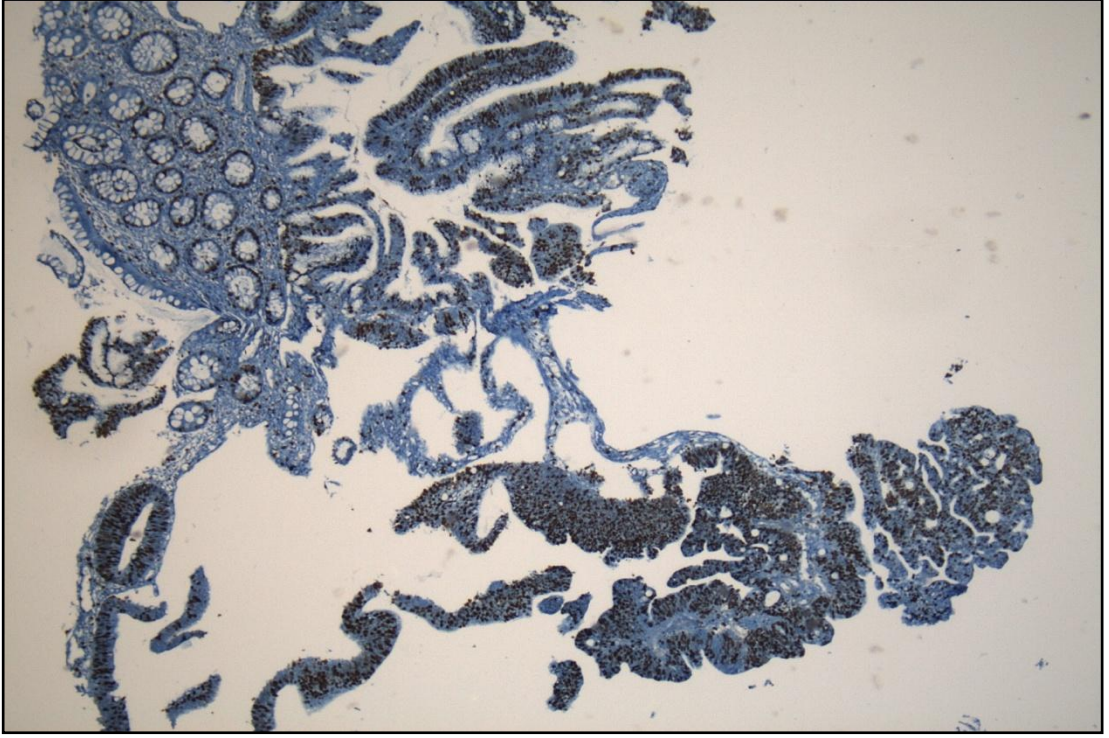
Şekil-23: Submukozal karsinoma (Kategori 5).



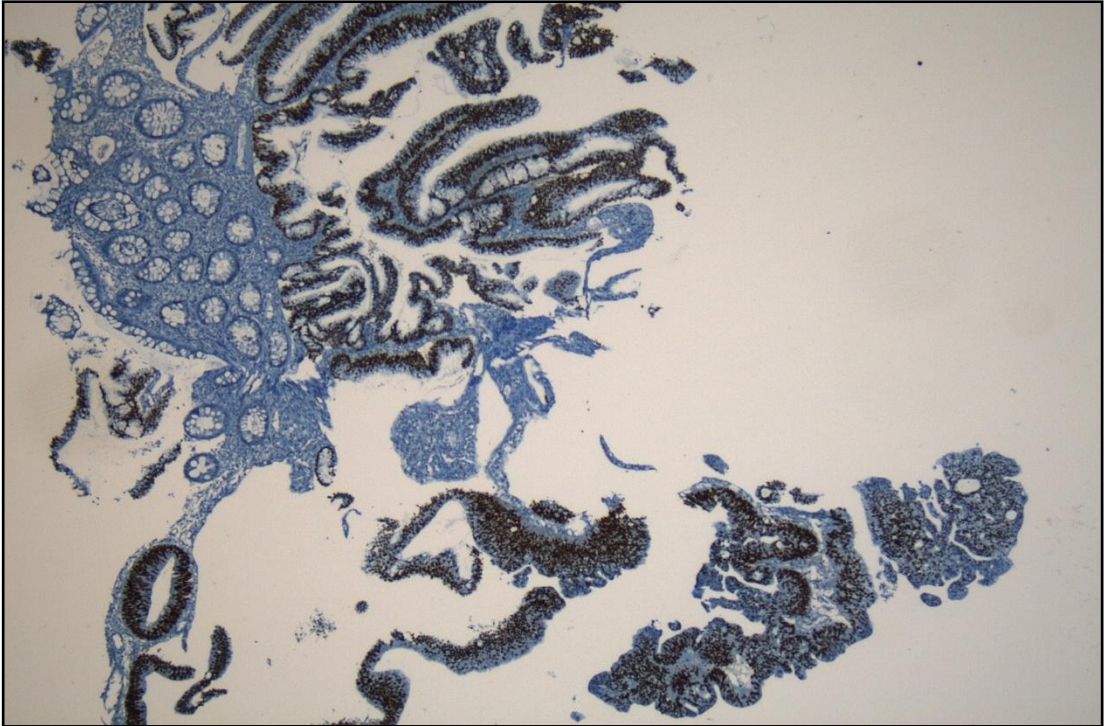
Şekil-24: Submukozal karsinoma (Kategori 5).



