

T.C.

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOLON ADENOKARSİNOM OLGULARINDA MİKROSATELLİT
İNSTABİLİTENİN KLİNİKOPATOLOJİK VERİLER İLE
KARŞILAŞTIRILMASI**

Uzmanlık Tezi

Dr. Emine ÇEŞMECİOĞLU

Trabzon 2017

T.C.

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOLON ADENOKARSİNOM OLGULARINDA MİKROSATELLİT
İNSTABİLİTENİN KLİNİKOPATOLOJİK VERİLER İLE
KARŞILAŞTIRILMASI**

Uzmanlık Tezi

Dr. Emine ÇEŞMECİOĞLU

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Şafak ERSÖZ

Trabzon 2017

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince desteğini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Şafak ERSÖZ'e,

İhtisas eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşan başta Sayın Prof. Dr. Yavuz ÖZORAN olmak üzere; Sayın Prof. Dr. Havvanur TURGUTALP'e, Sayın Prof. Dr. Kadriye YILDIZ'a, Sayın Prof. Dr. Ümit ÇOBANOĞLU'na, Sayın Doç. Dr. Sevdegül MÜNGAN'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. İsmail SAYGIN'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Emel ÇAKIR'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa Emre ERCİN'e,

Asistanlığım boyunca dostluklarıyla Trabzon'da evimde hissetmemi sağlayan asistan arkadaşlarım Sümeyra HAS, Göksu YAVUZ ABDİOĞLU, Hasan DİNDAR, Nuray YAĞIŞ, Zeynep SAĞNAK YILMAZ, Esmâ ÇINAR, Nilay BAKOĞLU, Gizem TEOMAN, Zeynep TÜRKMEN'e,

Eğitim sürem boyunca çalışma ortamımızdaki uyumlu katkılarından dolayı teknisyenlerimize ve sekreterlerimize,

Eğitim hayatım boyunca bana inanan ve desteklerini esirgemeyen ve tez yazma sürecinde hayatta kalmamı sağlayan kardeşim Betül'e, anne ve babama,

En içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Kolorektal kanserler her iki cinsiyette görülme sıklığı açısından üçüncü sırada, kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada yer almaktadır. Kolorektal kanserlerin %12-15'i mikrosatellit instabilite (MSI) yolağından gelişir ve %2-5'i herediter geçişli tümörlerdir. Bu yol MLH-1, PMS-2 ve MSH-6, MSH-2 gibi DNA hatalı eşleşme tamir genlerinin üretimini kapsar.

Çalışmamızda, 2014-2016 yılları arasında KTÜ Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış, takip ve tedavi protokolleri bilinen, karsinom nedeniyle kalın barsak rezeksiyonu yapılan toplam 116 olguda klinikopatolojik özelliklerin dağılımını ve kolorektal karsinogenezde mikrosatellit instabilite yolağında yer alan DNA tamir genlerinden MLH-1, PMS-2, MSH-2 ve MSH-6'nın immünohistokimyasal olarak boyanmasının klinikopatolojik parametreler ile arasındaki ilişkisini araştırdık.

Tüm olgular retrospektif olarak taranarak yaş, cinsiyet, tümör çapı, histolojik greyd, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, uzak metastaz, lokalizasyon, tümör sınırları, kirli nekroz, tümör infiltre eden lenfositler, Crohn-benzeri lenfositik yanıt, müsinöz ve medüller diferansiasyon, tümöral tomurcuklanma, klinik evre, patolojik tümör evresi ve lenf nodu metastazı açısından değerlendirildi.

Ayrıca tüm olgulardan hazırlanan tümör bloklarına immünohistokimyasal olarak uygulanan MLH-1, PMS-2, MSH-2 ve MSH-6 antikorları retrospektif olarak değerlendirildi.

Çalışmamızda MMR protein ekspresyonu kaybı ile sağ kolon lokalizasyonu, büyük tümör çapı, ekspansif sınırlar, yüksek greyd tümör histolojisi, tümör infiltre eden lenfosit varlığı arasında pozitif korelasyon saptanmıştır.

Genellikle mikrosatellit instabilite içeren tümörlerdeki klinikopatolojik özellikler ile immünohistokimyasal belirleyiciler arasında anlamlı ilişki görülmüştür. Bu bulgu MSI açısından kuvvetli şüphe doğurmuştur. Ancak bulgularımız moleküler çalışmalar ile desteklenmelidir.

SUMMARY

Colorectal cancers are the third most common in both sexes and they are the second most common cause of cancer-related death. 12-15% of colorectal cancers develop through microsatellite instability pathway and they are 2-5% hereditary. This pathway include the hereditary mutation in at least one of DNA mismatch repair genes (MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6).

In this study, we investigated the correlation between the clinicopathological features and the immunohistochemical MLH-1, MSH-2, PMS-2, MSH-6 expressions in a total of 116 resection materials with colorectal adenocarcinoma between 2014 and 2016.

All the cases were retrospectively evaluated in terms of age, sex, size, histologic grade, lymphovascular and perineural invasion, distant metastasis, localization, border, dirty necrosis, tumor infiltrating lymphocytes, Crohn-like response, mucinous and medullary differentiation, tumor budding, clinical stage, pathological tumor stage, and lymph node metastasis.

Immunohistochemistry stained sections of the all patients were reevaluated retrospectively. MLH-1, MSH-2, PMS-2, MSH-6 primary antibodies were used.

We found a positive correlation between loss of MMR protein expressions and the right-colon location, greater tumor size, pushing borders, high histologic grade and dense lymphocytic infiltration.

We found a correlation between immunohistochemical markers and clinicopathological features usually observed in tumors with microsatellite instability. This finding may arouse suspicion for MSI. However, the findings in our study must be supported with including molecular methods.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
SUMMARY.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Normal Anatomi ve Histoloji.....	3
2.2. Kolorektal karsinom	4
2.2.1. Epidemiyoloji.....	4
2.2.2. Etiyoloji	5
2.3. Kolorektal karsinoma öncü lezyonlar.....	9
2.3.1. Aberan kript odağı	9
2.3.2. Adenomatöz Polipler.....	10
2.3.3. ‘Serrated’ Polipler	10
2.4. Kolorektal karsinomun moleküler temeli	11
2.4.1. Kromozomal İstabilite	12
2.4.2. Mikrosatellit instabilite (MSI).....	14
2.4.3. “CpG” Ada Metilatör Fenotip (“CpG island methylator	16
phenotype” - CIMP)	16
2.5. Prognostik Parametreler	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. Olgı seçimi	21
3.2. Patolojik inceleme	21
3.2.1. Tümör sınırlarında büyüme paterni	21
3.2.2. Kirli nekroz	21
3.2.3. Tümör infiltrate lenfositler (TIL).....	22
3.2.4. Crohn-benzeri lenfositik yanıt.....	22
3.2.5. Tümöral tomurcuklanma	22
3.3. İmmünohistokimyasal inceleme	23

3.3.1. Antikorlar	23
3.3.2. İmmunhistokimyasal Boyama Yöntemi.....	23
3.3.3. İmmunhistokimyasal İncelemenin Değerlendirilmesi.....	24
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	24
4. BULGULAR.....	25
4.1. Yaş ve Cinsiyet.....	25
4.2. Lokalizasyon	25
4.3. Tümör Çapı.....	26
4.4. Histolojik Greyd.....	26
4.5. Tümör İnvazyon Derinliği	27
4.6. Büyüme Paterni.....	27
4.7. Lenfovasküler ve Perinöral İnvazyon	27
4.8. Bölgesel Lenf Nodu Metastazı.....	28
4.9. Uzak Metastaz Durumu.....	28
4.10. Kirli Nekroz	29
4.11. Tümör İnfiltrate Eden Lenfositler (TIL)	29
4.12. Crohn Benzeri Lenfositik Yanıt	29
4.13. Müsinöz ve Medüller Diferansiasyon.....	30
4.14. Tümöral Tomurcuklanma.....	30
4.15. Evre	31
4.16. Hasta Takibi.....	31
4.17. Preoperatif Tedavi Durumu	32
4.18. Sağkalım	32
4.19. Klinikopatolojik Veriler ile MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi	32
4.19.1. Cinsiyet- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi	37
4.19.2. Yaş- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi	37
4.19.3. Tümör Çapı- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi	38
4.19.4. Lenfovasküler İnvazyon- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi.....	39
4.19.5. Perinöral İnvazyon- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi.....	40
4.19.6. Uzak Metastaz- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi.....	41
4.19.7. Greyd- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi.....	42
4.19.8. Tümör Sınırları- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi.....	43
4.19.9. Kirli Nekroz- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi	44
4.19.10. Tümör İnfiltrate Eden Lenfositler- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi ..	45
4.19.11. Crohn Benzeri Yanıt- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi.....	46
4.19.12. Müsinöz Diferansiasyon- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi	46

4.19.13. Medüller Differansiasyon- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi	47
4.19.14. Lokalizasyon- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi	48
4.19.15. Tümöral Tomurcuklanma- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi	49
4.19.16. Klinik Evre-MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi.....	50
4.19.17. Preop Tedavi MSH-6 İlişkisi.....	51
4.20. MMR Protein Ekspresyonlarının Birbirleri ile Karşılaştırılması	51
4.21. MMR Protein Ekspresyonları Korunmuş Olanlarla Kayıp Saptananların Birbirleri ile Karşılaştırılması	53
4.21.1. Cinsiyet.....	53
4.21.2. Yaş	54
4.21.3. Tümör Çapı.....	54
4.21.4. Lenfovasküler İnvazyon.....	54
4.21.5. Perinöral İnvazyon	54
4.21.6. Uzak Metastaz.....	55
4.21.7. Histolojik Greyd.....	55
4.21.8. Tümör Sınırları.....	55
4.21.9. Kirli Nekroz	55
4.21.10. Tümör İnfiltrate Eden Lenfositler	56
4.21.11. Crohn Benzeri Lenfositik Yanıt	56
4.21.12. Müsinöz Diferansiasyon	56
4.21.13. Medüller Diferansiasyon.....	56
4.21.14. Lokalizasyon	57
4.21.15. Tümöral Tomurcuklanma.....	57
4.21.16. Klinik Evre.....	57
5.TARTIŞMA	58
5.1. Klinikopatolojik Özellikler ile MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi	59
5.1.1. Yaş ve cinsiyet	59
5.1.2. Lokalizasyon	60
5.1.3. Tümör Çapı.....	60
5.1.4. Lenfovasküler ve Perinöral İnvazyon	61
5.1.5. Greyd.....	61
5.1.6. Tümör Sınırları.....	62
5.1.7. Kirli Nekroz	62
5.1.8. Tümör İnfiltrate Lenfositler (TIL)	62
5.1.9. Crohn-benzeri Lenfositik Yanıt.....	63
5.1.10. Müsinöz Diferansiasyon	63

5.1.11. Medüller Diferansiyasyon	64
5.1.12. Tümöral Tomurcuklanma	64
5.2. MMR Protein Ekspresyonlarının Birbirleri ile İlişkisi	65
6. SONUÇLAR	68
7. KAYNAKLAR.....	70



KISALTMALAR

AP= Adenomatöz polip

CA: Karsinom

CBY: Crohn benzeri lenfositik yanıt

CIMP= CpG ada metilatör fenotip (CpG island methylator phenotype)

CIN: Kromozomal instabilite

HP= Hiperplastik polip

KonCA: Konvansiyonel adenokarsinom

KSA: Klasik “serrated” polip

LVI: Lenfovasküler invazyon

MMR: Yanlış eşleşme tamir (Mismatch repair)

MSI: Mikrosatellit instabilite (Microsatellite instability)

MSI-H: Yüksek düzeyli MSI

MSI-L: Alçak düzeyli MSI

MSS: Mikrosatellit stabil

MüsCA: Müsinöz adenokarsinom

PI3K: Fosfatidil inozitol 3 kinaz (Phosphatidyl inositole-3 kinase)

PTEN: Fosfataz ve tensin homolog (Phosphatase and tensin homologue)

RAS: Mürin sarkom virüs onkogeni (Murine sarcoma virus oncogene)

SP: “Serrated” polip

TA: Tübüler adenoma

TIL: Tümör infiltre eden lenfositler

TVA: Tübülovillöz adenoma

VA: Villöz adenoma

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kolorektal karsinogenezde görülen başlıca genetik değişiklikler

Şekil 2. Kolorektal karsinomlarda adenom karsinom sekansında görülen moleküler değişiklikler

Şekil 3. DNA tamir mekanizması

Şekil 4. CpG adalarının metilasyonu

Şekil 5. Olguların cinsiyet dağılımı

Şekil 6. Olguların lokalizasyonu

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Kanser Prognostik Faktörleri Kategorizasyonu

Tablo 2. Antikorların özellikleri

Tablo 3. Histolojik greyd dağılımı

Tablo 4. İnvazyon derinliği

Tablo 5. Büyüme paterni

Tablo 6. Lenfovasküler ve perinöral invazyon

Tablo 7. Bölgesel lenf nodu metastazı

Tablo 8. Uzak metastaz durumu

Tablo 9. Tümör infiltre eden lenfositler

Tablo 10. Crohn benzeri lenfositik yanıt

Tablo 11. Müsinöz ve medüller diferansiasyon

Tablo 12. Tümöral tomurcuklanma

Tablo 13. Evre

Tablo 14. Takip durumu

Tablo 15. Klinikopatolojik veriler ve MMR protein ekspresyonları ilişkisi-1

Tablo 16. Klinikopatolojik veriler ve MMR protein ekspresyonları ilişkisi-2

Tablo 17. Klinikopatolojik veriler ve MMR protein ekspresyonları ilişkisi-3

Tablo 18. Klinikopatolojik veriler ve MMR protein ekspresyonları ilişkisi-4



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. MLH-1 ile pozitif boyanma

Resim 2. PMS-2 ile pozitif boyanma

Resim 3. MSH-2 ile pozitif boyanma

Resim 4. MSH-6 ile pozitif boyanma

Resim 5. MLH-1 ekspresyon kaybı

Resim 6. PMS-2 ekspresyon kaybı

Resim 7. MSH-2 ekspresyon kaybı

Resim 8. MSH-6 ekspresyon kaybı

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal karsinom, endüstriyel toplumlarda en sık görülen malignitelerden biridir. Dünyada görülme sıklığı açısından üçüncü sıradadır (1). Kolorektal karsinom, akciğer ve meme kanserinden sonraki ölüm nedenlerinde üçüncü sıradadır.

Kolorektal karsinom en sık 60-79 yaşları arasında pik yapar. Olguların %20'sinden daha azı 50 yaşın altındadır. Genç yaş grubunda kolorektal karsinom olması durumunda altta yatan ülseratif kolit veya polipozis sendromlarından biri akla gelmelidir. Rektumdaki lezyonlarda erkek/kadın oranı 1,2/1 iken, daha proksimalde yerleşen tümörlerde cinsiyet farkı yoktur. Kolorektal karsinomun dünyadaki coğrafi dağılımı da farklılık göstermektedir. Ölüm oranındaki coğrafi farklılıkların nedeni, başta diyet alışkanlıkları olmak üzere çevresel faktörlerdir (1).

Kolorektal kanserlerin %12-15'i mikrosatellit instabilite (MSI) yolağından gelişir ve %2-5'i herediter geçişli tümörlerdir. Bu yol MLH-1, PMS-2 ve MSH-6, MSH-2 gibi DNA hatalı eşleşme tamir genlerinin üretimini kapsar. MSI yoluyla gelişen kolorektal karsinomların belirlenmesi klinik açıdan önem kazanmaktadır. Bunun başlıca nedeni, MSI gösteren kolorektal karsinom olgularının daha iyi bir prognoza sahip olduklarının saptanmasıdır. Ayrıca bu olguların 5-florourasil uygulanarak yapılan kemoterapiye duyarsız oldukları bildirilmektedir (2). Bu olgular, metakron kolorektal karsinom gelişimi açısından da artmış riske sahiptirler ve uzun süreli kolonoskopik takip gerektirirler.

MSI'nin belirlenmesi moleküler analize dayalıdır. Buna göre, üç fenotip tanımlanmıştır: Mikrosatellit stabil (MSS), alçak düzeyde MSI (MSI-L), yüksek düzeyde MSI (MSI-H). HNPCC'de MSI-H'nin nedeni hatalı eşleşme tamir genlerinden birinin (sıklıkla MLH-1 veya MSH-2) kalıtsal mutasyonudur. Sporadik MSI-H kolorektal karsinomlarda, mutator fenotipin gelişimindeki asıl mekanizma promoter hipermetilasyonu ile MLH-1 geninin inaktivasyonudur. Moleküler analiz; zaman alıcı, pahalı ve özel ekipman gerektiren bir yöntemdir. Bu nedenle laboratuvarlarda rutin olarak uygulanmasının zor olduğu düşünülmektedir. MLH-1, PMS-2 ve MSH-

2, MSH-6'nın immunhistokimyasal analizi ise hızlı ve daha kolaydır; laboratuvarlarda rutin bir test olarak kullanılmaktadır.

MSI ilişkili kolorektal karsinomlarda izlenmesi beklenen bazı klinik ve histopatolojik özellikler vardır. Bunlar; kadın cinsiyet, sağ kolon yerleşimi, multiple odak olma eğilimi, lenfositik yanıt, müsinöz ve medüller diferansiasyon ve yüksek greyd morfolojisidir (3-7).

Bu nedenlerden ötürü, klinikopatolojik ve immünhistokimyasal özelliklerin, genetik analiz yapılması gereken hastaların seçimi için kullanılması konusu gündeme gelmektedir.

Çalışmamızda amaçlarımızdan biri, 2014-2016 yılları arasında KTÜ Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış, takip ve tedavi protokolleri bilinen, karsinom nedeniyle kalın barsak rezeksiyonu yapılan toplam 116 olguda klinikopatolojik özellikleri (yaş, cinsiyet, tümör çapı, histolojik greyd, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, uzak metastaz, lokalizasyon, tümör sınırları, kirli nekroz, tümör infiltre eden lenfositler, Crohn-benzeri lenfositik yanıt, müsinöz ve medüller diferansiasyon, tümöral tomurcuklanma, klinik evre) belirlemektir.