Şekil-25: Submukozal karsinoma (Kategori 5).



Şekil-27: Yüksek değerlendirilen Ki-67 proliferasyonu.



Şekil-28: Pozitif değerlendirilen p53 ekspresyonu.

TARTIŞMA

Kolorektal karsinomalar, Batı'da, akciğer ve meme karsinomalarından sonra en sık ölüme neden olan malignite grubunu oluşturmakta ve insidansı birçok ülkede artış göstermektedir (71). Kolorektal kanserde beş yıllık yaşam şansı yaklaşık %40 kadardır. Kolorektal kanser tedavisinde başarı elde edilebilmesi için erken tanınması, bunun için de kolorektal karsinomanın prekürsör lezyonlarının bilinmesi ve kolorektalkarsinogenez modelinin anlaşılması gerekmektedir.

Kolorektal kanser oluşumu ve ilerlemesi ile ilgili faktörlerin bilinmesi, tedavi stratejilerini geliştirmek için büyük önem taşımaktadır. Polipektomi halen kolorektal kanseri önlemek için iyi bir stratejidir (72). Kolorektal kanserlerin gelişmesinde çevresel faktörlerle birlikte genetik faktörler de önemli bir rol oynamaktadır. Hücrel onkogenler, büyüme faktörleri ve reseptörler kolorektal kanserin gelişimi ve büyümesinin düzenlenmesinde rol almakla suçlanmaktadır (72). Kolorektal karsinomaların adenomatöz poliplerden geliştiğine dair güçlü veriler bulunmaktadır. Polipektomi halen kolorektal kanseri önlemek için iyi bir stratejidir (73).

'Genomunun koruyucusu' olarak adlandırılan p53 proteini insan kanser biyolojisinde oldukça fazla çalışılmış genlerden biridir (74). Bu gen kromozom 17'nin kısa kolunda yer alır (75, 76). p53 normalde tümör supresör geni olarak görev alır (74, 75, 77) .

p53 insan kanserlerinde en sık değişikliğe uğrayan genlerdir ve inaktivasyonu insan karsinogenezinde anahtar olay olarak kabul edilmektedir (74, 78-80). İnsan tümörlerinin yarısından fazlasında p53 mutasyonları saptanmıştır (77, 81, 82).

Doğal tip p53 tüm normal memeli hücrelerinin nükleuslarında bulunur (83). p53 oldukça kısa ömürlü (6-20 dakika) bir proteindir. Bu nedenle p53 protein konsantrasyonu genellikle immünohistokimyasal olarak saptanamayacak düzeydedir (77, 81, 83). p53 genindeki mutasyonlar daha uzun ömürlü ürün oluşumuna neden olur (75, 82).

Fonksiyonel doğal tip p53'ün yokluğunda hücrelerde genetik hasar birikir ve bu hücreler artmış genetik instabilite gösterirler (74, 75). Bu etkilerinin yanı sıra p53 yokluğu, anormal hücre büyümesine de yol açar (77, 78).

p53 proteini normal dokularda DNA'ya hasar verici ajanlara yanıt olarak hızla artar (79). Bu gendeki mutasyonlar p53 fonksiyonlarının kaybına, onkojenik fonksiyonların kazanımına neden olur (79). Kolorektal karsinomun etyopatogenezinde p53 gen değişiklikleri önemli bir yer tutmaktadır. Kolon, akciğer, mesane, meme, karaciğer, özagagus, deri, over karsinomlarında yumuşak doku ve osteojenik sarkomlarda ayrıca lenfoma ve lösemilerde p53 gen mutasyonu sık görülmektedir.

Solid tümörlerde p53 gen mutasyonu en sık kolorektal kanserlerde görülmektedir. p53 gen mutasyonu karsinom tanısında ve hastalığın prognozunu yansıtmada önemli bir kriter olarak kabul edilmektedir.

Bizim kullandığımız p53 immünohistokimyasal boyaması, mutant p53'e sahip hücreleri boyayarak, bize genetik anomaliye sahip hücreleri göstermede yardımcı olmaktadır. p53 pozitif kabul edilen adenomalarda boyanma homejen değildi. Pozitif hücrelerin çoğu asinus ve displazi alanlarında tespit edildi. Aynı tubuller içinde negatif ve pozitif boyanan nukleuslar saptandı. p53 pozitif boyanan alanlar yüksek dereceli displazi gösteren alanlarda daha sıklıkla. Yüksek dereceli displazi tanısı almış olan olguların tamamında p53 pozitivitesi izlendi. Bu boyanma oranı düşük dereceli displazi tanısı alan olgularda % 23.5'e düşmekteydi.

Kolorektal karsinomlarda p53 overekspresyonunun hasta prognozu ve prognostik parametrelerle ilgisini irdelemek amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla yapılan çalışmalarda kolorektal karsinomlarda p53 overekspresyonu %42, %46.5, %62 ve % 76 gibi değişik oranlarda bulunmuş olup bunların lenf nodu metastazı, vasküler invazyon, histolojik tip ve tümör invazyon derinliği ile ilişkileri saptanmamıştır (84, 87).

Yamaguchi (88) ve Starzynska'nın (89) çalışmalarında p53 ile pozitif reaksiyon gösteren tümörlerde daha fazla nüks saptanmış ve p53'ün lokal nüks riski yüksek hastaları belirlemek için kullanılabileceği öne sürülmüştür.