Diğer bir amacımız ise, kolorektal karsinogeneizde mikrosatellit instabilite yolağında yer alan DNA tamir genlerinden MLH-1, PMS-2, MSH-2 ve MSH-6'nın immünhistokimyasal olarak boyanmasının klinikopatolojik parametreler ile ilişkisini saptamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Normal Anatomi ve Histoloji

Kalın barsak gastrointestinal sistemin son kısmını oluşturur. Bölümleri çekum, çıkan (sağ) kolon, transvers kolon, inen (sol) kolon, sigmoid kolon ve rektumdur. Çıkan kolon ile transvers kolonun birleşim noktasında hepatik fleksura, transvers kolon ile inen kolon birleşim noktasında splenik fleksura yer alır. Rektum, kalın barsağın pelvis içinde uzanan, ekstrapéritoneal kısmıdır. Anal kanalda sonlanır.

Kalın barsak duvarı dört tabakalıdır. Katmanlar; mukoza, submukoza, muskularis propria ve serozadır. Rektumda seroza yerine perimusküler dokular bulunur. Mukozanın üç komponenti; epitel, lamina propria, muskularis mukozadır (8).

Mukozal yüzey tek sıra alçak kolumnar ya da küboidal epitel ile döşelidir. Liberkuhn kriptlerinin çoğunluğu doğrudan yüzeye açılır (9). Yüzey epiteli absorptif hücreler ve goblet hücrelerinden oluşur. Absorptif hücreler bazal yerleşimli nükleuslara, müsin negatif asidofilik sitoplazmalara sahiptir ve lümene doğru yönelmiş apikal çizgili kenarları bulunur. Goblet hücreleri müsin granüllerini sentezler, depolar ve salgılar. İnce bir bazal membran üzerine yerleşmiş epitel hücreleri arasında lenfositler ve nadir eozinofiller bulunabilir (10).

Kriptlerin deney tüpü benzeri klasik tübüler bir şekli vardır, birbirlerine paralel ve eşit aralıklarla yerleşirler. Bu glandlarda dallanmalar çok nadir olur ve dallanma varlığı genellikle sessiz inflamatuvar hastalığa işaret eder (11, 12).

Kript epiteli, yüzey epitelindekine benzer şekilde absorptif hücreler ve goblet hücreleri içerir. Buna ek olarak immatür ve indifferansiye prekürsör hücreler, endokrin hücreler, Paneth hücreleri bulunur. Prekürsör ve endokrin hücreler kript tabanında daha fazla bulunur (13). Paneth hücreleri çok sayıda eozinofilik sekretuar granülleri ile tanınır ve lizozim, epidermal büyüme faktörü ve diğer maddeleri içerir. Paneth hücreleri normalde sadece çekum ve proksimal sağ kolonda bulunur. Kolonun başka bir yerinde görülmeleri, genellikle kronik bir inflamasyona sekonder bir metaplazi belirtisidir (14).

Lamina propria kollajen lifler, düz kas demetleri, damarlar ve sinirlerden oluşan bir ağ içinde dağılmış az sayıda lenfosit, plazma hücreleri, histiositler ve mast hücreleri içerir (15,16). Lamina propria damarları düzenli dağılmış kapillerler ve muskularis mukozanın hemen üzerine sınırlı lenf damarlarından oluşur. Submukoza, hücre içeriği lamina propriaya benzeyen gevşek bağ dokusunu ve Meissner'in nöral pleksusunu içerir (17). Muskularis propria sirküler iç tabaka ve longitudinal dış tabaka içerir, bunların arasında Auerbach'ın myenterik sinir plexusu yer alır. Seroza, tek kat halinde yassı ya da küboidal mezotel hücreleri ve altında fibroelastik dokudan oluşmaktadır.

Kalın barsak çekumdan splenik fleksuraya kadar süperior mezenterik arterden, distalden splenik fleksuraya kadar inferior mezenterik arterin dallarından beslenir. Rektumun alt kısmı internal iliak arterin dallarından (orta ve inferior rektal arterler) kanlanır.

Kolonun lenfatik drenajı esas olarak parakolik lenf nodları grubuna doğrudur. Daha sonraki istasyonlar büyük arter dalları üzerindeki ara nodal gruplar, süperior ve inferior mezenterik arterlere komşu lenf nodları ve tüm para-aortik zincirdir. Rektumun lenfatik drenajı inferior mezenterik arter nodlarına, süperior hemoroidal zincire ve hipogastrik ve ortak iliak nodlara doğrudur (8).

2.2. Kolorektal karsinom

2.2.1. Epidemiyoloji

Kolorektal karsinomlar erkeklerde akciğer, prostat ve mideden sonra, kadınlarda ise meme ve serviks kanserinden sonra en sık görülen maligniteler olup dünya genelinde yılda yaklaşık 1,36 milyon yeni vaka bildirilmektedir. Kansere bağlı ölümlerde de akciğer ve memeden sonra üçüncü sırada gelmektedir (18).

Kolorektal karsinomların gelişmiş ülkelerde diğer ülkelere kıyasla görece yüksek oranda görülmesi etyolojide yaşam, beslenme biçimi ve diğer çevresel faktörlerin rolünü göstermektedir (18). İnsidansı yaşla beraber artan kolorektal kanserler bir ileri yaş hastalığı olarak kabul edilir. Genç olgularda (<40 yaş) daha

agresif davranış sergileme ve herediter geçişli sendromlardan birine sahip olma ya da bir inflamatuvar barsak hastalığı zemininde gelişme eğilimindedirler (19).

Kolorektal karsinomlar çoğunlukla distal kolon yerleşimli olmakla birlikte ileri yaşta proksimal yerleşim sıklığı artar (4). Distal yerleşimli tümörlerde erkek kadın oranı az bir farkla erkek yönüne kayarken proksimal yerleşimli tümörlerde erkek kadın arasında fark yoktur (1).

Kolorektal karsinoma bağlı ölüm oranları insidansın yaklaşık yarısı kadar olsa da uygulanan tedavilere ve tedavi erişilebilirliğine bağlı olarak ülkeler arasında bu oran büyük değişiklikler göstermektedir.

2.2.2. Etiyoloji

Kolorektal karsinom gelişim riski, bireye özgü yapısal özellikler ve çevresel faktörler ile ilişkilidir. Etkisi kanıtlanmış ve en sık karşılaşılan bireysel risk faktörleri yaş, genetik temel ve uzun süren inflamatuvar barsak hastalığıdır (20).

Epidemiyolojik çalışmalarda en önemli bireysel risk faktörlerinin obezite, sigara, alkol ve kırmızı et tüketimi olduğu ortaya konmuştur. Sebze, meyve, tam tahıllı gıda tüketimi, kalsiyum, D vitamini, uzun süreli non steroid antiinflamatuvar kullanımı, kadınlarda östrojen replasmanı ve fiziksel aktivitenin ise riski azalttığı gösterilmiştir (18).

Herediter Faktörler:

Günümüzde kolorektal karsinomların yaklaşık %15-30'unda baskın bir herediter komponent olduğu tahmin edilmektedir. Bu vakaların büyük kısmı herediter non polipozis kolorektal karsinom (HNPCC), familyal adenomatöz polipozis (FAP) ve FAP ilişkili sendromlardır (1).

FAP kolonda multiple adenomlarla karakterize, otozomal dominant geçişli bir sendromdur. Etiyolojisinde adenomatöz polipozis koli (APC) geninde germ line mutasyon sorumlu tutulmaktadır. Klasik FAP tanımında kolonda minimum 100 adet polip görülmesi gerekmektedirken vakalar çoğunlukla binlerce polip içermektedir.

FAP sendromlu olgularda 30 yaştan erken kolorektal karsinom gelişme riski %100 kabul edilir ve standart tedavisi profilaktik total kolektomidir. FAP sendromunda gastrointestinal sistem dışında da adenom görülebilir (özellikle ampulla vateri ve mide). Bu nedenle bu hastalarda kanser gelişme riski kolektomi sonrasında da mevcuttur (1).

FAP sendromunun iki özel varyantı tanımlanmıştır: Gardner ve Turcot Sendromları. Gardner Sendromu gastrointestinal adenomlar yanı sıra kafa, yüz ve uzun kemiklerde osteomlar, tiroid tümörleri, epidermoid kistler ve dental malformasyonlar ile karakterizedir. Turcot Sendromunda ise gastrointestinal adenomlarla santral sinir sistemi tümörlerinin birlikteliği söz konusudur. ‘Atenüe’ FAP terimi ise polip sayısının yüzden az, hasta yaşının daha ileri olduğu bazı APC mutasyonları için kullanılır (1).

Lynch Sendromu, diğer adıyla herediter non-polipozis kolorektal karsinom (HNPCC) birçok sistemde tümör izlenen bir sendromdur. Olgularda kolorektal kanserlere ek olarak deri, mide, over, endometriyum, üreter, beyin, ince barsak ve hepatobiliyer sistemde tümörler görülür. Hastalar sporadik popülasyondan genç yaştadır ve tümör lokalizasyonu sıklıkla sağ kolondadır (1). DNA yanlış eşleşme onarım genlerinden birinin, yüksek oranda mikrosatellit instabilitesi ile sonuçlanan ‘germline’ mutasyonlar sonucu HNPCC ortaya çıkar. Bu germline mutasyonları taşıyan bir hastanın birinci derece akrabalarında %50 kolorektal karsinom gelişme riski vardır (8). DNA yanlış eşleşme onarım genleri DNA replikasyonu sırasında ortaya çıkan hataların tespiti, çıkarılması ve tamirinden sorumlu proteinleri kodlar. HNPCC hastaları DNA yanlış eşleşme onarım geni (‘mismatch repair gene’-MMR) allellerinden biri normal iken, diğeri mutant olarak doğarlar. İkinci allelde mutasyon veya fonksiyon bozukluğu sonucu oluşan kayıp MMR defektine yol açar. Bu defekt nedeniyle özellikle mikrosatellit olarak adlandırılan kısa DNA dizilerini içeren bölgelerde oluşan mutasyonlar hızla birikir (1).

Jüvenil polipozis sendromunda gastrointestinal sistem boyunca (başta kolon ve mide) çok sayıda hamartomatöz polip gelişir. Hastalarda poliplerin bazıları

kombine jüvenil ve adenomatöz özelliklere sahip olabilir. Kolorektal karsinom yanı sıra duodenum, mide ve pankreasta adenokarsinom insidansı artmıştır. Jüvenil polipozisdeki genetik defekt transforming growth factor β (TGF- β) sinyal ara yolunda fonksiyon gören proteinleri kodlayan SMAD4 ve BMPR1A genlerinde kalıtsal inaktive edici mutasyonlardır (8).

Cronkhite-Canada sendromu jüvenil tipte multiple kolorektal poliplere alopesi, tırnak atrofisi ve hiperpigmentasyonun eşlik ettiği nonherediter bir bozukluktur. Adenomatöz değişiklikler ve kolorektal karsinom bu hastalarda da gelişebilir (8). Altta yatan moleküler patoloji henüz aydınlatılamamıştır (1).

Peutz-Jeghers sendromu, gastrointestinal sistemde hamartomatöz polipler ve mukokutanöz pigmentasyon ile karakterlidir. Hamartomatöz poliplere ek olarak belirgin derecede atipi gösteren adenomatöz polipler de içerebilirler. Bu hastalarda kolorektal adenokarsinom yanı sıra pankreas, özofagus, akciğer, over, testis, uterin serviks ve endometriyum kanserleri de izlenebilir. Sendrom LKB1 tümör süpresör geninde germ-line mutasyona bağlı olarak gelişir (1).

Cowden sendromu otozomal dominant geçişli bir multiple hamartomatöz polipozis sendromudur. Meme, deri, tiroid, santral sinir sistemi ve gastrointestinal sistemde hamartomatöz lezyonlar görülür. Değişik bölgelerde malignite riskinde artış vardır (8). Gastrointestinal polipler olguların %35'inde görülür ve bu polipler malign potansiyel taşımazlar. Sendrom, PTEN (phosphatase and tensin homolog) tümör süpresör geninde germline mutasyonlara bağlıdır (4).

Diyet:

Yüksek kalorili, kırmızı et ve hayvansal yağdan zengin 'batı tipi' diyet adlandırabileceğimiz diyetin kolorektal kanser riski üzerine etkisi, insidansla yakın ilişkisi nedeniyle pek çok çalışmada değerlendirilmiştir. Ancak gıda hazırlama teknikleri, gıdaların makro ve mikro bileşenleri, hormonal etkiler, genetik yapı ve mevcut araştırma yöntemlerinin etyolojik faktörleri ortaya koymada yetersiz kalması

nedeniyle diyet ve kanser gelişimi ilişkisinin natürü tam olarak ortaya konamamıştır. Çalışmalarda ortaya konan olası mekanizmalardan biri heterosiklik aminlerin üretimi, yüksek safra asiti düzeyleri ve reaktif oksijen türevlerinin üretimi ile insülin düzeyinde meydana gelen artıştır. Sebze ve lifli gıda tüketimi ile risk arasında var olduğu tespit edilen ters ilişki ise anti-karsinojenler, antioksidanlar, folat, luminal karsinojenlere bağlanan detoksifiye edici enzimlerin artışı, diyetteki liflerin fermentasyonu sonucu doymamış yağ asitlerinin üretimi veya luminal transit hızında artışa bağlı luminal epitel ile temas süresinin azalması ile açıklanabilir. Alkol alımı kolorektal karsinom riskini arttırmaktadır. Non-steroid anti-inflamatuvar ilaç kullanımı ve kolorektal karsinom riski arasında ters ilişki bulunmaktadır (20).

Kronik inflamasyon:

İnflamatuvar barsak hastalıkları ve Schistosoma mansoni enfeksiyonu gibi barsak tutulumlu kronik hastalıklar kolorektal karsinom için risk faktörleridir (21).

Ülseratif kolit ilk üç dekada pik yapan, etyolojisi bilinmeyen bir kronik inflamatuvar hastalıktır. Onbeş yaş öncesi tanı alan pankolitli hastalarda 30 yaşından sonra karsinom gelişme riski %30 oranında artar. Kolon tutulumunun yaygın olduğu vakalarda karsinom gelişme riski, kolon tutulumunun distalde sınırlı olduğu ülseratif kolitlere oranla 3 kat fazla bulunmuştur. Ülseratif kolit zemininden gelişen kolorektal adenokarsinomlar multiple odaklı, kolon mukozası ile seviye farkı göstermeyen, infiltratif özellikte, müsinöz veya taşlı yüzük hücreleri ile karakterli lezyonlardır. Karsinomlar reaktif epitelyal değişiklikten ayrımın güç olduğu düşük ve yüksek dereceli displazi zemininde gelişirler. İnflamasyonlu alanlarda gelişen displastik lezyonlar ('dysplasia-associated lesion or mass', DALM) polip, plak ya da zor fark edilen kadifemsi plaklar şeklinde prezente olabilir. Tanı için çok sayıda biyopsi alınması gerekebilir. DALM tanısı alan hastada karsinom gelişim riski oldukça yüksektir ve kolektomi endikasyonu doğurur. Sporadik adenom ise polipektomi ile tedavi edilen ve DALM ile ayrımı bazen güçlük yaratabilen bir antitedir. Ayrımda komşu mukoza özellikleri yardımcıdır (4).

Crohn hastalığında kolon yanı sıra ince barsakta da artmış karsinom riski bulunur. Kolorektal karsinom gelişim riski normal popülasyona kıyasla üç kat fazladır. Erken başlangıç ve hastalık süresinin uzunluğunu, ülseratif kolitte de olduğu gibi riski artırır. Crohn zemininde gelişen tümörün özellikleri ülseratif kolit zemininde gelişenlerle benzerdir. Ayrıca Crohn hastalığında sık görülen perianal fistül içerisinde adenokarsinom ve anal bölgede skuamöz hücreli karsinom gelişimi de görülebilir (4).

Diğer:

Sigara kullanımı ile kolorektal karsinom ilişkisi, diğer tütün ilişkili kanserlere oranla daha zayıftır (20). Üreterosigmoidostomi ve pelvik radyoterapi öyküsü nadir, fakat bilinen risk faktörleridir (4).

2.3. Kolorektal karsinoma öncü lezyonlar

Sporadik karsinomların %60'ı adenoma- karsinom sekansı üzerinden karsinom ilerlemektedir. Bu süreçte yer alan prekürsör lezyonlar, değişen derecelerde neoplazi potansiyeline sahip olan tübüler adenom, tübülovillöz adenom, villöz adenom, daha önceleri hiperplastik ya da metaplastik adenom olarak adlandırılırken günümüzde gerek moleküler gerekse morfolojik olarak ayrı bir alt grup olduğu kabul edilen serrated adenomlardır. Tüm öncü lezyonların, normal mukozada tek bir kript epitel hücresinde başladığı kabul edilmektedir. Bu moleküler değişikliklerin sebep olduğu morfolojik değişiklikleri gösteren kriptlere ise aberan kriptler denir (4).

2.3.1. Aberan kript odağı

Aberan kriptler ilk olarak kolonik karsinojenlere maruz bırakılmış deney hayvanlarında tanımlanmış ve rezeksiyon materyallerinde mukozanın metilen mavisi ile boyanması ile görülebilmıştır (8). Benzer yapılar insanlarda da saptanmıştır. Mikroskopik olarak, kriptler genişlemiş ve hiperplastiktir. Sıklıkla displazi odakları içerirler. Muhtemelen mikroskopik saptanabilen en erken adenomatöz değişikliği

temsil eden bu kriptlerin klinik önemi henüz bilinmemektedir (22). Mikroskopik özelliklerine göre iki gruba ayrılabilir:

- 1- Hiperplastik tip: Epitel hiperplastik/serrated özelliktedir.
- 2- Displastik tip (Mikroadenom): Epitel adenomatöz tiptedir.

2.3.2. Adenomatöz Polipler

Kalın barsak boyunca, %40'ı sağ kolon, %40'ı sol kolon, %20'si rektum yerleşimlidir. Sesil ya da saplı; tek ya da multiple olabilirler (8). Sıklığı 40 yaş öncesi %20-30 iken, 60 yaşından sonra %40-50'ye ulaşır. Adenoma sahip hastaların birinci derece akrabalarında hem adenom gelişme riskinde, hem de kolorektal karsinom riskinde 4 kat artış mevcuttur. Bir adenomatöz polibin malignite riski polip çapı, histolojik yapısı ve displazi derecesi ile koreledir. Tanımı gereği adenomatöz polipler düşük dereceli displazi gösterdiklerinden, sadece ağır displazinin varlığı neoplastik progresyon için anlam taşımaktadır (1). Adenomatöz polipler histolojik tiplerine göre 3'e ayrılırlar;

Tübüler adenom: %75'ten fazlası tübüler şekilli glandlardan oluşan poliplerdir. En sık görülen adenomdur.

Villöz adenom: %80'den fazlası villöz uzantılardan oluşan poliplerdir. Daha çok yaşlı hastada ve rektosigmoidde görülürler. Çoğunlukla sesil, büyük çaplı kitleler oluştururlar.

Tübülovillöz adenom: Tübüler ve villöz yapıların beraber görüldüğü poliplerdir. İn-situ veya invaziv karsinom gelişme riski, villöz yapıların oranı ile korelasyon göstermektedir.

2.3.3. 'Serrated' Polipler

'Serrated' polip terimi, yüzeyinde ve kript epitelinde testere dişine benzer girintiler bulunan polipler için kullanılan genel bir isimdir. Testere dişi görünümüne epitelin apoptozla dökülmesinin inhibisyonu ve proliferasyon zonunun kriptin orta ve üst kısımlarına doğru genişlemesi sebep olmaktadır (23). 'Serrated' polip ailesi içinde

sesil ‘serrated’ polip/adenom, klasik ‘serrated’ adenom ve hiperplastik polip bulunmaktadır (24).

Hiperplastik polip: Sık görülen lezyonlardır. Genellikle çapı 5 mm’den küçük, sesil ya da çevre mukozadan hafif kabarık, distal kolon ve rektumda yerleşme eğilimli bu poliplerin non-neoplastik lezyonlar olduğu düşünülmüştür. Ancak son yıllarda 1 cm’den büyük çaplı, multiple ve/veya proksimal kolon yerleşimli olanlarında kolorektal karsinom gelişme riskinde artış saptanmıştır (23). Kriptler uzamış ve birbirine paralel yerleşmiştir. Kript epitellerinde değişik derecelerde ‘serration’ mevcuttur. Boyuna kesitlerde kriptler yüzeyden tabana doğru daralır ve bu daralma tepe noktası aşağıda olan üçgen görünümünü oluşturur (dekresendo patern) (23). Genelde yüzey epitelinin altında kalın bir bazal membran izlenebilir.

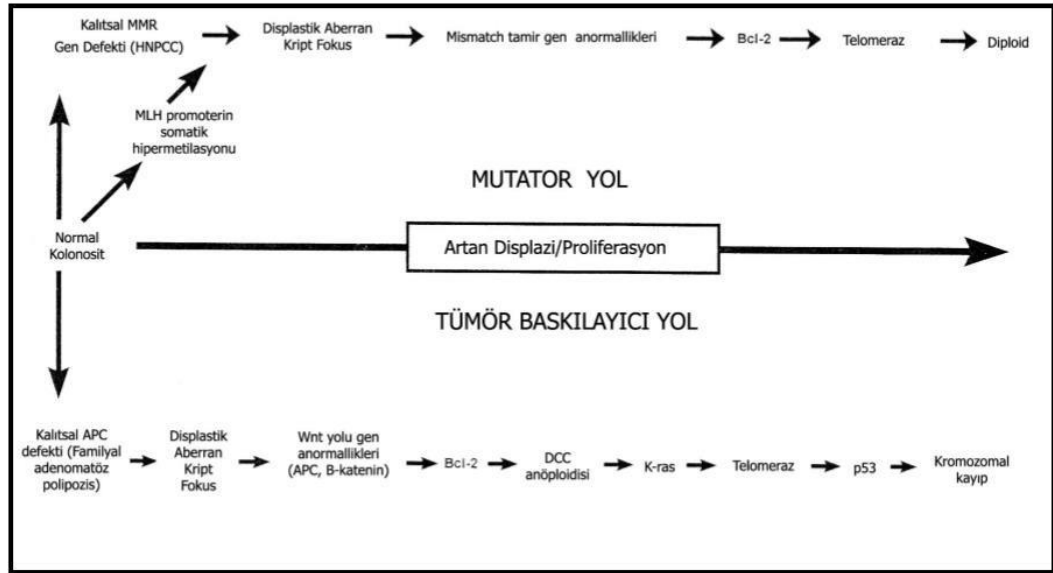
Sesil ‘serrated’ adenom/polip: Görece nadir lezyonlardır. 5 mm’den büyük, sesil, sağ kolonda yerleşme eğilimli poliplerdir (24). Kriptlerde uzama, dilatasyon, T veya L şekilli kriptler, submukozaya geçen ‘inverted’ kriptler karakteristik özellikleridir. Boyuna kesitlerde kriptlerde dilatasyon bazal kısımlarda belirgindir ve tepe noktası yukarıda olan üçgen görünümü oluşturur (kresendo patern). Sitolojik atipi tanı için bir kriter değildir (23).

Klasik ‘serrated’ adenom: Nadir, genelde sol kolon yerleşimli, konvansiyonel adenomlarla benzer şekilde ekzofitik büyüyen, kompleks viliform yapıya sahip lezyonlardır. Epitel eozinofilik sitoplazmalı, santral yerleşimli çekirdeklere sahiptir. Psödostratifikasyon içerebilir. Ektopik kript formasyonu adı verilen muskularis mukozaya normal şekilde oryante olamamış horizontal duruşlu prematür kriptler tipik olarak görülür (25).

2.4. Kolorektal karsinomun moleküler temeli

Kolorektal karsinogenezde bugün için üç temel mekanizma kabul görmektedir (Şekil 1). İlki APC tümör süpresör geninin anahtar rol oynadığı, kromozomal instabilite, ikincisi DNA yanlış eşleşme tamir genlerinin inaktivasyonu nedeniyle

oluşan mikrosatellit instabilite ve üçüncü ara yol ise genomda meydana gelen çok sayıda metilasyon sonucu bazı gen ve gen gruplarında baskılanmaya yol açarak gelişen karsinogenezdır ('CpG Island Methylator Phenotype'- CIMP). Sporadik kolorektal karsinomların %75'i ve çoğu herediter kolorektal karsinomlar kromozomal instabilite arayolundan gelişir (4). Gelişmiş ülkelerde sporadik kolon kanserlerinin %15'i ve herediter non-polipozis kolorektal karsinom vakalarının hemen tamamı mikrosatellit instabilite arayolundan gelişir. Mikrosatellit instabil kanserler daha çok sağ kolon yerleşimlidir ve prognozları daha iyidir. CIMP arayolundan gelişen kanserler ise çoğunlukla sol kolon yerleşimli ve daha kötü prognozludurlar (26).

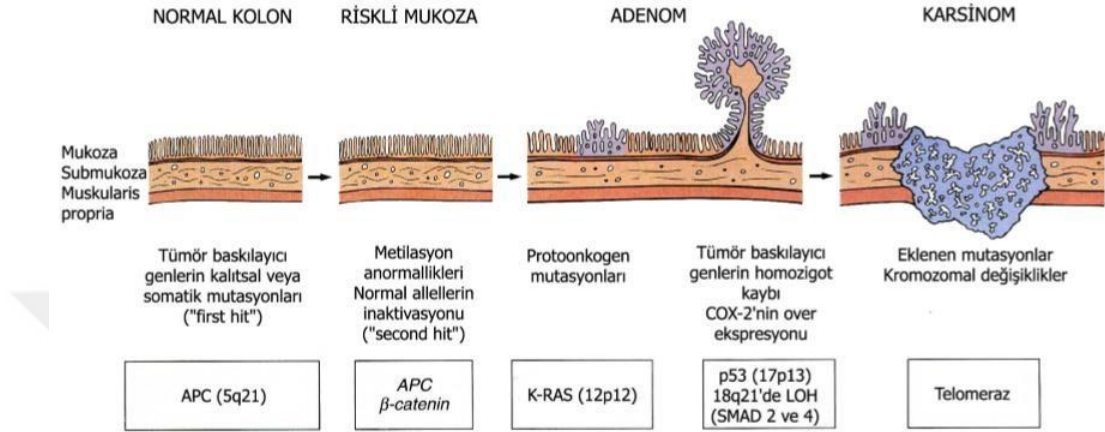


Şekil 1. Kolorektal karsinogeneizde görülen başlıca genetik değişiklikler (27)

2.4.1. Kromozomal İnstabilite

APC/β katenin yolağı veya adenom-karsinom sekansı olarak da bilinen, Wnt ilişkili bu arayol üzerinden gelişen kanserlerde anöploid karyotip, artmış nükleer DNA içeriği, geniş kromozomal segment delesyon veya duplikasyonları gibi büyük kromozomal anormallikler izlenir (28). Gelişen tümörlerde %90'dan fazla oranda APC mutasyonu, %50 oranında KRAS mutasyonu, %70 oranında TP53 mutasyonu, %80 oranında 18q allelik kayıp mevcuttur (4). Bir seri onkogen ve tümör süpresör

genlerde meydana gelen basamaklı mutasyon birikimi ile kolonda fokal epitel proliferasyonu ile ortaya çıkan süreç başlar. Epitel proliferasyonunu küçük adenom oluşumu, adenomun büyümesi, displazi geliştirmesi ve sonuçta invaziv kanser gelişimi izler (Şekil 2) (1).



Şekil 2. Kolorektal karsinomlarda adenom-karsinom sekansında görülen moleküler değişiklikler (1)

APC geni: 5q21-22'de haritalanmış bir tümör süpresör gen olan adenomatöz polipozis koli (APC) geni 120 kb büyüklükte, en az 21 ekzondan oluşan bir bölgeyi işgal etmektedir. Ana fonksiyonu hücre büyümesini tetikleyen sinyalleri baskılamaktır. Mikrotübül demetlerini bağlayan ve hücre göçü ile adezyonunu kontrol eden 2843 aminoasitlik bir proteini kodlar. APC geni aynı zamanda, Wnt/β katenin sinyal yolağında önemli rol oynayan β katenin düzeyini kontrol eden bir bekçi ('gate-keeper') proteini olarak ta işlev görür. Wnt/β katenin sinyal yolağı normal barsak epitelinin gelişiminde kritik bir rol oynamanın yanı sıra kolorektal karsinomların gelişiminde de etkilidir. Kolorektal karsinomların %80'inden fazlasında inaktif APC, APC mutasyonu olmayanların %50'sinde β-katenin mutasyonu vardır (1). β-katenin, aslen kadherin temelli hücre adezyon kompleksinin bir üyesi iken, hücre içi düzeyi arttığında çekirdeğe geçer ve bu durumda da transkripsiyon faktörü olarak rol oynar. E-kadherine bağlanmadığı durumlarda hücrehücre adezyonuna katılır. Hücre-hücre adezyonunda rol aldığı APC, aksin, Glikojen sentetaz kinaz 3β (GSK-3β) ve β-kateninden oluşan sitoplazmik bir

degradasyon kompleksi β -katenin'in fosforilasyonuna ve degradasyonuna yol açar. APC'de meydana gelen mutasyon sonucu β -katenin düzeyini kontrol etme fonksiyonunu kaybettiğinde, sitoplazmada β -katenin birikir ve çekirdeğe geçerek T-hücre faktörü (TCF) veya lenfosit çoğaltıcı faktör (LEF) proteinleri olarak bilinen bir transkripsiyon faktör kompleksine bağlanır. TCF, DNA bağlayan bölgeye, β -katenin de bir transaktivasyon bölgesine katılır. β -katenin-TCF kompleksi, c-MYC ve siklin D1 gibi hücre proliferasyonunu ve apoptozu düzenleyen bir grup geni aktive eder. Kısaca, normal APC fonksiyonu hücre adezyonunu yönlendirir ve hücre proliferasyonunu düzenler. APC fonksiyonunun olmayışı hücre adezyonunu azaltır ve hücre proliferasyonunu artırır. β -katenin'de mutasyon olduğunda ise, normal hücrelerde β -katenin'i fosforile eden ve degrayd eden bir kinaz olan GSK-3 β 'ya bağlanma affinitesini kaybeder ve β -katenin sitoplazmada birikerek çekirdeğe geçer ve TCF-LEF kompleksi ile bağlanarak nükleer transkripsiyon faktörlerini aktive eder ve böylece aşırı proliferasyona yol açar (1).

2.4.2. Mikrosatellit instabilite (MSI)

APC/ β -katenin arayolundaki gibi mutasyonların üst üste birikimi söz konusudur, ancak adenom-karsinom sekansından farklı olarak saptanabilen morfolojik bir korelasyon yoktur. DNA “mismatch” (yanlış eşleşme) onarım genlerindeki inaktivasyon sonucu ortaya çıkan DNA onarımındaki bozukluklar, temel özelliktir ve muhtemelen kolorektal kanser oluşma sürecini başlatan olaydır.

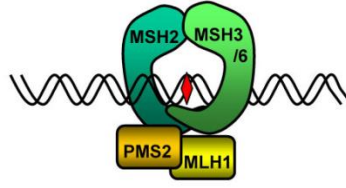
İnsandaki “mismatch” onarım genleri MSH2 (kromozom 2p22), MLH1 (kromozom 3p21), MSH6 (kromozom 2p21), PMS1 (kromozom 2q31-33) ve PMS2 (kromozom 7p22) genleridir. Bu genlerden birinde meydana gelen kalıtsal (germ-line) mutasyonlar DNA onarımını etkiler ve Lynch sendromunun gelişmesine neden olur (1). Mutasyonların çoğunluğu (%90) MLH1 ve MSH2'de görülür. Mikrosatellitler, DNA replikasyonu esnasında insersiyon veya delesyon nedeniyle yanlış dizilme oluşturmaya eğilimli nükleotid tekrarlarıdır. “Mismatch” onarımı, genellikle bu yanlış dizilmeleri düzeltir ve mikrosatellitlerin ilk uzunluklarında kalmalarını sağlar (Şekil 3). Tamir mekanizması bozulduğunda, insersiyon veya delesyon dizileri bozuk olarak

replikasyon devam eder ve çok sayıda replikasyon sonrası, değişen uzunluklarda birçok sayıda allelin varlığı ile karakterli mikrosatellit instabilitesi gelişir. İnsan genomunda yaklaşık 50.000-100.000 mikrosatellit bulunur. Mikrosatellit dizilerinin çoğu genlerin kodlanmayan bölgelerinde (intron) bulunur ve bu nedenle bu genlerdeki mutasyonlar çoğunlukla zararsızdır. Bununla birlikte, bazı mikrosatellit dizileri genlerin kodlanmış bölümlerinde veya hücre çoğalmasını düzenleyen genlerin promoter bölgelerinde bulunur. Bu bölgelerdeki genlere örnek olarak Tip II TGF- β reseptörü ve BAX genleri gösterilebilir. TGF- β sinyali kolon epitel hücrelerinin çoğalmasını inhibe eder, BAX geni de apoptoza yol açar. “Mismatch” onarımı bozulduğunda, hem bu genlerde, hem de çoğalmayı düzenleyen diğer genlerde mutasyon birikir ve tümü birlikte kolorektal karsinom gelişimine neden olur (1).

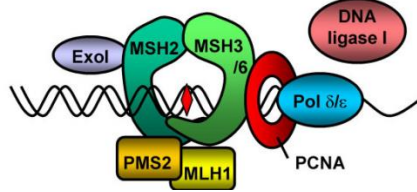
Önceleri genel somatik mutasyon (USM) ve DNA replikasyon hataları (RER) olarak adlandırılan bu duruma, günümüzde MSI-H adı verilmektedir (4).

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

A. Initiation



B. Excision & resynthesis



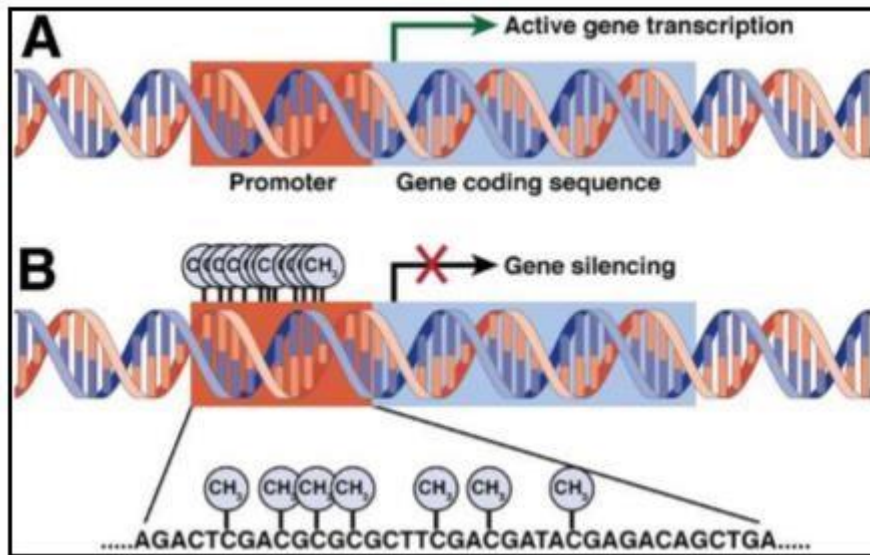
Şekil 3. DNA tamir mekanizması

MSI-H tümörler, kromozomal instabilite arayolu üzerinden gelişen tümörlerden bazı morfolojik farklılıklar gösterirler. MSI-H tümörler, daha çok sağ kolon yerleşimli, müsinöz veya bazen medüller tipte, peritümöral ve intramural, Crohn hastalığı benzeri lenfositik infiltrasyon bulunduran, kirli nekroz içermeyen, ekspansif büyüme gösteren, daha düşük evreli ve prognozu daha iyi olan tümörlerdir (4,29). MSI-H tümörler 5-florourasil gibi bazı kemoterapotiklere daha zayıf yanıt gösterirken (30), topoizomeraaz inhibitörü olan irinotekan tedavisine daha iyi yanıt verirler (4).