Yapılan çalışmaların bir kısmında p53 overekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğu savunulurken bazı çalışmalarda ise prognoz ile herhangi bir ilişki göstermediği belirtilmiştir (85, 90).

Adenomatöz poliplerde yapılan bazı çalışmalarda p53 ekspresyonu %9-11 oranında bulunmuş ve adenomdan karsinoma dönüşümde p53 mutasyonunun rolü olduğu düşünülmüştür (91, 92). Sameshima (85), displazi derecesi arttıkça p53 ekspresyonunun arttığını bildirmiş ve yüksek dereceli adenomlarda %66.7 oranında p53 ekspresyonu saptamıştır. Aynı yazar p53 ekspresyonunun düşük olmasına rağmen p53 mutasyonunun malign transformasyon sırasında erken bir bulgu olabileceğini öne sürmüştür (85).

Yaptığımız çalışmada kolorektal adenomlarda displazi dereceleri ile p53 ekspresyonları arasında anlamlı bir korelasyon tespit ettik, displazi derecesi arttıkça p53 ekspresyonunda arttığını tespit ettik. Düşük dereceli mukozal neoplazilerin bir kısmında p53 ekspresyonu saptamamız yüksek dereceli mukozal neoplazilerin hepsinde p53 ekspresyonu saptamamız bize p53 mutasyon varlığının malign transformasyon sırasında erken bir bulgu olabileceğini düşündürmüştür.

Ki-67 hücre siklusunun aktif fazlarında (G1, S, G2 ve M) eksprese edilir, fakat G0 fazındaki hücrelerde bulunmaz (93).Tümördeki Ki-67 pozitif hücrefraksiyonu sıklıkla hastalığın klinik gidişi ile paraleldir. Çünkü bu yöntemle yalnızca mitoz fazındaki hücreler değil, aynı zamanda proliferatif fazdaki tüm hücreler belirlenebilmektedir. Ki-67 indeksi genel olarak mitoz sayısı ile iyikorelasyon gösterir. Hücre siklusunda Ki-67 ekspresyonu ilk olarak G1 fazını geç dönemlerinde ortaya çıkar ve sonraki tüm fazlarda pozitifdir. Yapılan çeşitli çalışmalarda Ki-67 indeksinin farklı malignitelerle ilişkisi gösterilmiştir (93-95).

Ki-67, hücre proliferasyonunun morfolojik özelliklerini iyi bir şekilde gösteren protein olup, tüm tümörlerde mitotik indeks ve tümör gradelemesinde sıklıkla kullanılır. İmmunohistokimya yöntemi ile Ki-67 için pozitif nükleer boyanma gösteren hücre yüzdesi, proliferasyon indeksini gösterir. Agresif tümörlerde bu oran yüksektir. Birçok sistem tümörlerinde (meme, akciğer, özofagus, böbrek ve prostat kanseri, malign melanom,

nonhodgkin lenfoma, glial tümörler vs.) yüksek Ki-67 oranı, kötü prognostik faktör olarak gösterilmiştir (96).

Proliferasyon aktivite indeksini belirlemek için kullanılan Kİ-67 immünohistokimyasal boyaması ayırıcı tanıda oldukça yararlıdır. Benign-malign ayırımında oldukça güvenli bir belirteç olmasının yanında hastaların yakın takibinin kararına da yardımcı olabilir. Ki-67 indeksi yüksek olan olgular cerrahi sonrası daha yakından takip ve tedavi edilmelidir (97). Kolorektal adenom ve karsinomlarda da Kİ-67 yardımcı parametre olarak yaygın kullanılmaktadır.

Rodavonavic ve ark.'ın (98) 2009 yılında 65 kolorektal adenoma üzerinde Kİ-67 ile yaptıkları prospektif bir çalışmada proliferasyon indeksinin normal mukozadan adenoma doğru arttığını tespit ettiler. Kİ-67 ekspresyonu 10mm'den büyük adenomlarda daha küçüklere göre daha yüksek bulundu. Villöz adenomalarda tubuler adenomalara göre çok daha sık ve güçlü boyanma paterni izlendi. Kİ-67 ekspresyonu yüksek dereceli adenomlarda düşük dereceli adenomlara göre daha kuvvetli ve yüksek bulundu. Sonuç olarak Kİ-67 'nin yüksek reaskyon göstermesi yüksekdereceli atipi ve kolorektal karsinoma lehine ilişkili bulundu. Kİ-67'nin immunhistokimyasal analizinin rutin patolojik değerlendirmenin bir parçası olarak dahil edilebileceğini önermişlerdir.

Vernillo ve ark.'ların (99) yaptığı çalışmada Kİ-67 proliferasyon indeksinin diğer parametrelerle ilişkisi incelendi. Yaş, cinsiyet ve Rodavonavic ve ark'larının çalışmasının aksine adenoma büyüklüğünde anlamlı farklılık izlenmedi.

Shinozaki ve ark. (100) ülseratif kolitli hastalar üzerinde yaptığı bir çalışmada Kİ-67 proliferatif indeksinin displazi alanlarında displazi olmayan alanlara göre daha yüksek bulunduğunu bildirmiştir.