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

Birçok gen, promoter bölgelerinde, sitozin ve guanin dinükleotidlerinden zengin, “CpG” adaları olarak adlandırılan alanlar içerir. “CpG” adalarında bulunan sitozin kalıntılarının metilasyonu, tümör supresör genleri de içeren genlerde kromozomal yapıyı değiştirir ve gen ekspresyonunu baskılayarak mutasyon olmaksızın fonksiyon kaybına yol açar. Çeşitli genlerin promoter bölgelerinde meydana gelen metilasyon, kolorektal kanserlerin yaklaşık olarak %35’inde izlenmektedir (Şekil 4) (4). CIMP üzerinden gelişen tümörlerin %50’den fazlası mikrosatellit stabil tümörlerdir. MMR genlerinde metilasyon olduğunda, MSI tümörler de gelişebilir. CIMP üzerinden gelişen tümörlerde, aynı anda MSI yanı sıra,

KRAS, BRAF ve Tp53 mutasyonları da izlenebilir. Sık MSI-H ve BRAF mutasyonu içeren tümörler, CIMP 1 olarak adlandırılırken, yüksek oranda KRAS mutasyonu içeren, mikrosatellit stabil CIMP tümörler, CIMP 2 olarak adlandırılır. CIMP negatif tümörler sık Tp53 mutasyonu içerirler ve mikrosatellit stabildirler. Kolorektal karsinogenezin “serrated” ara yolu olarak da bilinen, CIMP arayolunda, invaziv tümör, prekürsör bir “serrated” lezyon üzerinden gelişir ve klasik adenoma-karsinom sekasında izlenen standart mekanizmaları içermez. Bu tip tümörlerde, belirgin morfolojik özellikler bulunmaktadır. Sıklıkla kadın hastalarda görülen tümörler, proksimal yerleşimli ve az diferansiye olup, BRAF mutasyonu sık olarak izlenirken, Tp53 mutasyonları daha düşük orandadır (4). Bu ara yol üzerinden gelişen çoğu tümörde, karsinogenezi başlatan olay, BRAF genini aktive eden bir mutasyondur ve bu durum kolon epitel hücrelerinde apoptozun inhibisyonu ile sonuçlanır. Bu olay sonucunda, hiperplastik veya “serrated” polipler gelişebilir. Bu lezyonlarda, çoğu gende, promoter metilasyonu bulunur ve bu herhangi bir gende indirekt inaktivasyonu (“epigenetic silencing”) indükleyebilir. Bu vakalarda, MSI sporadik karsinom gelişimi ile sonuçlanan, MLH1 promoter metilasyonu sıktır. Bunun sonucunda, Lynch sendromunda olduğu gibi, hızlı gelişen çok sayıda ek mutasyon, hızlı tümör progresyonuna neden olur (31).



Şekil 4. CpG adalarının metilasyonu

2.5. Prognostik Parametreler

Kolorektal karsinomun prognozu birçok klinik ve patolojik parametre ile ilişkilidir (32). Bu parametrelerin değerlendirilmesi, ilgili pekçok çalışmanın olması, farklı serilerde sonuç ve yorumların birbirleriyle çatışması gibi nedenlerle oldukça zordur. Ancak, Kanser Prognostik Faktörleri üzerine Amerikan Birleşik Komitesi Kolorektal Çalışma Grubunun bir Uzlaşma Konferansında (33) bu faktörler aşağıdaki şemaya göre kategorilere ayrıldı (Tablo 1).

Tablo 1. Kanser Prognostik Faktörleri Kategorizasyonu (AJC Kategorileri)

Kategori I	Literatürle iyi desteklenmiş, hasta tedavisinde kullanılmakta ve TNM evre gruplarını modifiye etmede yeterli önemi var.
Kategori IIA	Biyolojik ve/veya klinik olarak geniş ölçüde çalışılmış, tedavi için prognostik değeri var, patoloji raporunda belirtilme yeterliliğinde.
Kategori IIB	İyi çalışılmış ancak Kategori I ve IIA gibi yeterli değil.
Kategori III	Henüz Kategori I ve II'deki gerekli kriterleri sağlamamaktadır.
Kategori IV	Çalışılmıştır ve tutarsız prognostik anlam göstermektedir.

1.Yaş: Çok genç ve çok ileri yaşlarda görülen tümörler kötü prognozludur (34). Çok genç hasta popülasyonunda bu durum muhtemelen tanı gecikmesi, ülseratif kolit zemininde gelişen olguların çokluğu, taşlı yüzük hücreli ve müsinöz tümörlerin fazla sayıda olması gibi bir dizi faktörün birleşiminden kaynaklanmaktadır (35-37).

2.Cinsiyet: Prognoz kadınlarda erkeklere göre daha iyidir (34).

3.Tümör lokalizasyonu: Tartışmalı bir faktördür. Büyük bir çalışmada sol kolon yerleşimli tümörlerin en iyi prognoza sahip olduğu bildirilmekte iken, diğer bir seride prognostik önemin minimal olduğu bulunmuştur (38, 39).

4.Tümör multiplisitesi: Eş ya da farklı zamanlı maligniteleri olan hastalarda sağkalım oranı soliter kolorektal karsinomu olan hastalara benzerdir (40).

5.Lokal yayılım: Mukoza ve submukozada sınırlı tümörlerde prognoz mükemmeldir. Bölgesel lenf nodlarına metastaz yapmış olan tümörler arasında, ek olarak barsak duvarını aşmış olanların prognozu daha kötüdür (8).

6.Tümör boyutu: Boyut ile prognoz arasında bağlantı olmasına rağmen, boyutun güvenilir bir belirleyici olmadığını gösteren pekçok istisna vardır (41, 42) (AJC Kategori III).

7.Perforasyon: Barsak duvarının yaygın tümöral invazyonu sonucu oluşan perforasyon kötü prognoz ile ilişkilidir (39).

8.Tümör sınırları ve inflamatuvar reaksiyon: İtici kenara ve tümör ile komşu doku arasında bir inflamatuvar infiltrata sahip karsinomlar, bu özellikleri olmayanlara göre daha iyi bir prognoza sahiptir (43, 44) (AJC Kategori IIA). Bazen bu infiltrat Crohn hastalığında görülene benzer şekilde görülür (45). Bu bulgunun olumlu prognostik anlamı vurgulanmaktadır (AJC Kategori IIB).

9.Tümör tomurcuklanması: Tümörün invaziv sınırında izole ya da 5 hücreden küçük gruplar halinde tümör kümelerinin bulunması şeklinde tanımlanan bu özellik, güçlü ve bağımsız kötü prognoz belirteçidir (46,47).

10.Vasküler invazyon: H&E ya da elastik boyası ile venöz invazyon bulunan tümörlerde uzak metastaz sıklığında artışı ve 5 yıllık sağkalımda bir azalma saptanmıştır (48-51). Ekstramural damarların tutulumu daha fazla prognostik öneme sahiptir (52). Lenf damarı tutulumu daha az önemli olmakla birlikte, evre 3 hastalarda yaygın olduğunda olumsuz prognostik göstergedir (53) (AJC Kategori IIA).

11.Perinöral invazyon: Genelde ilerlemiş hastalık işaretidir ve diğer kötü prognostik belirteçlerle birlikte görülme eğilimindedir (AJC Kategori IIA).

12.Perikolonik tümör depozitleri: Çoğu muhtemelen destrüktif tipte bir vasküler invazyonun işareti olan bu yapıların varlığı kötü prognostik anlam taşır (54).

13.Cerrahi sınırlar: Rektal karsinomda radyal sınırın tümörle tutulumu, lokal rekürrens açısından tek ve en kritik faktör olabilir (55) (AJC Kategori IIA).

14.Mikroskopik tümör tipi: Müsinöz karsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom ve anaplastik karsinom sıradan adenokarsinoma nazaran daha kötü seyirli iken medüller karsinom daha iyi prognozludur (AJC Kategori IIB).

15.Onkogen ve tümör süpresör gen ekspresyonları: Belli kodon bölgelerindeki KRAS mutasyonlarının rekürrens gösteren hastalarda çok daha sık olduğu bulunmuştur (56) (AJC Kategori IIB). Tümörde mikrosatellit instabilite varlığı hastanın sağkalımını arttırıyor gibi görünmektedir (57). Bir çalışmada yüksek düzeyde mikrosatellit instabilitesi olanlar fluorourasil temelli adjuvan kemoterapiden fayda görmemiştir (58).

16.Lenf nodu tutulumu: Tümörün lenf nodlarına yayılımı 5 yıllık sağkalım oranını kesin olarak düşürmektedir (AJC Kategori I). Tutulan lenf nodu sayısı arttıkça prognoz kötüleşir (44). Mikrometastazların prognostik önemleri konusunda henüz uzlaşma yoktur (59) (AJC Kategori III).

17.Mikroskopik derece: Özellikle ikili derecelendirme sistemi kullanıldığında (düşük ve yüksek dereceli), derece ile prognoz arasında kesin bir ilişki bulunmaktadır (60) (AJC Kategori IIA).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olgu seçimi

K.T.Ü Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı'nda 2014-2016 yılları arasında kolorektal karsinom tanısı almış rezeksiyon spesmenleri çalışmaya dahil edilmiştir. Arşiv taraması sonuçlarına göre, elde edilen adenokarsinom olgularının yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri, tümör tipi, lokalizasyonu, boyutu, lenfovasküler invazyon durumu, diferansiyasyon dereceleri ve tümör T, N, M durumu bilgisayar kayıtları ve patoloji istem formlarından tespit edilerek kaydedilmiştir.

3.2. Patolojik inceleme

Her tümörden en az üç H&E boyalı preparat Nikon Eclipse E200 mikroskopta yeniden incelenerek tümör sınırları, kirli nekroz varlığı, tümöral tomurcuklanma, tümör infiltrate lenfositler ve Crohn benzeri lenfositik yanıt değerlendirilmiştir.

3.2.1. Tümör sınırlarında büyüme paterni

Karsinom sınırları preparat üzerinde çıplak gözle görülemiyorsa, yine çıplak gözle tümöre karşı gelişmiş iltihabi yanıtta ayrılamıyorsa, muskularis propria da desmoid reaksiyon oluşturmada ilerliyorsa, perikolik yağ dokusuna tek hücre, kordon ya da kümeler halinde ilerliyorsa ve perinöral invazyon saptanmışsa infiltratif kabul edilmiştir. Düzen ve itici tarzda olan sınırlar ise ekspansif kabul edilmiştir (61).

3.2.2. Kirli nekroz

Kolorektal tümörlerde karakteristik kabul edilen “kirli ya da garland nekroz” değerlendirilmiştir. Kirli nekroz tümör hücrelerinin oluşturduğu abortif gland yapılarının lümenlerinde nekrotik debris içermeleridir. Yalnızca fokal olarak bulunan

nekroz negatif kabul edilmiştir (<%10). Büyük jeografik nekroz alanları pozitif kabul edilmemiştir (62).

3.2.3. Tümör infiltrate lenfositler (TIL)

H&E boyalı preparatta tipik olarak çevrelerinde halo bulunan küçük mavi mononükleer hücreler TIL olarak sayılmıştır. Yalnızca tümör hücreleri arasındaki hücreler sayılmış, tümör stroma arasındaki hücreler sayıma dahil edilmemiştir. Apoptotik hücreler sayım dışında bırakılmıştır. Tümör küçük büyütmede taranmış ve en yoğun TIL alanı tespit edilmiştir (62). Bu bölgede, Nikon Eclipse E200 mikroskopta, 10 ardışık büyük büyütme alanında (x40) sayım yapılmıştır. Toplam TIL sayısı 10'a bölünerek ortalama sayı hesaplanmıştır. Cut-off olarak 2 lenfosit alınmıştır. Lenfosit izlenmedi ise TIL yok, 0-2 arası lenfosit TIL hafif-orta, 3 ve daha fazla lenfosit ise TIL belirgin kabul edilmiştir (63).

3.2.4. Crohn-benzeri lenfositik yanıt

Tümörün en invaziv alanını temsil eden preparatta Crohn-benzeri lenfositik yanıt aranmıştır. Tespit edilen en büyük lenfoid agregat çapı ölçülmüştür. 1mm'den küçük çaplı ise yanıt yok, 1 mm'ye eşit ve büyük ise yanıt var kabul edilmiştir (64).

3.2.5. Tümöral tomurcuklanma

Tümörün en invaziv alanını temsil eden preparatta büyük büyütmede tümöral tomurcuk aranmıştır. Desmoplastik stroma içerisinde tümörden ayrılmış olarak duran, en fazla 5 hücreden oluşan kümeler kabul edilmiştir. Hücrelerin iğsel nitelik kazanabileceği göz önünde bulundurulmuş, stromal hücre çekirdeklerinden farklı atipik çekirdekler içeren iğsel hücreler tomurcuklanma lehine yorumlanmıştır (65).

3.3. İmmünohistokimyasal inceleme

3.3.1. Antikorlar

Bölümümüzde, kolorektal karsinomlarda “mismatch” onarım proteinleri olan MSH2, MLH1, MSH6 ve PMS2 rezeksiyon spesmenlerinde rutin olarak çalışılmaktadır. Bu olgulardaki ekspresyon yeniden değerlendirilmiştir.

3.3.2. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi

MSH2, MLH1, MSH6 ve PMS2 antikorları Ventana BenchMark ULTRA otomatik boyama cihazında (Ventana Medical Systems, Inc.) çalışılmıştır.

Bunun için doku bloklarından 4 mikrometre kalınlığındaki kesitler, polilizin ile kaplanmış lama alınarak, deparafinize edildikten sonra immünohistokimyasal boyama basamaklarına geçilmiştir. İmmünohistokimyasal incelemede kullanılan antikorlara ait klon, üretici firma özellikleri, immünohistokimyasal boyamada kullanılan yöntem, dilüsyon ve “antijen retrieval” ile ilgili bilgiler Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Antikorların özellikleri

Antikor	Klon	Firma	Dilüsyon	Dilüent	Yöntem	Antijen retrieval	Kontrol dokusu
MLH1	M1	Roche	Kullanıma hazır	Kullanıma hazır	Otomatik sistem	Kullanıma hazır	Kolon mukozası
PMS2	EPR3947	CELL MARQUE	Kullanıma hazır	Kullanıma hazır	Otomatik sistem	Kullanıma hazır	Kolon mukozası
MSH2	G219-1129	CELL MARQUE	Kullanıma hazır	Kullanıma hazır	Otomatik sistem	Kullanıma hazır	Kolon mukozası
MSH6	44	Roche	Kullanıma hazır	Kullanıma hazır	Otomatik sistem	Kullanıma hazır	Kolon mukozası

3.3.3. İmmunhistokimyasal İncelemenin Değerlendirilmesi

Kontrol Dokuları;

Çalışmamızda, immunhistokimyasal incelemede, her bir antikor için tümöre komşu normal kolon mukozası ve lamina propriadaki lenfositler pozitif iç kontrol olarak kullanılmıştır.

İmmünhistokimyasal Değerlendirme;

İmmünhistokimyasal antikorlarla boyalı kesitler, ışık mikroskopunda (Nikon Eclipse E200) değerlendirildi. Tüm antikorlar için nükleer boyanma esas alınmıştır. Literatür eşliğinde kullanılan antikorların pozitiflik şiddetinin değerlendirilmesinde aşağıdaki yöntem kullanılmıştır:

- Suboptimal örnek: İç kontrol negatif
- İntakt: %30'dan fazla neoplastik hücrede nükleer boyanma, iç kontrol pozitif
- Fokal boyanma: %5-30 arasındaki neoplastik hücrede nükleer boyanma, iç kontrol pozitif
- Kayıp= %5'ten az neoplastik hücrede nükleer boyanma, iç kontrol pozitif skorlanmıştır.

İntakt boyanma ve fokal boyanma kategorileri ekspresyon korunması olarak, kayıp kategorisi ise ekspresyon kaybı olarak kabul edilmiştir (66).

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analiz için SPSS veri tabanı kullanılmıştır. Niteliksel veriler sayı ve yüzde olarak, ölçümsel veriler ise ortalama ve standart sapma olarak özetlenmiştir. Pearson Ki-Kare testi kullanılmıştır. P değeri için $\leq 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında 2014-2016 yılları arasında rezeksiyon materyalinden tanı alan kolon adenokarsinomlarından toplam 116 vaka çalışmamıza dahil edilmiştir.

4.1. Yaş ve Cinsiyet

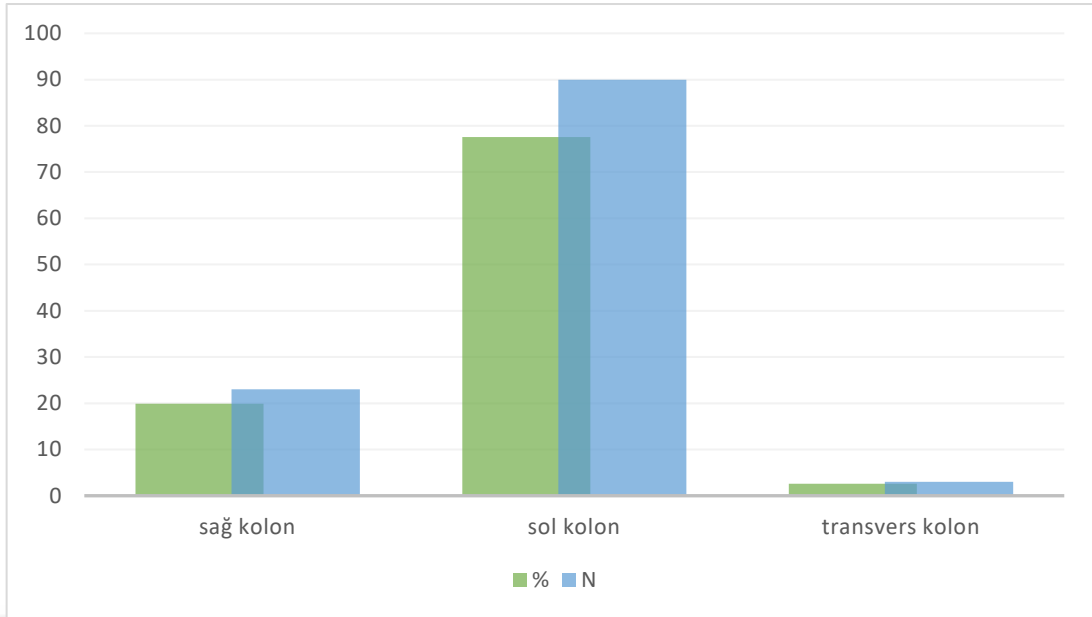
Olguların %38,8'i kadın (n=45), %61,2'si erkekti (n=71) (Şekil 5). Olguların yaş aralığı 23-90, ortalama yaş 63'tür.