Muneyuki ve ark. (101) birçok farklı protein üzerinde yaptıkları çalışmada kolonda kansersiz mukoza alanlarına göre tümör alanlarında Kİ-67 ekspresyonunun çok yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Sheikh ve ark.'ları kolorektal adenomalar üzerinde Kİ-67 proliferasyon indeksini değerlendirdikleri bir çalışmada diğer çalışmalarla

uyumlu olarak yüksek displazi alanlarında Kİ-67 ekspresyonunu diğer alanlardan daha yüksek bulduklarını bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda kolorektal adenomlarda displazi dereceleri ile Kİ-67 proliferasyon indeksi arasında anlamlı bir korelasyon tespit ettik, displazi derecesi arttıkça Kİ-67 proliferasyon indeksinin yükseldiğini tespit ettik. Düşük dereceli mukozal neoplazilerin bir kısmında Kİ-67 proliferasyon indeksini yüksek saptamamız yüksek dereceli mukozal neoplazilerin hepsinde Kİ-67 proliferasyon indeksini yüksek saptamamız bize şüpheli olsun ya da olmasın tüm adenomatöz poliplerde Kİ-67 proliferasyon indeksini immunhistokimyasal olarak rutinde çalışmamız gerektiğini düşündürmüştür.

Kolorektal kanserin gelişimi ve ilerlemesi ile ilgili literatürde p53 ve Kİ-67 yide içeren çeşitli antikorlar ile yapılan çalışmalar bildirilmiştir. Hemp53 hemde Kİ-67' nin birlikte çalışılıp değerlendirildiği çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

Vernillo ve ark.'larının (99) 68 adenom olgusu üzerinde yaptıkları çalışmada p53 ekspresyonu ve Kİ-67 proliferasyon indeksi arasında anlamlı bir sonuç bildirilmemiştir.

Karamitopoulou ve ark. (102) yaptıkları çalışmada p53 ekspresyonu ve Kİ-67 proliferasyon indeksi arasında uyum tespit etmemişlerdir.

Faris ve ark.'larının yaptığı çalışmada adenoma büyüklüğü ve displazi derecesi ile p53 ekspresyonu ve Kİ-67 proliferasyon indeksi arasında Radovanic ve ark. (98) ve Abdulamir ve ark. ile uyumlu olarak yüksek korelasyon bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda p53 immunhistokimyasal boyama sonuçları olgularda bulunan Kİ-67 proliferasyon indeksi ile kıyaslandığında Kİ-67 si düşük bulunan 73 olgunun 63'ünde (%86.3) p53 te negatif, 10'unda (%13.7) p53 pozitif olarak değerlendirildi ($p < 0.001$).

Kİ-67 proliferasyon indeksi yüksek bulunan 151 olgunun 2'sinde (%1.3) p53 negatif, 149' unda (%98.7) p53 pozitif olarak değerlendirildi.

Kolorektal kanser gelişimi ile ilgili prognostik faktörlerin belirlenmesi kolorektal kanserlerin önlenme programında temel öneme sahiptir. Bu nedenle, p53 ve Kİ-67 nin rutinde adenom olgularında histopatolojik

faktörlerle birlikte değerlendirilmesi prognostik açıdan faydalı olacağı kanısına varılmıştır.

Sonuç olarak p53 proteini adenomların bir kısmında eksprese edilirken, KI-67 proteini tüm adenomalarda eksprese edilir. P53 ekspresyonu yüksek dereceli displazilerde yoğun iken KI-67 proliferasyon indeksi rektal adenomlarda ve yüksek dereceli displazili adenomlarda daha yüksektir.

Gastrointestinal neoplazilerde Viyana sınıflandırması (1988) Viyana'da Gastroenteroloji Dünya Kongresi sırasında düzenlenen bir patolojik work-shopta geliştirilmiştir (Tablo-1). Tanı uyumsuzluklarına neden olan 'yüksek dereceli displazi/adenom, Non-invaziv karsinom ve invaziv karsinom şüphesi' tanıları kategori 4 'Non invaziv yüksek dereceli neoplazi içinde değerlendirildi.' Batılı patoloğların bakış açısı' benimsenerek Viyana sınıflandırılması gastrik, kolorektal ve özefageal lezyonlar için geçerli kılındı. Viyana sınıflandırılması sadece avantajlara sahip değildir, sadece bir ön uzlaşma sağlamıştır.

Viyana sınıflaması histolojik tanıya 'yenilik' getirmese de, özellikle kategori 4 altında toplanan, mukozada sınırlı neoplazilerin tedavisinde lokal tedaviyi ön plana çıkarması ile önem kazanmaktadır. Japonya'da bu grup lezyonlarda uzun zamandır tercih edilen endoskopik cerrahi tedavinin batılı ülkelerde yaygınlık kazanması yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan büyük cerrahi müdahalelerin azalmasına neden olacağı düşünülmektedir. Yeni sınıflamada Japon ve batılı patoloğlar arasındaki tanı tutarsızlıklarını çözmek amaçlanmıştır. Böyle bir çözüm patoloğlar ve klinisyenler arasındaki gastroenteroloji, epidemiyoloji, ve moleküler biyoloji alanlarında araştırma verilerinin daha iyi anlaşılması için daha iyi iletişim kurulabilmesi için katkıda bulunmalıdır. Bu uzlaşma bu alanda daha ileri değerlendirme ve geliştirmeyi amaçlamaktadır.

Bizim çalışmamızda her 3 gözlemci arasında Viyana sınıflamasına göre yapılan değerlendirmede korelasyon oldukça düşük bulundu. Doğru ve kesin sonuç elde edilebilmesi açısından değerlendirmelerin gastrointestinal sistemde deneyimli bir patolog tarafından yapılması gerektiği kanısına vardık.