Şekil 5. Olguların cinsiyet dağılımı

4.2. Lokalizasyon

Olgulara ait tümörlerin 90 adedi (%77,6) sol kolon yerleşimli, 23 adedi (%19,9) sağ kolon yerleşimli olup 3 adedi (%2,6) transvers kolon yerleşimlidir (Şekil 6).



Şekil 6. Olguların lokalizasyonları

4.3. Tümör Çapı

Karsinom boyutları değerlendirilirken, en büyük boyut esas alınmıştır. Buna göre en küçük karsinom çapı 0,3 cm, en büyüğü ise 12 cm olup, ortalama çap 4,4 cm olarak belirlenmiştir.

4.4. Histolojik Greyd

116 vakanın 98 adedi (%84,5) greyd 1, 14 adedi (%12,5) greyd 2 ve 4 adedi (%3,4) greyd 3'tür. Histolojik greyd dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 3. Histolojik greyd dağılımı

	n	%
Histolojik greyd		
Greyd 1	98	84,5
Greyd 2	14	12,1
Greyd 3	4	3,4

4.5. Tümör İnvazyon Derinliği

Vakaların 2'si (%1,7) T1, 24'ü (20,7) T2, 81'i (%69,8) T3, 5'i (%4,3) T4a, 4'ü (%3,4) T4b olarak raporlanmıştır (Tablo 3).

Tablo 4. İnvazyon derinliği

	n	%
İnvazyon derinliği		
Submukoza (T1)	2	1,7
Kas tabakası (T2)	24	20,7
Subserozal yağ doku (T3)	81	69,8
Seroza (T4a)	5	4,3
Komşu organ (T4b)	4	3,4

4.6. Büyüme Paterni

Vakaların 93 adedinde (%80,2) patern infiltratif olup, 23 adedinde (%19,8) patern ekspansiftir (Tablo 4).

Tablo 5. Büyüme paterni

	n	%
Büyüme paterni		
Ekspansif	23	19,8
İnfiltratif	93	80,2

4.7. Lenfovasküler ve Perinöral İnvazyon

Vakaların 31'inde (%26,7) lenfovasküler invazyon saptanmış, 85'inde (%73,3) lenfovasküler invazyon izlenmemiştir. Vakaların 21 adedinde (%18,1) perinöral invazyon mevcut olup, 95 adedinde (%81,9) perinöral invazyon görülmemiştir (Tablo 5).

Tablo 6. Lenfovasküler ve perinöral invazyon

	n	%
Lenfovasküler invazyon		
Var	31	26,7
Yok	85	73,3
Perinöral invazyon		
Var	21	18,1
Yok	95	81,9

4.8. Bölgesel Lenf Nodu Metastazı

Olguların 61'inde (%52,6) lenf nodu metastazı saptanmamıştır. Olguların 15'i (%12,9) N1a, 13'ü (%11,2) N1b, 10'u (%8,6) N1c, 9'u (%7,8) N2a ve 8'i (%6,9) N2b kategorisindedir (Tablo 6).

Tablo 7. Bölgesel lenf nodu metastazı

Bölgesel lenf nodu	n	%
N0=Nod (-)	61	%52,6
N1a=1 Nod (+)	15	%12,9
N1b=2ve3 Nod (+)	13	%11,2
N1c=Nod (-)/tümör depoziti(+)	10	%8,6
N2a=4-6 Nod (+)	9	%7,8
N2b=>7 Nod (+)	8	%6,9

4.9. Uzak Metastaz Durumu

Olguların 99 adedinde (%85,3) metastaz saptanmamıştır. 15'inde (%12,9) tek bir organ ya da bölgede metastaz saptanırken, 2'sinde (%1,7) birden fazla organ ya da bölgede ya da peritoneal alanda metastaz izlenmiştir (Tablo 7).

Tablo 8. Uzak metastaz durumu

	n	%
Uzak metastaz		
M0	99	85,3
M1a	15	12,9
M1b	2	1,7

4.10. Kirli Nekroz

Vakaların 91’inde (%78) kirli nekroz izlenirken, 25’inde (%21,6) kirli nekroz saptanmamıştır.

4.11. Tümör İnfiltrate Eden Lenfositler (TIL)

63 adet (%54,3) vakada tümör infiltrate eden lenfosit izlenmemiştir. 37 vakada (%31,9) büyük büyütme başına 0-2 adet tümör infiltrate lenfosit (hafif-orta) görülmüştür. 16 vakada (%13,8) büyük büyütme başına 3 ve daha fazla tümör infiltrate lenfosit (belirgin) saptanmıştır (Tablo 8).

Tablo 9. Tümör infiltrate eden lenfositler

	n	%
TIL		
Yok	63	54,3
Hafif-orta	37	31,9
Belirgin	16	13,8

4.12. Crohn Benzeri Lenfositik Yanıt

Vakaların 98’inde (%84,5) Crohn benzeri lenfositik yanıt izlenmemiştir. 18 adet (%15,5) vakada Crohn benzeri lenfositik yanıt saptanmıştır (Tablo 9).

Tablo 10. Crohn benzeri lenfositik yanıt

	n	%
Crohn benzeri yanıt		
Var	18	15,5
Yok	98	84,5

4.13. Müsinöz ve Medüller Diferansiasyon

37 adet (%31,9) vakada müsinöz diferansiasyon izlenmiştir, 79 adet (%68,1) vakada ise müsinöz diferansiasyon görülmemiştir. 116 vakadan yalnızca 1’inde medüller diferansiasyon saptanmıştır (Tablo 10).

Tablo 11. Müsinöz ve medüller diferansiasyon

	n	%
Müsinöz diferansiasyon		
Var	37	31,9
Yok	79	68,1
Medüller diferansiasyon		
Var	1	0,9
Yok	115	99,1

4.14. Tümöral Tomurcuklanma

Olguların 48’inde (%41,4) tümöral tomurcuklanma izlenmiş, 68’inde (%58,6) tümöral tomurcuklanma görülmemiştir (Tablo 11).

Tablo 12. Tümöral tomurcuklanma

	n	%
Tomurcuk		
Var	48	41,4
Yok	68	58,6

4.15. Evre

24 adet (%20,7) kolon adenokarsinom vakası Evre 1 iken, 29 vaka (%25) Evre 2a, 3 vaka (%2,6) Evre 2b, 1 vaka (%0,9) Evre 2c, 2 vaka (%1,7) Evre 3a, 34 vaka (%29,3) Evre 3b, 6 vaka (%5,2) Evre 3c, 15 vaka (%12,9) Evre 4a, 2 vaka (%1,7) Evre 4b'dir (Tablo 12).

Tablo 13. Evre

	n	%
Evre		
1	24	20,7
2a	29	25
2b	3	2,6
2c	1	0,9
3a	2	1,7
3b	34	29,3
3c	6	5,2
4a	15	12,9
4b	2	1,7
Toplam	116	100

4.16. Hasta Takibi

Vakaların takibinde 5 tanesinin (%4,3) ex olduğu görülmüştür. 7 adet (%6) vaka takibinde metastaz/metastaz progresyonu izlenmiştir. 5 adet (%4,3) vakada ise nüks saptanmıştır. Diğer vakalar halen nüks olmaksızın yaşamaktadır.

Tablo 14. Takip durumu

	n	%
Ex	5	4,3
Metastaz	7	6
Nüks	5	4,3

4.17. Preoperatif Tedavi Durumu

Hastaların 13'ünün (%11,2) preoperatif kemoradyoterapi aldığı saptanmıştır.

4.18. Sağkalım

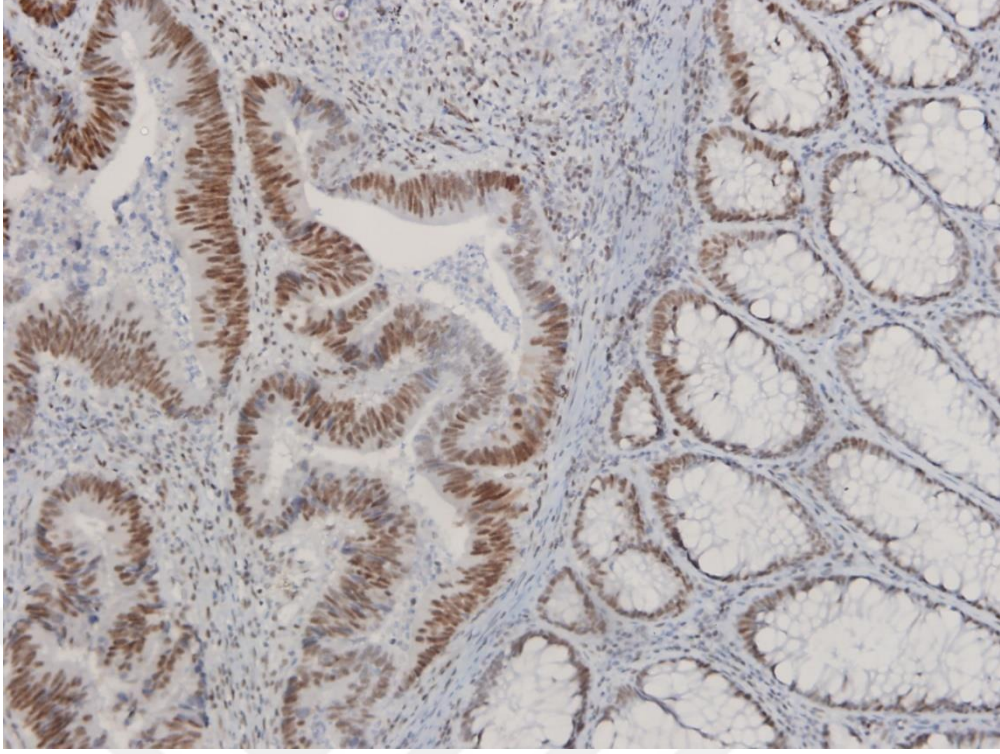
Hastaliksız sağkalım; ex, metastaz ve nüks eden olgular çıkarıldıktan sonra toplam 99 olguda değerlendirilmiştir. 16 adet hastanın takiplerine ulaşılammıştır.

Toplam 83 hastada incelenen hastaliksız sağkalım süresi en az 1 ay, en çok 23 aydır.

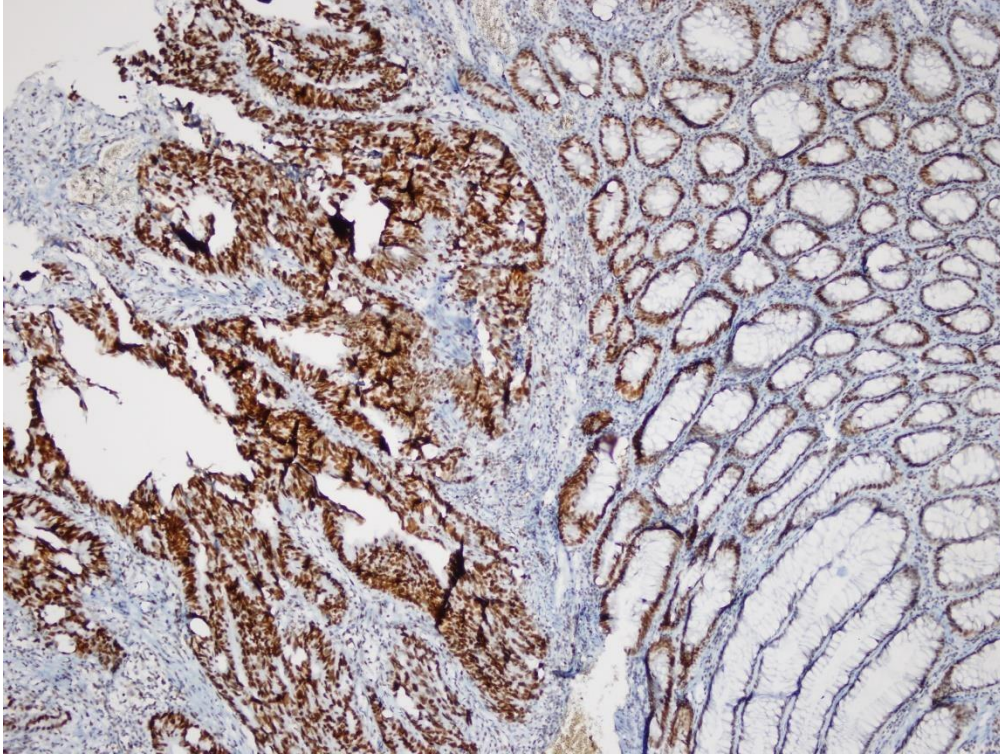
4.19. Klinikopatolojik Veriler ile MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda kolorektal kanser olgularının immünhistokimyasal değerlendirmesinde 14 vakada MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilemezken (iç kontrol negatif) aynı vakalarda PMS-2 çalışılamamıştır. Diğer işaretleyicilerin çalışıldığı bir olguda ise MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. 4'lü panelin çalışılabildiği 101 vakadan 70 olguda (%69,3) 4 işaretleyicideki ekspresyonlar korunmuştur. 31 olguda (%30,7) en az 1 immün işaretleyicide ekspresyon kaybı saptanmıştır. Bu vakaların dağılımı şöyledir;

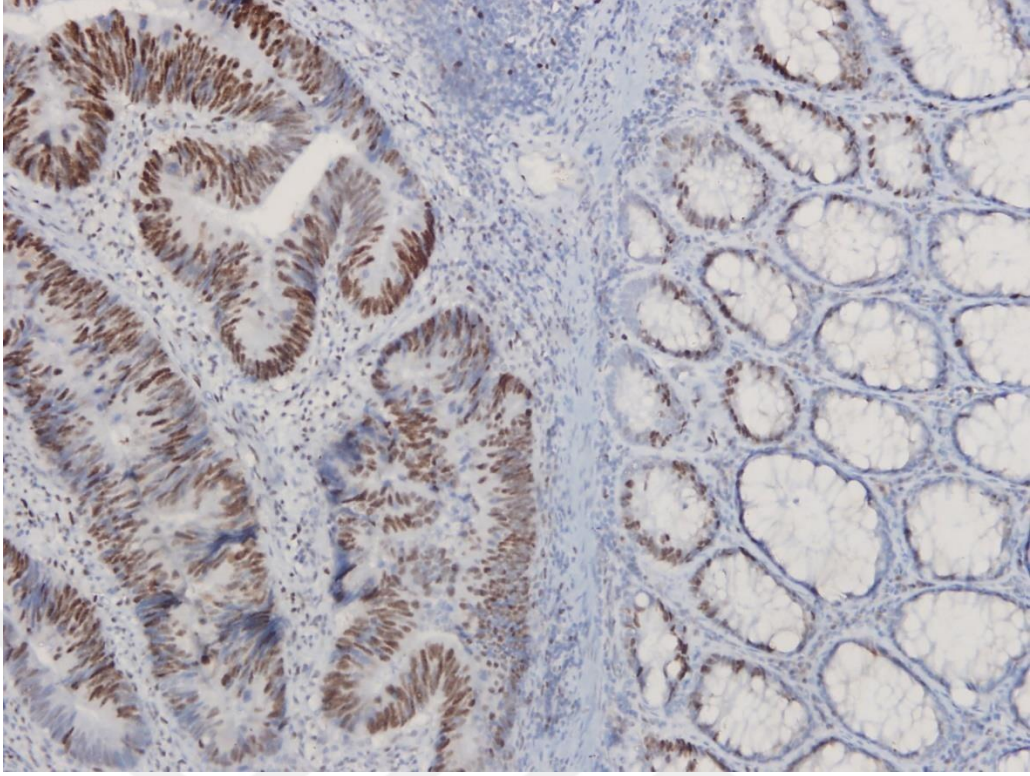
- 14 vakada (%13,8) MLH-1 ve PMS-2 ekspresyonlarında beraber kayıp
- 3 vakada (%3) MSH-2 ve MSH-6 ekspresyonlarında beraber kayıp
- 5 vakada (%4,9) PMS-2'de izole kayıp
- 3 vakada (%3) MSH-6'da izole kayıp
- 1 vakada (%1) MSH-2'de izole kayıp
- 3 vakada (%3) MLH-1, PMS-2, MSH-6'da 3'lü kayıp
- 2 vakada (%2) MLH-1 ve MSH-6'da beraber kayıp