Ayrıca gastrointestinal sistemde deneyimli olan 1.gözlemcinin olguları sadece H&E boyalı ve p53 ve Kİ-67 immunhistokimyasal boyaları ile birlikte değerlendirmesi arasında anlamlı fark bulundu ($p < 0.001$). Sonuç olarak kolorektal adenom olgularını gastrointestinal sistemde deneyimli bir patolog tarafından ve de rutin olarak p53 ve Kİ-67 immunhistokimyasal boyamaları ile birlikte değerlendirmenin daha faydalı olacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Yec J, Akerkar GA, Hung RK, et al. Colorectal neoplasia: performance characteristics of CT colonography for detection in 300 patients. *Radiology* 2001; 219:685–92.
2. Morson BC. Evolution of the cancer of colon and rectum. *Cancer* 1974; 34:845–49.
3. Mandel JS, Bond JH, Church TR, et al. Reducing mortality from colorectal cancer by screening for fecal occult blood Minnesota Coen Cancer Study. *N Engl J Med* 1993; 328:1365–71.
4. Hardcastle JD, Chamberlain JO, Robinson MH, et al. Randomised controlled trial of faecal-occult-blood screening for Colorectal cancer. *Lancet* 1996; 348:1472–77.
5. Kronborg O, Fenger C, Olsen J, et al. Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test. *Lancet* 1996; 348:1467–71.
6. Selby JV, Friedman GD, Quesenberry CP Jr, et al. A case-control study of screening sigmoidoscopy and mortality from colorectal cancer. *N Engl J Med* 1992; 326:653–57.
7. Newcomb PA, Norfleet RG, Storer BE, et al. Screening sigmoidoscopy and colorectal cancer mortality. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84:1572–5.
8. Schlemper RJ, Hirata I, Dixon MF. The macroscopic classification of early neoplasia of the digestive tract. *Endoscopy* 2002;34:163-8.
9. Wong SC, Chan JK, Lee KC, Hsiao WL. Differential expression of p16/p21/p27 and Cyclin D1/D3 and their relationships to cell proliferation, apoptosis and tumor progression in invasive ductal carcinoma of the breast. *J Pathol* 2001; 194: 36-42.
10. Zuidema GD, Condon ER. Surgery of the alimentary tract. Philadelphia: Shackelford's Publication;1996; 4:114.
11. Carlos J, Jose C, Kelley R. Sindirim sistemi. Temel histoloji. 1.baskı. İstanbul: Barış Kitabevi; 1999: 368-9.
12. Fred TB, Fatima C, Ralph HH. World Health Organization Classification of tumors. 4th edition. Lyons:IARC Pres; 2010.
13. Steven H, Itzkowitz Young S. Polyps and benign neoplasms of the colon. Sleisenger Gastrointestinal Disease. 5.edition. Philadelphia: WB Saunders Company;1993: 1402.
14. Peipins LA, Sandler RS. Epidemiology of colorectal adenomas. *Epidemiol Rev* 1994; 16, 273-4.
15. MacLennan R, Macrae F, Bain C, et al. Randomized trial of intake of fat, fiber, and beta carotene to prevent colorectal adenomas. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87:1760-6.

16. Doniec JM, Löhnert MS, Schniewind B, et al. Endoscopic removal of large colorectal polyps: Prevention of unnecessary surgery? *Dis Colon Rectum* 2003;46:340-8.
17. Jass JR. Hyperplastic polyps of the colorectum – Innocent or guilty? *Dis Colon Rectum* 2001;44:163-6.
18. Kalaycı G. Kolon kanserleri. Genel cerrahi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2002: 2:1343–59.
19. Rustgi AK. Hereditary gastrointestinal polyposis and nonpolyposis syndromes. *N Engl J Med* 1994; 331:1694-702.
20. Hamilton SR, Liu B, Parsons RE, et al. The molecular basis of Turcot's syndrome. *N Engl J Med* 1995; 332:839-47.
21. Malazgirt Z. Kolon kanseri etyolojisi. Genel cerrahi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1996.
22. Topuz E, Aykan FN. Sindirim sistemi kanserleri. İstanbul Üniversitesi. Onkoloji Enstitüsü Yayınları;1998; 373–475.
23. Riddell RH, Goldman H, Ransohoff DF, et al. Dysplasia in inflammatory bowel disease: Standardized classification with provisional clinical applications. *Hum Pathol* 1983; 14:931-68.
24. Schlemper RJ, Kato Y, Stolte M. Review of histological classifications of the gastrointestinal epithelial neoplasia: differences in diagnosis of early carcinomas between Japanese and Western pathologists. *J Gastroenterol* 2001;36: 445- 56.
25. Stolte M. Diagnosis of gastric carcinoma: Japanese fairy tales or Western deficiency? *Virchows Arch* 1999; 434: 279- 80.
26. Isenberg G. Differences in the diagnostic criteria used by Japanese and western pathologists to diagnose colorectal carcinoma. *Gastrointest Endosc.* 1999; 50: 446-7.
27. Schlemper RJ, Riddell RH, Kato Y, et al. The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. *Gut* 2000; 47: 251- 5.
28. Stolte M. The new Vienna classification of epithelial neoplasia of the gastrointestinal tract: advantages and disadvantages. *Virchows Arch* 2003; 442: 99-106.
29. Jass JR, Sobin LH. Histological typing of intestinal tumours. WHO international histological classification of tumours. 2nd edition. New York, Tokyo, Heidelberg, Berlin: Springer; 1989. 29- 40.
30. Klug WS, Cummings MR. Genetik kavramlar. Öner C (çeviri editörü). Ankara: Palme Yayıncılık; 2002.
31. Strachan T, Read AP. Human molecular genetics 3. 3rd edition. New York: Garland Science; 2004.
32. Chung DC. The genetic basis of colorectal cancer: Insights into critical pathways of tumorigenesis. *Gastroenterology* 2000;119:854-65.
33. Lynch JP, Hoops TC. The genetic pathogenesis of colorectal cancer. *Hematol Oncol Clin N Am* 2002; 16: 775-810.
34. Roncucci L, Pedroni M, Vaccina F. Aberrant crypt foci in colorectal carcinogenesis. Cell and crypt dynamics. *Cell prolifer* 2000; 33:1-18.
35. Burgart LJ. Colorectal polyps and other precursor lesions. Need for an expanded view. *Gastroenterol Clin N Am* 2002; 31: 959-70.

36. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al. Genetic alterations during colorectal tumor development. *N Eng J Med* 1988; 319:525-32.
37. Lino H, Jass JR, Simms LA, et al. DNA microsatellit instability in hyperplastic polyps, serrated adenomas and mixed polyps a mild mutator pathway for colorectal carcinoma? *J Clin Pathol* 1999; 52:5-9.
38. Matsumoto T, Mizuno M, Shimizu M. Clinical pathological features of serrated adenoma of the colorectum: comparison with traditional adenoma. *J Clin Pathol* 1999; 52: 513-6.
39. Houlston RS. What we could do now: molecular pathology of colorectal cancer. *Mol Pathol* 2001; 54: 206-14.
40. Shpitz B, Bomstein Y, Mekori Y, et al. Aberrant crypt foci in human colons: distribution and histomorphologic charecteristics. *Hum Pathol* 1998; 29: 469-75.
41. Cooper GM, Hausman RE. Hücre. Moleküler yaklaşım. Sakızlı M, Atabey N (çeviri editörleri). 3.baskı. İzmir: İzmir Tıp Kitabevi; 2006.
42. Itzkowitz SH, Rochester J. Colonic polyps and polyposis syndromes. In: Feldman M, Fiedman LS, Brandt LJ (eds.) *Gastrointestinal and liver disease*. 8th edition. Philadelphia: Saunders Elsevier;2006. 2713-57.
43. Kaiser AM, Nunoo-Mensab JW, Berarb LW Jr. Tumors of the colon. In: Zinner MJ, Ashley SW (eds). *Maingot's abdominal operations*. 11th edition. New York: The McGraw-Hill Companies Inc; 2007. 625-9.
44. Bullard KM, Rothenberger DA. Colon, rectum, and anus. In: Brunnicardi FC, Andersen DK, et al. (eds) *Schwartz's principles of surgery*. 8th edition. New York: The McGraw-Hill Companies Inc. 2005. 1055-117.
45. Fry RD, Mahmoud N, Maron DJ, Ross HM. Colon and rectum. In: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL (eds). *Sabiston textbook of surgery*. 18th edition. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2008. 1348-432.
46. Itzkowitz SH, Rochester J. Colonic polyps and polyposis syndromes. In: Feldman M, Fiedman LS, Brandt LJ (eds). *Gastrointestinal and liver disease*. 8th edition. Philadelphia: Saunders Elsevier;2006. 2713-57.
47. Corman ML. Carcinoma of the colon. In: Corman ML (ed). *Colon & rectal surgery*. 5th edition. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins; 2005. 767-903.
48. Kikuchi-Yanoshita R, Konishi M, Ito S, et al. Genetic changes of both p53 alleles associated with the conversion from colorectal adenoma to early carcinoma in familial adenomatous polyposis and nonfamilial adenomatous polyposis patients. *Cancer Res* 1992; 52: 3965-71.
49. Fry RD, Mahmoud N, Maron DJ, Ross HM. Colon and rectum. In: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL (eds). *Sabiston textbook of surgery*. 18th edition. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2008. 1348-432.
50. Macdonald F, Ford CHJ, Casson AG. *Molecular biology of cancer*. 2nd edition. London and Newyork: BIOS Scientific Publishers; 2004.