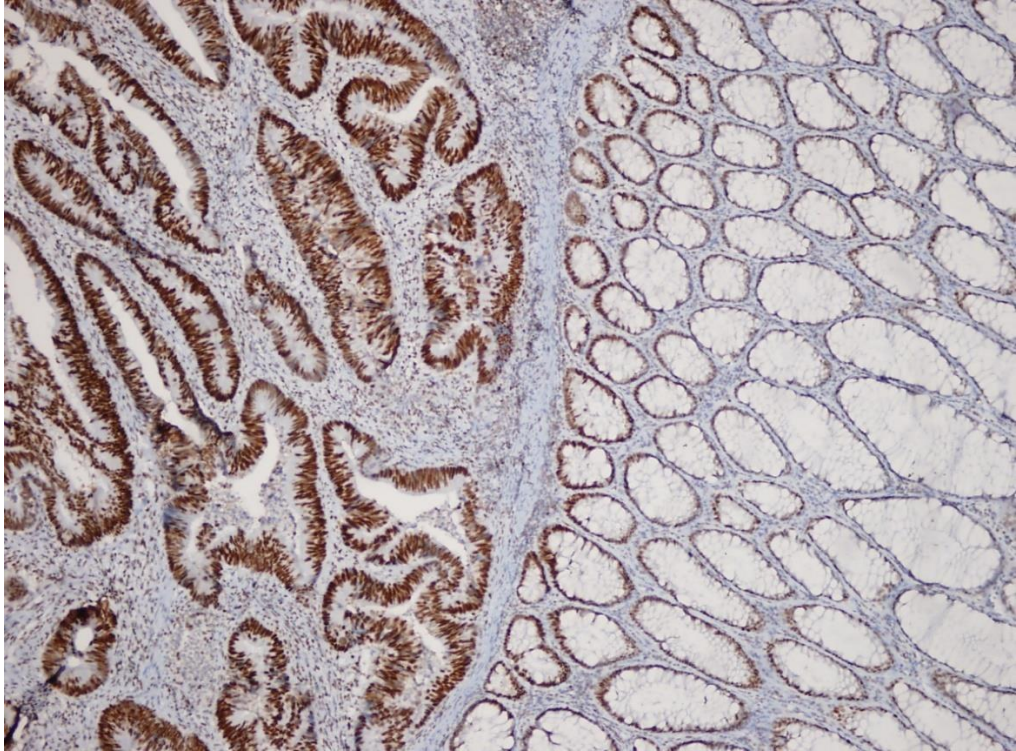
Resim 1. Sağda normal kolon mukozası (internal kontrol) ve solda tümör dokusunda MLH-1 ile nükleer boyanma



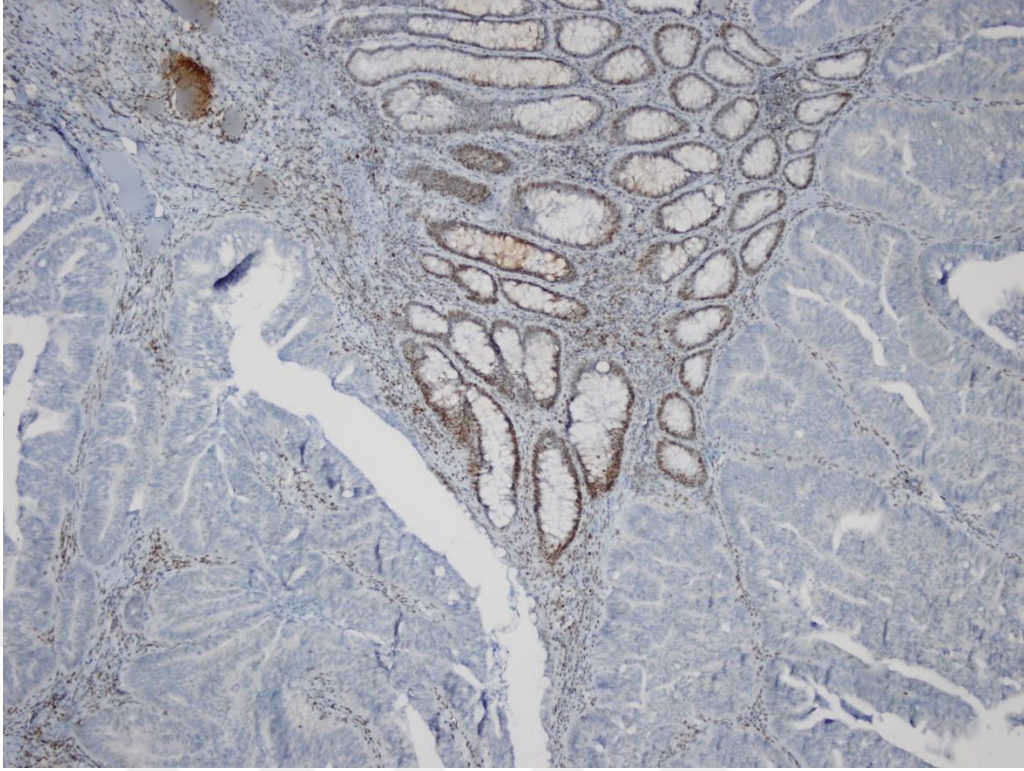
Resim 2. Sağda normal kolon mukozası (internal kontrol) ve solda tümör dokusunda PMS-2 ile nükleer boyanma



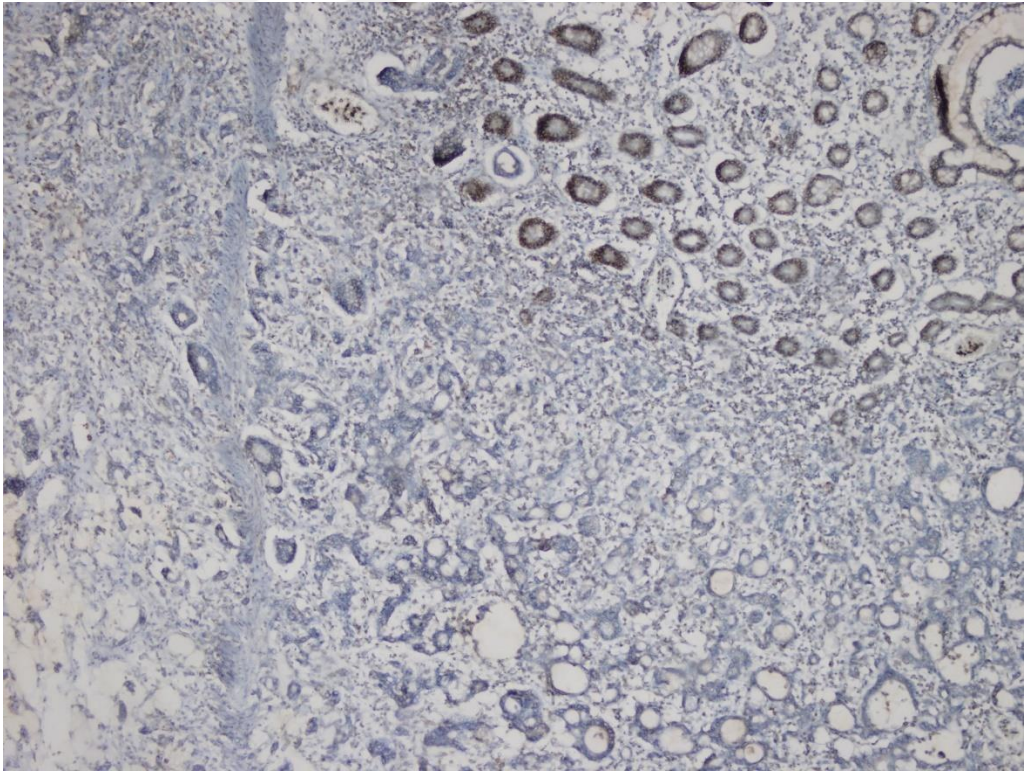
Resim 3. Sağda normal kolon mukozası (internal kontrol) ve solda tümör dokusunda MSH-2 ile nükleer boyanma



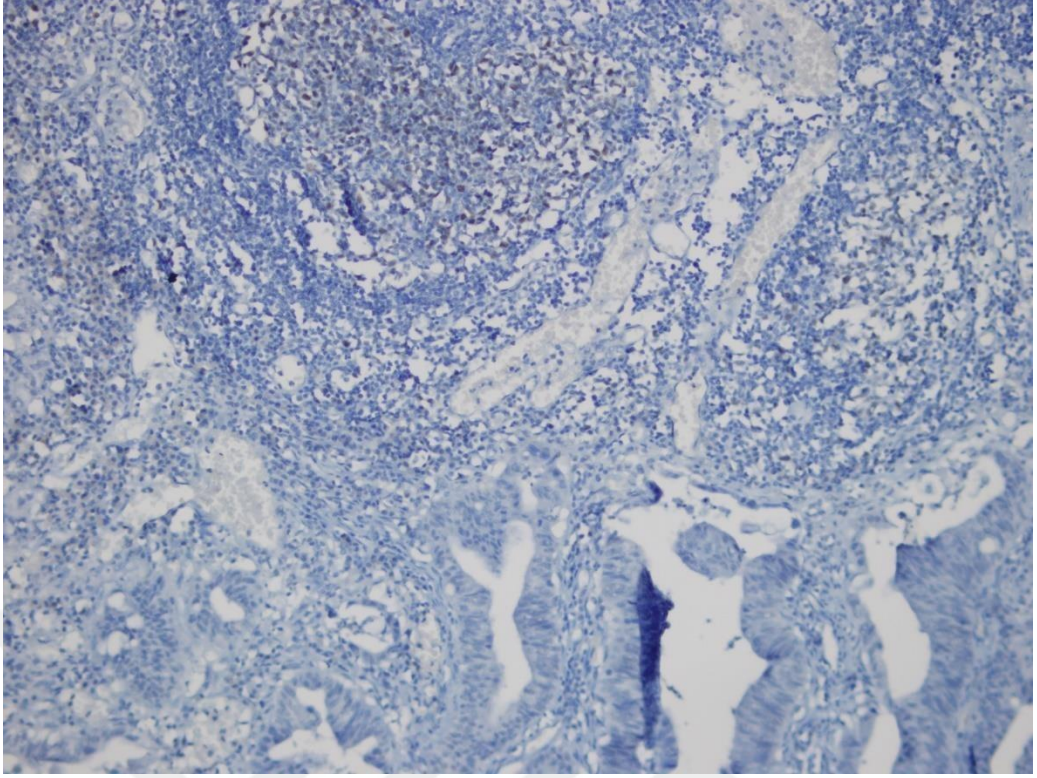
Resim 4. Sağda normal kolon mukozası (internal kontrol) ve solda tümör dokusunda MSH-6 ile nükleer boyanma



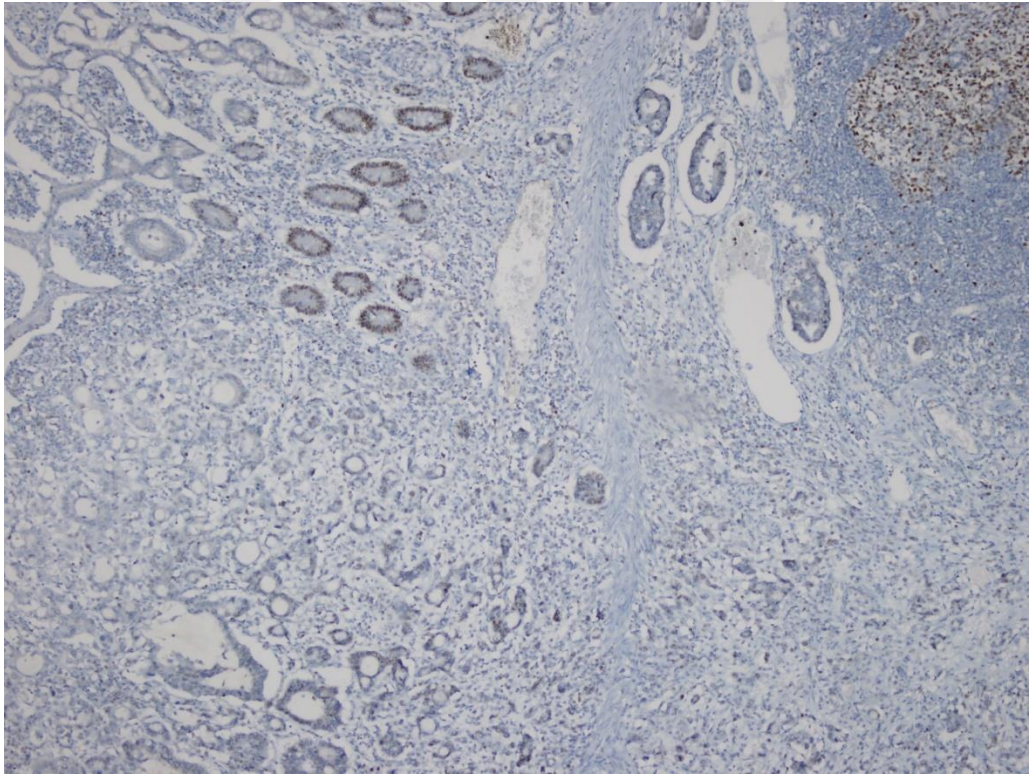
Resim 5. Üstte normal kolon mukozasında pozitif boyanma (internal kontrol) ve altta tümör dokusunda MLH-1 ile nükleer ekspresyon kaybı



Resim 6. Üstte normal kolon mukozasında pozitif boyanma (internal kontrol) ve altta tümör dokusunda PMS-2 ile nükleer ekspresyon kaybı



Resim 7. Üstte lenfositlerde pozitif boyanma (internal kontrol) ve altta tümör dokusunda MSH-2 ile nükleer ekspresyon kaybı



Resim 8. Üstte normal kolon mukozası ve lenfositlerde pozitif boyanma (internal kontrol) ve altta tümör dokusunda MSH-6 ile nükleer ekspresyon kaybı

4.19.1. Cinsiyet- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilemeyen (internal kontrol negatif) 18 vaka mevcuttur. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 6'sı (%35,3) kadın, 11'i (%64,7) erkektir. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 29'u (%35,8) kadın, 52'si (%64,2) erkektir. MLH-1 boyanmasında kadın ve erkek cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p= 1$).

PMS-2 ekspresyonlarının değerlendirilmediği 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakadan 8'i (%42,1) kadın olup, 11'i (%57,9) erkektir. PMS-2 ekspresyonu korunmuş olan 75 vakanın 26'sı (%34,7) kadın, 49'u (%65,3) erkektir. PMS-2 boyanmasında kadın ve erkek cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p= 0,737$).

Çalışmamızda MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 2'si (%50) kadın, 2'si (%50) erkektir. MSH-2 ekspresyonu korunmuş olan 112 vakanın 43'ü (%38,4) kadın, 69'u (%61,6) erkektir. MSH-2 boyanmasında kadın ve erkek cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p= 0,641$).

Çalışmamızda MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 6'sı (%54,5) kadın, 5'i (%45,5) erkektir. MSH-6 ekspresyonu korunmuş olan 105 vakanın 39'u (%37,1) kadın, 66'sı (%62,9) erkektir. MSH-6 boyanmasında kadın ve erkek cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p= 0,33$).

4.19.2. Yaş- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilemeyen 18 vaka mevcuttur. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 7'si (%41,2) 50 yaş altı, 10'u (%58,8) 50 yaş ve üstüdür. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 9'u (%11,1) 50 yaş altı, 72'si (%88,9) 50 yaş ve üstüdür. MLH-1 boyanmasında 50 yaş altı ve 50 yaş ve üstü popülasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p= 0,006$).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 7'si (%36,8) 50 yaş altı, 12'si (%63,2) 50 yaş ve üstündedir. PMS-2 ekspresyonları korunmuş olan 75 vakanın 8'i (%10,7) 50 yaş altı, 67'si (%89,3) 50 yaş ve üstündedir. PMS-2 boyanmasında 50 yaş altı ve 50 yaş ve üstü popülasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p=0,011$).

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 4'ü de (%100) 50 yaş ve üstündedir. MSH-2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 17'si (%15,2) 50 yaş altı, 95'i (%84,8) 50 yaş ve üstündedir. MSH-2 boyanmasında 50 yaş altı ve 50 yaş ve üstü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=1$).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 3'ü (%27,3) 50 yaş altı, 8'i (%72,7) 50 yaş ve üstündedir. MSH-6 ekspresyonları korunmuş olan 105 vakanın 14'ü (%13,3) 50 yaş altı, 91'i (%86,7) 50 yaş ve üstündedir. MSH-6 boyanmasında 50 yaş altı ve 50 yaş ve üstü popülasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,2$).

4.19.3. Tümör Çapı- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilen 98 olgu vardır. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 6'sı (%35,3) 5 cm'den küçük, 11'i (%64,7) 5 cm ve üstü tümörlerdir. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 54'ü (%66,7) 5 cm'den küçük, 27'si (%33,3) 5 cm ve üstü tümörlerdir. MLH-1 boyanmasında 5 cm'den küçük ve 5 cm ve üstü tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p=0,032$).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 5'i (%26,3) 5 cm'den küçük, 14'ü (%73,7) 5 cm ve üstü tümörlerdir. PMS-2 ekspresyonları korunmuş olan 75 vakanın 54'ü (%72) 5 cm'den küçük, 21'i (%28) 5 cm ve üstü tümörlerdir. PMS-2 boyanmasında 5 cm'den küçük ve 5 cm ve üstü tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p=0,001$).

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 3'ü (%75) 5 cm'den küçük, 1'i (%25) 5 cm ve üstü tümörlerdir. MSH-2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 67'si (%59,8) 5 cm'den küçük, 45'i (%40,2) 5 cm ve üstü tümörlerdir. MSH2 boyanmasında 5 cm'den küçük ve 5 cm ve üstü tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p= 1).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 4'ü (%36,4) 5 cm'den küçük, 7'si (%63,6) 5 cm ve üstü tümörlerdir. MSH-6 ekspresyonları korunmuş olan 105 vakanın 66'sı (%62,9) 5 cm'den küçük, 39'u (%37,1) 5 cm ve üstü tümörlerdir. MSH-6 boyanmasında 5 cm'den küçük ve 5 cm ve üstü tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p= 0,11).

Tablo 15. Klinikopatolojik veriler ve MMR protein ekspresyonları ilişkisi-1

		MLH1	MLH1	p	PMS2	PMS2	p	MSH2	MSH2	p	MSH6	MSH6	p
		(+)	(-)		(+)	(-)		(+)	(-)		(+)	(-)	
		n(%)	n(%)		n(%)	n(%)		n(%)	n(%)		n(%)	n(%)	
Cinsiyet	Kadın	29(35,8)	6(35,3)	1	26(34,7)	8(42,1)	0,737	43(38,4)	2(50)	0,641	39(37,1)	6(54,5)	0,33
	Erkek	52(64,2)	11(64,7)		49(65,3)	11(57,9)		69(61,6)	2(50)		66(62,9)	5(45,5)	
Yaş	<50	9(11,1)	7(41,2)	0,006	8(10,7)	7(36,8)	0,011	17(15,2)	0(0)	1	14(13,3)	3(27,3)	0,2
	≥50	72(88,9)	10(58,8)		67(89,3)	12(63,2)		95(84,8)	4(100)		91(86,7)	8(72,7)	
Çap	<5cm	54(66,7)	6(35,3)	0,032	54(72)	5(26,3)	0,001	67(59,8)	3(75)	1	66(62,9)	4(36,4)	0,11
	≥5cm	27(33,3)	11(64,7)		21(28)	14(73,7)		45(40,2)	1(25)		39(37,1)	7(63,6)	

4.19.4. Lenfovasküler İnvazyon- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilen 98 olgu vardır. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 9'unda (%52,9) lenfovasküler invazyon varken, 8'inde (%47,1) lenfovasküler invazyon yoktur. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 17'sinde (%21) lenfovasküler invazyon varken, 64'ünde (%79) lenfovasküler invazyon yoktur. MLH-1 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p= 0,013).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 7'sinde (%36,8) lenfovasküler invazyon varken, 12'sinde (%63,2) lenfovasküler invazyon yoktur. PMS-2 ekspresyonları korunmuş olan 75 vakanın 17'sinde (%22,7) lenfovasküler invazyon varken, 58'inde (%77,3) lenfovasküler

invazyon yoktur. PMS-2 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,24$).

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 2'sinde (%50) lenfovasküler invazyon varken, 2'sinde (%50) lenfovasküler invazyon yoktur. MSH2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 29'unda (%25,9) lenfovasküler invazyon varken, 83'ünde (%74,1) lenfovasküler invazyon yoktur. MSH-2 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,29$).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 7'sinde (%63,6) lenfovasküler invazyon varken, 4'ünde (%36,4) lenfovasküler invazyon yoktur. MSH-6 ekspresyonları korunmuş olan 105 vakanın 24'ünde (%22,9) lenfovasküler invazyon varken, 81'inde (%77,1) lenfovasküler invazyon yoktur. MSH-6 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p= 0,008$).

4.19.5. Perinöral İnvazyon- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilen 98 olgu vardır. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 2'sinde (%11,8) perinöral invazyon varken, 15'inde (%88,2) perinöral invazyon yoktur. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 17'sinde (%21) perinöral invazyon varken, 64'ünde (%79) perinöral invazyon yoktur. MLH-1 ekspresyonu ile perinöral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,513$).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 2'sinde (%10,5) perinöral invazyon varken, 17'sinde (%89,5) perinöral invazyon yoktur. PMS-2 ekspresyonları korunmuş olan 75 vakanın 17'sinde (%22,7) perinöral invazyon varken, 58'inde (%77,3) perinöral invazyon yoktur. PMS-2 ekspresyonu ile perinöral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,34$).

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 4'ünde de (%100) perinöral invazyon yoktur. MSH-2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 21'inde (%18,8) perinöral invazyon varken, 91'inde (%81,3) perinöral invazyon yoktur. MSH-2

ekspresyonu ile perinöral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=1$).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 11'inde de (%100) perinöral invazyon yoktur. MSH-6 ekspresyonları korunmuş olan 105 vakanın 21'inde (%20) perinöral invazyon varken, 84'ünde (%80) perinöral invazyon yoktur. MSH-6 ekspresyonu ile perinöral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,21$).

4.19.6. Uzak Metastaz- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilen 98 olgu vardır. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 15'inde (%88,2) uzak metastaz yok iken, 2'sinde (%11,8) uzak metastaz vardır. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 69'unda (%85,2) uzak metastaz yok iken, 12'sinde (%14,8) uzak metastaz vardır. MLH-1 ekspresyonu ile uzak metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=1$).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 1'inde (%5,3) uzak metastaz varken, 18'inde (%94,7) uzak metastaz yoktur. PMS-2 ekspresyonları korunmuş olan 75 vakanın 12'sinde (%16) uzak metastaz varken, 63'ünde (%84) uzak metastaz yoktur. PMS-2 ekspresyonu ile uzak metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,455$).

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 1'inde (%25) uzak metastaz varken, 3'ünde (%75) uzak metastaz yoktur. MSH-2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 16'sinde (%14,3) uzak metastaz varken, 96'sında (%85,7) uzak metastaz yoktur. MSH-2 ekspresyonu ile uzak metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,474$).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 9'unda (%81,8) uzak metastaz yok iken, 2'sinde (%18,2) uzak metastaz vardır. MSH-6 ekspresyonları korunmuş olan 105 vakanın 90'ında (%85,7) uzak metastaz yok iken, 15'inde (%14,3) uzak metastaz vardır. MSH-6 ekspresyonu ile uzak metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p= 0,663).

Tablo 16. Klinikopatolojik veriler ve MMR protein ekspresyonları ilişkisi-2

		MLH1 (+)	MLH1 (-)	p	PMS2 (+)	PMS2 (-)	p	MSH2 (+)	MSH2 (-)	p	MSH6 (+)	MSH6 (-)	p
		n(%)	n(%)		n(%)	n(%)		n(%)	n(%)		n(%)	n(%)	
Lvi*	Yok	64(79)	8(47,1)	0,013	58(77,3)	12(63,2)	0,24	83(74,1)	2(50)	0,29	81(77,1)	4(36,4)	0,008
	Var	17(21)	9(52,9)		17(22,7)	7(36,8)		29(25,9)	2(50)		24(22,9)	7(63,6)	
Pni*	Yok	64(79)	15(88,2)	0,513	58(77,3)	17(89,5)	0,34	91(81,3)	4(100)	1	84(80)	11(100)	0,21
	Var	17(21)	2(11,8)		17(22,7)	2(10,5)		21(18,8)	0(0)		21(20)	0(0)	
Met*	Yok	69(85,2)	15(88,2)	1	63(84)	18(94,7)	0,455	96(85,7)	3(75)	0,474	90(85,7)	9(81,8)	0,663
	Var	12(14,8)	2(11,8)		12(16)	1(5,3)		16(14,3)	1(25)		15(14,3)	2(18,2)	

*Lvi: Lenfovasküler invazyon, Pni: Perinöral invazyon, Met: Metastaz.

4.19.7. Greyd- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilen 98 olgu vardır. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 13'ü (%76,5) greyd 1-2, 4'ü (%23,5) greyd 3 tümörlerdir. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 81'i de (%100) greyd 1-2 tümörlerdir. MLH-1 boyanmasında düşük (greyd 1-2) ve yüksek (greyd 3) greyd arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,001).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 17'si (%89,5) greyd 1-2, 2'si (%10,5) greyd 3 tümörlerdir. PMS-2 ekspresyonları korunmuş olan 75 vakanın 75'i de (%100) greyd 1-2 tümörlerdir. PMS-2 boyanmasında düşük (greyd 1-2) ve yüksek (greyd 3) greyd arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p= 0,039).

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 4'ü de (%100) greyd 1-2 tümörlerdir. MSH-2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 108'i (%96,4) greyd 1-2, 4'ü (%3,6) greyd 3 tümörlerdir. MSH-2 boyanmasında düşük (greyd 1-2) ve

yüksek (grejd 3) grejd arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p= 1).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 8'i (%72,7) grejd 1-2, 3'ü (%27,3) grejd 3 tümörlerdir. MSH-6 ekspresyonları korunmuş olan 105 vakanın 104'ü (%99) grejd 1-2, 1'i (%1) grejd 3 tümörlerdir MSH-6 boyanmasında düşük (grejd 1-2) ve yüksek (grejd 3) grejd arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p= 0,002).

4.19.8. Tümör Sınırları- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilen 98 olgu vardır. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 6'sı (%35,3) ekspansif sınırlı, 11'i (%64,7) infiltratif sınırlıdır. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 9'u (%11,1) ekspansif sınırlı, 72'si (%88,9) infiltratif sınırlıdır. MLH-1 ekspresyonu ile tümör sınırları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p= 0,022).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 6'sı (%31,6) ekspansif sınırlı, 13'ü (%68,4) infiltratif sınırlıdır. PMS-2 ekspresyonları korunmuş olan 75 vakanın 8'i (%10,7) ekspansif sınırlı, 67'si (%89,3) infiltratif sınırlıdır. PMS-2 ekspresyonu ile tümör sınırları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p= 0,033).

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 2'si (%50) ekspansif sınırlı, 2'si (%50) infiltratif sınırlıdır. MSH-2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 21'i (%18,8) ekspansif sınırlı, 91'i (%81,3) infiltratif sınırlıdır. MSH-2 ekspresyonu ile tümör sınırları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p= 0,175).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 5'i (%45,5) ekspansif sınırlı, 6'sı (%54,5) infiltratif sınırlıdır. MSH-6 ekspresyonları korunmuş olan 105 vakanın 18'i (%17,1) ekspansif sınırlı, 93'ü (%80,2) infiltratif sınırlıdır. MSH-6 ekspresyonu ile tümör sınırları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p= 0,04).

4.19.9. Kirli Nekroz- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilen 98 olgu vardır. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 12'sinde (%70,6) kirli nekroz varken, 5'inde (%29,4) kirli nekroz yoktur. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 65'inde (%80,2) kirli nekroz varken, 16'sında (%19,8) kirli nekroz yoktur. MLH-1 ekspresyonu ile kirli nekroz arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,515$).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 15'inde (%78,9) kirli nekroz varken, 4'ünde (%21,1) kirli nekroz yoktur. PMS-2 ekspresyonları korunmuş olan 75 vakanın 61'inde (%81,3) kirli nekroz varken, 14'ünde (%18,7) kirli nekroz yoktur. PMS-2 ekspresyonu ile kirli nekroz arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,755$).

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 4'ünde de (%100) kirli nekroz vardır. MSH-2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 87'sinde (%77,7) kirli nekroz varken, 25'inde (%22,3) kirli nekroz yoktur. MSH-2 ekspresyonu ile kirli nekroz arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,576$).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 6'sında (%54,5) kirli nekroz varken, 5'inde (%45,5) kirli nekroz yoktur. MSH-6 ekspresyonları korunmuş olan 105 vakanın 85'inde (%81) kirli nekroz varken, 20'sinde (%19) kirli nekroz yoktur. MSH-6 ekspresyonu ile kirli nekroz arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,057$).

Tablo 17. Klinikopatolojik veriler ve MMR protein ekspresyonları ilişkisi-3

		MLH1 (+)	MLH1 (-)	p	PMS2 (+)	PMS2 (-)	p	MSH2 (+)	MSH2 (-)	p	MSH6 (+)	MSH6 (-)	p
		n(%)	n(%)		n(%)	n(%)		n(%)	n(%)		n(%)	n(%)	
Greyd	1-2	81(100)	13(76,5)	0,001	75(100)	17(89,5)	0,039	108(96,4)	4(100)	1	104(99)	8(72,7)	0,002
	3	0(0)	4(23,5)		0(0)	2(10,5)		4(3,6)	0(0)		1(1)	3(27,3)	
Tümör Sınırları	İnfiltratif	72(88,9)	11(64,7)	0,022	67(89,3)	13(68,4)	0,033	91(81,3)	2(50)	0,175	93(80,2)	6(54,5)	0,04
	Ekspansif	9(11,1)	6(35,3)		8(10,7)	6(31,6)		21(18,8)	2(50)		18(17,1)	5(45,5)	
Kirli nekroz	Yok	16(19,8)	5(29,4)	0,515	14(18,7)	4(21,1)	0,755	25(22,3)	0(0)	0,576	20(19)	5(45,5)	0,057
	Var	65(80,2)	12(70,6)		61(81,3)	15(78,9)		87(77,7)	4(100)		85(81)	6(54,5)	

4.19.10. Tümör İnfiltre Eden Lenfositler- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilen 98 olgu vardır. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 7'sinde (%41,2) TIL yok iken, 10'unda (%58,8) TIL hafif-belirgin olarak vardır. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 47'sinde (%58) TIL yok iken, 34'ünde (%42) TIL hafif-belirgin olarak vardır. MLH-1 ekspresyonu ile TIL arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,317$).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 6'sında (%31,6) TIL yok iken, 13'ünde (%68,4) TIL hafif-belirgin olarak vardır. PMS-2 ekspresyonları korunmuş olan 75 vakanın 45'inde (%60) TIL yok iken, 30'unda (%40) TIL hafif-belirgin olarak vardır. PMS-2 ekspresyonu ile TIL arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p= 0,05$).

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 1'inde (%25) TIL yok iken, 3'ünde (%75) TIL hafif-belirgin olarak vardır. MSH-2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 62'sinde (%55,4) TIL yok iken, 50'sinde (%44,6) TIL hafif-belirgin olarak vardır. MSH-2 ekspresyonu ile TIL arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,33$).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 4'ünde (%36,4) TIL yok iken, 7'sinde (%63,6) TIL hafif-belirgin olarak vardır. MSH-6 ekspresyonları

korunmuş olan 105 vakanın 59'unda (%56,2) TIL yok iken, 46'sında (%43,8) TIL hafif-belirgin olarak vardır. MSH-6 ekspresyonu ile TIL arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,348$).

4.19.11. Crohn Benzeri Yanıt- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilen 98 olgu vardır. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 4'ünde (%23,5) CBY var iken, 13'ünde (%76,5) CBY yoktur. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 11'inde (%13,6) CBY var iken, 70'inde (%86,4) CBY yoktur. MLH-1 ekspresyonu ile CBY arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,288$).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 6'sında (%31,6) CBY var iken, 13'ünde (%68,4) CBY yoktur. PMS-2 ekspresyonları korunmuş olan 75 vakanın 9'unda (%12) CBY var iken, 66'sında (%88) CBY yoktur. PMS-2 ekspresyonu ile CBY arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,072$).

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 1'inde (%25) CBY var iken, 3'ünde (%75) CBY yoktur. MSH-2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 17'sinde (%15,2) CBY var iken, 95'inde (%84,8) CBY yoktur. MSH-2 ekspresyonu ile CBY arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,496$).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 1'inde (%9,1) CBY var iken, 10'unda (%90,9) CBY yoktur. MSH-6 ekspresyonları korunmuş olan 105 vakanın 17'sinde (%16,2) CBY var iken, 88'inde (%83,8) CBY yoktur. MSH-6 ekspresyonu ile CBY arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=1$).

4.19. 12. Müsinöz Differansiasyon- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilen 98 olgu vardır. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 8'inde (%47,1) müsinöz diferansiasyon var iken, 9'unda (%52,9) müsinöz diferansiasyon yoktur. MLH-1 ekspresyonları

korunmuş olan 81 vakanın 22'sinde (%27,2) müsinöz diferansiasyon var iken, 59'unda (%72,8) müsinöz diferansiasyon yoktur. MLH-1 ekspresyonu ile müsinöz diferansiasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,184$).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 10'unda (%52,6) müsinöz diferansiasyon var iken, 9'unda (%47,4) müsinöz diferansiasyon yoktur. PMS-2 ekspresyonları korunmuş olan 75 vakanın 19'unda (%25,3) müsinöz diferansiasyon var iken, 56'sında (%74,7) müsinöz diferansiasyon yoktur. PMS-2 ekspresyonu ile müsinöz diferansiasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p= 0,043$).

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 4'ünde de (%100) müsinöz diferansiasyon yoktur. MSH-2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 37'sinde (%33) müsinöz diferansiasyon var iken, 75'inde (%67) müsinöz diferansiasyon yoktur. MSH-2 ekspresyonu ile müsinöz diferansiasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,305$).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 4'ünde (%36,4) müsinöz diferansiasyon varken, 7'sinde (%63,6) müsinöz diferansiasyon yoktur. MSH-6 ekspresyonları korunmuş olan 105 vakanın 33'ünde (%31,4) müsinöz diferansiasyon var iken, 72'sinde (%68,6) müsinöz diferansiasyon yoktur. MSH-6 ekspresyonu ile müsinöz diferansiasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,742$).

4.19.13. Medüller Diferansiasyon- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilen 98 olgu vardır. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 1'inde (%5,9) medüller diferansiasyon var iken, 16'sında (%94,1) medüller diferansiasyon yoktur. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 81'inde de (%100) medüller diferansiasyon yoktur. MLH-1 ekspresyonu ile medüller diferansiasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,173$).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 çalışılan 94 vakanın tamamında medüller diferansiasyon yoktur.

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 4'ünde de (%100) medüller diferansiasyon yoktur. MSH-2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 1'inde (%0,9) medüller diferansiasyon varken, 111'inde (%99,1) medüller diferansiasyon yoktur. MSH-2 ekspresyonu ile medüller diferansiasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=1).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 1'inde (%9,1) medüller diferansiasyon varken, 10'unda (%90,9) medüller diferansiasyon yoktur. MSH-6 ekspresyonları korunmuş olan 105 vakanın 105'inde de (%100) medüller diferansiasyon yoktur. MSH-6 ekspresyonu ile medüller diferansiasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p= 0,095).

Tablo 18. Klinikopatolojik veriler ve MMR protein ekspresyonları ilişkisi-4

		MLH1 (+)	MLH1 (-)	p	PMS2 (+)	PMS2 (-)	p	MSH2 (+)	MSH2 (-)	p	MSH6 (+)	MSH6 (-)	P
		n(%)	n(%)		n(%)	n(%)		n(%)	n(%)		n(%)	n(%)	
TIL*	Yok	47(58)	7(41,2)	0,317	45(60)	6(31,6)	0,05	62(55,4)	1(25)	0,33	59(56,2)	1(25)	0,348
	Hafif- belirgin	34(42)	10(58,8)		30(40)	13(68,4)		50(44,6)	3(75)		46(43,8)	7(63,6)	
C-LY*	Yok	70(86,4)	13(76,5)	0,288	66(88)	13(68,4)	0,072	95(84,8)	3(75)	0,496	88(83,8)	3(75)	1
	Var	11(13,6)	4(23,5)		9(12)	6(31,6)		17(15,2)	1(25)		17(16,2)	1(9,1)	
MÜSD*	Yok	59(72,8)	9(47,4)	0,184	56(74,7)	9(47,4)	0,043	75(67)	4(100)	0,305	72(68,6)	7(63,6)	0,742
	Var	22(27,2)	8(47,1)		19(25,3)	10(52,6)		37(33)	0(0)		33(31,4)	4(36,4)	
MED*	Yok	81(100)	16(94,1)	0,173	94(100)	94(100)	1	111(99,1)	4(100)	1	105(100)	10(90,9)	0,095
	Var	0(0)	1(5,9)		0(0)	0(0)		1(0,9)	0(0)		0(0)	1(9,1)	

*C-LY: Crohn-benzeri lenfositik yanıt, TIL: Tümör infiltrate lenfosit, MED: Medüller diferansiasyon, MÜSD: Müsinöz diferansiasyon

4.19.14. Lokalizasyon- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilen 98 olgu vardır. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 11'i (%64,7) sağ-transvers kolon

yerleşimli iken, 6'sı (%35,3) sol kolon yerleşimlidir. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 14'ü (%17,3) sağ-transvers kolon yerleşimli iken, 67'si (%82,7) sol kolon yerleşimlidir. MLH-1 ekspresyonu ile lokalizasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 12'si (%63,2) sağ-transvers kolon yerleşimli iken, 7'si (%36,8) sol kolon yerleşimlidir. PMS-2 ekspresyonları korunmuş olan 75 vakanın 10'u (%13,3) sağ-transvers kolon yerleşimli iken, 65'i (%86,7) sol kolon yerleşimlidir. PMS-2 ekspresyonu ile lokalizasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$).