51. Plummer M. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Cervical carcinoma and reproductive factors: collaborative reanalysis of individual data on 16,563 women with cervical carcinoma from 25 epidemiological studies. *Int J Cancer* 2006; 119: 1108-24.
52. Munoz N, Franceschi S, Bosetti C, et al. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002; 359: 1093-101.
53. Kumar V, Abbas A.K, Fausto N. The female genital tract. In: Robbins and Cotran (eds). *Pathologic basis of disease*. 7th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. 1059-118.
54. Androutsos G. The outstanding British surgeon Percivall Pott (1714-1789) and the first description of an occupational cancer. *J BUON* 2006; 11: 533-9.
55. Robert JM, Sherr CJ. Bared essentials of CDK2 and cyclin E. *Nat Genet* 2003; 35: 9-10.
56. Birt DF. Report on carcinogens. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. National Toxicology Program 2005: 10-3.
57. Özarmağan S, Tezelman S. Paratiroid hastalıkları. In: Kalaycı G (ed). *Genel cerrahi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2002. 467-80.
58. Smith, G. Carey, FA, Beattie, J. Mutations in APC Kirsten-ras, and p53-alternative genetic pathways to colorectal cancer. *PNAS* 2002;99:9433-8.
59. Rupnarain C, Dlamini Z, Naicker S, et al. Colon cancer: genomics and apoptotic events, *Biol Chem* 2005; 449-64.
60. Slattery ML, Curtin K, Ma K, et al. Diet, activity, and lifestyle associations with p53 mutations in colon tumours. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11:541-8.
61. Krajewska WM, Stawilska M, Bryw M, et al. Genotyping of p53 codon 175 in colorectal cancer. *Med Sci Monit* 2003;9:228-31.
62. Huisman MA, De Heer E, Grote JJ. Cholesteatoma epithelium is characterized by increased expression of Ki-67, p53 and p21, with minimal apoptosis. *Acta Otolaryngol* 2003; 123: 377-82.
63. Oosterhuis JW, Schapers RF, Janssen-Heijnen ML, et al. MIB-1 as a proliferative marker in transitional cell carcinoma of the bladder. Clinical significance and comparison with other prognostic factors. *Cancer* 2000; 11: 2598-605.
64. Volmar K, Chan T. De Marzo A, et al. Florid von Brunn nests mimicking urothelial carcinoma a morphologic and immunohistochemical comparison to the nested variant of urothelial carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2003; 23: 1243-52.
65. Popov Z, Hoznek A, Clombel M, et al. The prognostic value of p53 nuclear overexpression and MIB-1 as a proliferative marker in transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer* 1997;15: 1472-81.
66. Compérat E, Camparo P, Haus R, et al. Immunohistochemical expression of p63, p53 and MIB-1 in urinary bladder carcinoma. A

- tissue microarray study of 158 cases. *Virchows Arch* 2006; 448: 319-24.
67. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000; 182: 311-22.
 68. Rosai J. Bladder in Rosai and Ackerman's surgical pathology. 9th edition. China: Mosby; 2004. 1317-59.
 69. İliksı Gözü H, Ege AG, Sargın H, et al. Proliferation activity in parathyroid adenomas and its relation to the clinical parameters. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism* 2006;3; 57-61.
 70. Mehmet K, Filiz K, Sancar B, et al. Kolorektal karsinomlarda e-kadherin ve Ki-67 ekspresyonunun evre, histolojik tip ve derece ile ilişkisi. *Türk Patoloji Dergisi* 2005; 21: 8-19
 71. Ponz De Leon M, Di Gregorio C. Pathology of colorectal cancer. *Digest Liver Dis* 2001; 33: 372-88.
 72. Edwards BK, Howe HL, Ries LA, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1973-1999, featuring implications of age and aging on U.S. cancer burden. *Cancer* 2002;94: 2766-92.
 73. Citarda F, Tomaselli G, Capocaccia R, et al. Efficacy in standard clinical practice of colonoscopic polypectomy in reducing colorectal cancer incidence. *Gut*. 2001;48:812-5.
 74. Irwin MS, Kaelin Jr WG. Role of the newer p53 family proteins in malignancy. *Apopitosis* 2001;6:17-29
 75. Shimizu T, Oga A, Murakami T, et al. Overexpression of p53 protein associated with proliferative activity and histological degree of malignancy in solar keratosis. *Clinical and Laboratory Investigations* 1999;199:113-8.
 76. Ribeiro-Silva A, Ramalho LN, Garcia SB, et al. The relationship between p63 and p53 expression in normal and neoplastic breast tissue. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:336-40.
 77. Hall PA, Campbell SJ, O'Neill M, et al. Expression of the p53 homologue p63alpha and deltaNp63alpha in normal and neoplastic cells. *Carcinogenesis* 2000;21:153-60.
 78. Parsa R, Yang A, McKeon F, et al. Association of p63 with proliferative potential in normal and neoplastic human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1999;113:1099-105.
 79. Batinac T, Zamolo G, Jonjic N, et al. p53 protein expression and cell proliferation in non-neoplastic and neoplastic proliferative skin diseases. *Tumori* 2004;90:120-7.
 80. Liang SB, Ohtsuki Y, Furihata M, et al. Sunexposure and aging-dependent p53 protein accumulation results in growth advantage for tumour cells in carcinogenesis of nonmelanocytic skin cancer. *Virchows Archiv* 1999;434:193-9.
 81. Lu S, Tiekso J, Hietanen S, et al. Expression of cell-cycle proteins p53, p21 (WAF-1), PCNA and ki-67 in benign, premalignant and malignant skin lesions with implicated HPV involvement. *Acta Dermato Venereologica* 1999;79:268-73.

82. Marchesa P, Fazio VW, Oliart S, Goldblum JR, Lavery IC. Perianal Bowen's disease: a clinicopathologic study of 47 patients diseases of the colon and rectum 1997;40:268-73.
83. Hannuksela-Svahn A, Pääkkö P, Autio P, et al. Expression of p53 protein before and after PUVA treatment in psöriasis. Acta Dermato Venereologica 1999;79:195-9.
84. Smith DR, Ji CY, Goh HS. Prognostic significance of p53 overexpression and mutation in colorectal adenocarcinomas. Br J Cancer 1996; 74:216-23.
85. Sameshima S, Kubota Y, Sawada T, et al. Overexpression of p53 protein and histologic grades of displasia in colorectal adenomas. Dis Colon Rectum 1996;39: 562-7.
86. Scott N, Sagar P, Stewart J, et al. P53 in colorectal cancer: clinicopathological correlation and prognostic significance. Br J Cancer 1991;63:317-9.
87. Purdie CA, O'Grady J, Piris J, et al. P53 expression in colorectal tumors. Am J Pathol 1991; 138: 807-13.
88. Yamaguchi A, Kurosaka Y, Fushida S, et al. Expression of p53 protein in colorectal cancer and its relationship to short-term prognosis. Cancer 1992;70:2778-84.
89. Starzynska T, Bromley M, Marlicz K, et al. Accumulation of p53 in relation to long term prognosis in colorectal carcinoma. Eur J Gastroenterol Hepatol 1997;9:183-6.
90. Paradiso A, Simone G, Lena MD, et al. Expression of apoptosis-related markers and clinical outcome in patients with advanced colorectal cancer. Br J Cancer 2001; 84 :651-8.
91. Kawasaki Y, Monden T, Morimoto H, et al. Immunohistochemical study of p53 expression in microwavw-fixed, parafin embedded sections of colorectal carcinoma and adenoma. Am J Clin Pathol 1992; 97:244-9.
92. Campo E, Calle-Martin O, Miquel R, et al. Loss of heterozygosity of p53 gene expression in human colorecatl carcinomas. Cancer res 1991; 51:4436-42.
93. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. J Immunol 1984;133: 1710-5.
94. Mighell AJ, Robinson PA, Hume WJ. PCNA and Ki-67 immunoreactivity in giant cell fibroma and peripheral giant cell granuloma. J Oral Pathol Med 1996; 25:193-9.
95. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: From the known and the unknown. J Cell Physiol 2000; 182: 311-22.
96. Dahmoun M, Boman K, Cajander S, et al. Apoptosis, proliferation, and sex hormone receptors in superficial parts of human endometrium at the end of the secretory phase. J Clin Endocrinol Metab 1999;84:1737-43.
97. Farnebo F, Auer G, Farnebo LO, et al. Evaluation of retinoblastoma and Ki-67 immunostaining as diagnostic markers of benign and malignant parathyroid disease. World J Surg 1999;23:68-74.

98. Radovanovic-Dinic B, Nagorni A, Katic V, et al. An immunohistochemical study of Ki-67 in colorectal adenoma. *Med Arh* 2009;63:16-8.
99. Vernillo R, Lorenzi B, Banducci T, et al. Immunohistochemical expression of p53 and Ki-67 in colorectal adenomas and prediction of malignancy and development of new polyps. *Int J Biol Markers* 2008;23:89-95.
100. Shinozaki M, Watanabe T, Kubota Y, et al. High proliferative activity is associated with dysplasia in ulcerative colitis. *Dis Colon Rectum* 2000;43:34-39.
101. Muneyuki T, Watanabe M, Yamanaka M, et al. Combination analysis of genetic alterations and cell proliferation in small intestinal carcinomas. *Dig Dis Sci* 2000;45:2022-8.
102. Karamitopoulou E, Perentes E, Diamantis I, et al. p53 protein expression in colorectal adenomas: an immunohistochemical study using an antigen retrieval system. *Histopathology* 1995;27:517-23.

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında ve eğitim sürecinde büyük ilgi ve katkıları olan bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım asistanı olmaktan mutluluk duyduğum sayın hocam Anabilim dalı başkanımız ve sayın hocamız Prof. Dr. Ömer YERCI'ye, uzmanlık eğitimim süresince ilgi ve desteklerini esirgemeyen, mesleki tecrübe ve bilgilerinden her zaman yararlanma olanağı bulduğum saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Şahsine TOLUNAY, Prof. Dr. Sema BAYKARA, Doç. Dr. Ülviye YALÇINKAYA, Doç. Dr. Şaduman BALABAN ADIM, Doç. Dr. Elif ÜLKER AKYILDIZ, Doç. Dr. Özlem SARAYDAROĞLU, Doç. Dr. Hülya ÖZTÜRK NAZLIOĞLU, Doç. Dr. Berna AYTAÇ VURUŞKAN, Uzm. Dr. Nesrin UĞRAŞ, Uzm. Dr. Fatma ÖZ ATALAY'a,

Birlikte çalışmaktan her zaman onur ve mutluluk duyduğum asistan doktor arkadaşlarıma, Anabilim Dalımız teknisyen, sekreter ve yardımcı personellerine,

Beni bu günlere ulaştıran anne, babama, ve sevgili ablalarıma,

Yaşama enerjim, umudum, aydınlığım, güzel kızlarım Melike Ayşe'ye ve henüz adı olmayan kardeşine,

Beni her zaman destekleyen ve yanımda olan sevgili eşime, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Melike NALBANT MORAY

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Bursa'da doğdum. İlk ve orta öğretimimi 1990-1998 yılında Bursa Barbaros İlköğretim Okulu'nda tamamladım. 1998-2001 yılları arasında Bursa Kız Lisesi'nde lise eğitimimi aldım. 2001 yılında başladığım Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 2007 yılında mezun oldum.

2008'de Şanlı Urfa'nın Akçakale İlçesi'nde Akçakale Merkez Sağlık Ocağı'nda göreve başladım ve mecburi hizmetimi tamamladığım bu merkezde 1 yıl pratisyen hekim olarak çalıştım. 2009 yılı Kasım ayında İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak uzmanlık eğitimime başladım. Burada 2 yıl görev yaptıktan sonra Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na geçiş yaparak eğitimime devam ettim.