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 2'si (%50) sağ-transvers kolon yerleşimli iken, 2'si (%50) sol kolon yerleşimlidir. MSH-2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 24'ü (%21,4) sağ-transvers kolon yerleşimli iken, 88'i (%78,6) sol kolon yerleşimlidir. MSH-2 ekspresyonu ile lokalizasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 0,217$).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 7'si (%63,6) sağ-transvers kolon yerleşimli iken, 2'si (%50) sol kolon yerleşimlidir. MSH-6 ekspresyonları korunmuş olan 105 vakanın 19'u (%18,1) sağ-transvers kolon yerleşimli iken, 86'sı (%81,9) sol kolon yerleşimlidir. MSH-6 ekspresyonu ile lokalizasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p= 0,002$).

4.19.15. Tümöral Tomurcuklanma- MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilen 98 olgu vardır. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 3'ünde (%17,6) tümöral tomurcuklanma varken, 14'ünde (%82,4) tümöral tomurcuklanma yoktur. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 39'unda (%48,1) tümöral tomurcuklanma varken, 42'sinde (%51,9) tümöral tomurcuklanma yoktur. MLH-1 ekspresyonu ile tümöral tomurcuklanma arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p= 0,041$).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 5'inde (%26,3) tümöral tomurcuklanma varken, 14'ünde (%73,7) tümöral tomurcuklanma yoktur. PMS-2 ekspresyonları korunmuş olan 75 vakanın 36'sında (%48) tümöral tomurcuklanma varken, 39'unda (%52) tümöral tomurcuklanma yoktur. PMS-2 ekspresyonu ile tümöral tomurcuklanma arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,149$).

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 1'inde (%25) tümöral tomurcuklanma varken, 3'ünde (%75) tümöral tomurcuklanma yoktur. MSH-2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 47'sinde (%42) tümöral tomurcuklanma varken, 65'inde (%58) tümöral tomurcuklanma yoktur. MSH-2 ekspresyonu ile tümöral tomurcuklanma arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,873$).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 2'sinde (%18,2) tümöral tomurcuklanma varken, 9'unda (%81,8) tümöral tomurcuklanma yoktur. MSH-6 ekspresyonları korunmuş olan 105 vakanın 46'sinde (%43,8) tümöral tomurcuklanma varken, 59'unda (%56,2) tümöral tomurcuklanma yoktur. MSH-6 ekspresyonu ile tümöral tomurcuklanma arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,120$).

4.19.16. Klinik Evre-MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

Çalışmamızda MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilen 98 olgu vardır. MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanan 17 vakanın 6'sında (%35,3) klinik evre 2 ve altında iken, 11'inde (%64,7) klinik evre 3 ve üstündedir. MLH-1 ekspresyonları korunmuş olan 81 vakanın 41'inde (%50,6) klinik evre 2 ve altında iken, 40'ında (%49,4) klinik evre 3 ve üstündedir. MLH-1 ekspresyonu ile klinik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,377$).

Çalışmamızda PMS-2 çalışılmayan 20 vaka mevcuttur. 2 adet olguda PMS-2 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 9'unda (%47,4) klinik evre 2 ve altında iken, 10'unda (%52,6) klinik evre 3

ve üstündedir. PMS-2 ekspresyonları korunmuş olan 75 vakanın 38'inde (%50,7) klinik evre 2 ve altında iken, 37'sinde (%49,3) klinik evre 3 ve üstündedir. PMS-2 ekspresyonu ile klinik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=1$).

MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 4 vakanın 2'sinde (%50) klinik evre 2 ve altında iken, 2'sinde (%50) klinik evre 3 ve üstündedir. MSH-2 ekspresyonları korunmuş olan 112 vakanın 55'inde (%49,1) klinik evre 2 ve altında iken, 57'sinde (%50,9) klinik evre 3 ve üstündedir. MSH-2 ekspresyonu ile klinik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=1$).

MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 5'inde (%45,5) klinik evre 2 ve altında iken, 6'sında (%54,5) klinik evre 3 ve üstündedir. MSH-6 ekspresyonları korunmuş olan 105 vakanın 52'sinde (%49,5) klinik evre 2 ve altında iken, 53'ünde (%50,5) klinik evre 3 ve üstündedir. MSH-6 ekspresyonu ile klinik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=1$).

4.19.17. Preop Tedavi MSH-6 İlişkisi

Çalışmamızda yer alan 116 vakadan 13'ünün preop tedavi aldığı bilinmektedir. Preop tedavi alan vakaların 1'inde (%7,7) MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanırken 12'sinde (%92,3) MSH-6 ekspresyonu korunmuştur. MSH-6 ekspresyonu ile preop tedavi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=1$).

4.20. MMR Protein Ekspresyonlarının Birbirleri ile Karşılaştırılması

MLH-1 ve PMS-2'nin ikisinin de anlamlı sonuç verdiği toplam 93 vaka bulunmaktadır. PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanan 19 vakanın 14'ünde (%73,7) MLH-1 ekspresyonunda da kayıp izlenmekte iken, 5'inde (%26,3) MLH-1 ekspresyonu korunmuştur. PMS-2 ekspresyonunun korunduğu 74 vakanın 74'ünde de (%100) MLH-1 ekspresyonu korunmuştur. MLH-1 ekspresyonu ile PMS-2 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$).

MLH-1 ve MSH-2'nin ikisinin de anlamlı sonuç verdiği toplam 98 vaka bulunmaktadır. MSH-2 ekspresyonunun korunduğu 96 vakanın 17'sinde (%17,7) MLH-1 ekspresyonunda da kayıp izlenmekte iken, 79'unda (%82,3) MLH-1 ekspresyonu korunmuştur. MSH-2 ekspresyonunun korunduğu 2 vakanın 2'sinde de (%100) MLH-1 ekspresyonu korunmuştur. MLH-1 ekspresyonu ile MSH-2 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=1$).

MLH-1 ve MSH-6'nın ikisinin de anlamlı sonuç verdiği toplam 98 vaka bulunmaktadır. MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 10 vakanın 5'inde (%50) MLH-1 ekspresyonunda da kayıp izlenmekte iken, 5'inde (%50) MLH-1 ekspresyonu korunmuştur. MSH-6 ekspresyonunun korunduğu 88 vakanın 76'sında (%86,4) MLH-1 ekspresyonu korunmuş iken, 12'sinde (%13,6) MLH-1 ekspresyonunda kayıp saptanmıştır. MLH-1 ekspresyonu ile MSH-6 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p=0,013$).

PMS-2 ve MSH-6'nın ikisinin de anlamlı sonuç verdiği toplam 94 vaka bulunmaktadır. MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 7 vakanın 3'ünde (%42,9) PMS-2 ekspresyonunda da kayıp izlenmekte iken, 4'ünde (%57,1) PMS-2 ekspresyonu korunmuştur. MSH-6 ekspresyonunun korunduğu 87 vakanın 71'inde (%81,6) PMS-2 ekspresyonu korunmuş iken, 16'sında (%18,4) PMS-2 ekspresyonunda kayıp saptanmıştır. MSH-6 ekspresyonu ile PMS-2 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,144$).

MSH-2 ve MSH-6'nın ikisinin de anlamlı sonuç verdiği toplam 116 vaka bulunmaktadır. MSH-6 ekspresyonunda kayıp saptanan 11 vakanın 3'ünde (%27,3) MSH-2 ekspresyonunda da kayıp izlenmekte iken, 8'inde (%72,7) MSH-2 ekspresyonu korunmuştur. MSH-6 ekspresyonunun korunduğu 105 vakanın 104'ünde (%99) MSH-2 ekspresyonu korunmuş iken, 1'inde (%1) MSH-2 ekspresyonunda kayıp saptanmıştır. MSH-2 ekspresyonu ile MSH-6 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p=0,002$).

PMS-2 ve MSH-2'nin ikisinin de anlamlı sonuç verdiği toplam 94 vaka bulunmaktadır. MSH-2 ekspresyonunun korunduğu 92 vakanın 19'unda (%20,7) PMS-2 ekspresyonunda kayıp izlenmekte iken, 73'ünde (%79,3) PMS-2 ekspresyonu korunmuştur. MSH-2 ekspresyonunun korunduğu 2 vakanın 2'sinde de (%100) PMS2

ekspresyonu korunmuştur. PMS-2 ekspresyonu ile MSH-2 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=1).

4.21. MMR Protein Ekspresyonları Korunmuş Olanlarla Kayıp Saptananların Birbirleri ile Karşılaştırılması

Çalışmamızda kolorektal kanser olgularının immünohistokimyasal değerlendirmesinde 14 vakada MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilemezken aynı vakalarda PMS-2 çalışılmamıştır. 1 vakada MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. 4'lü panelin çalışılabildiği 101 vakadan 70 olguda (%69,3) 4 işaretleyicideki ekspresyonlar korunmuştur. 31 olguda (%30,7) en az 1 immün boyamada kayıp saptanmıştır. Bu vakaların dağılımı şöyledir;

- 14 vakada (%13,8) MLH-1 ve PMS-2 ekspresyonlarında beraber kayıp
- 3 vakada (%3) MSH-2 ve MSH-6 ekspresyonlarında beraber kayıp
- 5 vakada (%4,9) PMS-2'de izole kayıp
- 3 vakada (%3) MSH-6'da izole kayıp
- 1 vakada (%1) MSH-2'de izole kayıp
- 3 vakada (%3) MLH-1, PMS-2, MSH-6'da 3'lü kayıp
- 2 vakada (%2) MLH-1 ve MSH-6'da beraber kayıp

MMR protein ekspresyonları korunan vakaları bir grup (muhtemel MSS), en az bir markerda kayıp saptananları bir grup (muhtemel MSI-H) olarak değerlendirdiğimizde, bu iki grubun klinikopatolojik parametrelerinin dağılımlarını karşılaştırma imkanı bulduk.

4.21.1. Cinsiyet

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 23'ü (%32,9) kadın, 47'si (%67,1) erkektir. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 14'ü (%45,2) kadın, 17'si (%54,8) erkektir. Bu iki grup arasında erkek ve kadın cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p= 0,337).

4.21.2. Yaş

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 8'i (%11,4) 50 yaş altında iken, 62'si (%88,6) 50 yaş ve üstündedir. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 8'i (%25,8) 50 yaş altında iken, 23'ü (%74,2) 50 yaş ve üstündedir. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p= 0,082$).

4.21.3. Tümör Çapı

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 51'i (%72,9) 5 cm'den küçük iken, 19'u (%27,1) 5 cm ve üstündedir. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 12'si (%38,7) 5 cm'den küçük iken, 19'u (%61,3) 5 cm ve üstündedir. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p= 0,002$).

4.21.4. Lenfovasküler İnvazyon

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 15'inde (%21,4) lenfovasküler invazyon var iken, 55'inde (%78,6) lenfovasküler invazyon yoktur. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 12'sinde (%38,7) lenfovasküler invazyon var iken, 19'unda (%61,3) lenfovasküler invazyon saptanmamıştır. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p= 0,117$).

4.21.5. Perinöral İnvazyon

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 17'sinde (%24,3) perinöral invazyon var iken, 53'ünde (%75,7) perinöral invazyon yoktur. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 2'sinde perinöral invazyon varken, 29'unda (%93,5) perinöral invazyon yoktur. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p= 0,066$).

4.21.6. Uzak Metastaz

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 59'unda (%84,3) metastaz yok iken, 11'inde (%15,7) metastaz vardır. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 28'inde (%90,3) metastaz yok iken, 3'ünde (%9,7) metastaz vardır. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p= 0,541$).

4.21.7. Histolojik Greyd

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 70'i de (%100) greyd 1-2 tümörlerdir. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 27'si (%87,1) greyd 1-2 tümörler iken, 4'ü (%12,9) greyd 3 tümörlerdir. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p= 0,008$).

4.21.8. Tümör Sınırları

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 64'ünde (%91,4) infiltratif sınırlar izlenirken, 6'sında (%8,6) ekspansif sınırlar izlenmektedir. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 20'sinde (%64,5) infiltratif sınırlar görülürken, 11'inde (%35,5) ekspansif sınırlar görülmektedir. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p= 0,002$).

4.21.9. Kirli Nekroz

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 57'sinde (%81,4) kirli nekroz varken, 13'ünde (%18,6) kirli nekroz yoktur. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 23'ünde (%74,2) kirli nekroz varken, 8'inde (%25,8) kirli nekroz görülmemiştir. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p= 0,575$).

4.21.10. Tümör İnfiltrate Eden Lenfositler

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 44'ünde (%62,9) TIL yok iken, 24'ünde (%34,3) hafif TIL, 2'sinde (%2,9) belirgin TIL saptanmıştır. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 11'inde (%35,5) TIL yok iken, 9'unda (%29) hafif TIL, 11'inde (%35,5) belirgin TIL saptanmıştır. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,0001$).

4.21.11. Crohn Benzeri Lenfositik Yanıt

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 8'inde (%11,4) CBY var iken, 62'sinde (%88,6) CBY yoktur. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 7'sinde (%22,6) CBY var iken, 24'ünde (%77,4) CBY yoktur. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p = 0,223$).

4.21.12. Müsinöz Diferansiasyon

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 18'inde (%25,7) müsinöz diferansiasyon var iken, 52'sinde (%74,3) müsinöz diferansiasyon yoktur. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 12'sinde (%38,7) müsinöz diferansiasyon var iken, 19'unda (%61,3) müsinöz diferansiasyon yoktur. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p = 0,279$).

4.21.13. Medüller Diferansiasyon

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 70'inde de (%100) medüller diferansiasyon yoktur. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 1'inde (%3,2) medüller diferansiasyon var iken, 30'unda (%96,8) medüller diferansiasyon yoktur. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p = 0,307$).

4.21.14. Lokalizasyon

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 8'i (%11,4) sağ kolon ve transvers kolon yerleşimli iken, 62'si (%88,6) sol kolon yerleşimlidir. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 17'si (%54,8) sağ kolon ve transvers kolon yerleşimli iken, 14'ü (%45,2) sol kolon yerleşimlidir. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,0001$).

4.21.15. Tümöral Tomurcuklanma

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 34'ünde (%48,6) tümöral tomurcuklanma varken, 36'sında (%51,4) tümöral tomurcuklanma yoktur. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 8'inde (%25,8) tümöral tomurcuklanma varken, 23'ünde (%74,2) tümöral tomurcuklanma yoktur. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p = 0,055$).

4.21.16. Klinik Evre

MMR protein ekspresyonları korunmuş 70 vakanın 34'ü (%48,6) evre 2 ve altında iken, 36'sı (%51,4) evre 3 ve üstündedir. Muhtemel MSI-H olan 31 vakanın 15'i (%48,4) evre 2 ve altında iken, 16'sı (%51,6) evre 3 ve üstündedir. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p = 1$).

5.TARTIŞMA

Kolorektal karsinomlar erkeklerde akciğer, prostat ve mideden sonra, kadınlarda ise meme ve serviks kanserinden sonra en sık görülen maligniteler olup kansere bağlı ölümlerde de akciğer ve memeden sonra üçüncü sırada yer almaktadır (18).

İnsidansı yaşla beraber artan kolorektal kanserler bir ileri yaş hastalığı olarak kabul edilir. Genç olgularda (<40 yaş) daha agresif davranış sergileme ve herediter geçişli sendromlardan birine sahip olma eğilimindedirler (19).

Kolorektal karsinomlar çoğunlukla distal kolon yerleşimli olmakla birlikte, ileri yaşta proksimal yerleşim sıklığı artar (4). Distal yerleşimli tümörlerde erkek kadın oranı az bir farkla erkek yönüne kayarken proksimal yerleşimli tümörlerde erkek kadın arasında fark yoktur (1).

Kolorektal karsinom gelişimindeki tanımlanan üç genetik yoldan biri, belirgin mikrosatellit instabilite (MSI) ile karakterize olan mutator yoldur. Bu yol MLH-1, PMS-2 ve MSH-6, MSH-2 gibi DNA hatalı eşleşme tamir genlerinin üretimini kapsar. MSI yoluyla gelişen kolorektal karsinomların belirlenmesi klinik açıdan önem kazanmaktadır. Bunun başlıca nedeni, MSI gösteren kolorektal karsinom olgularının daha iyi bir prognoza sahip olduklarının saptanmasıdır. Ayrıca bu olguların 5-fluorourasil uygulanarak yapılan kemoterapiye daha duyarlı oldukları bildirilmektedir (2). Bu olgular, metakron kolorektal karsinom gelişimi açısından da artmış riske sahiptirler ve uzun süreli kolonoskopik takip gerektirirler. MSI'nin belirlenmesi moleküler analize dayalıdır. Buna göre, üç fenotip tanımlanmıştır: Mikrosatellit stabil (MSS), alçak düzeyde MSI (MSI-L), yüksek düzeyde MSI (MSI-H). HNPCC'de MSI-H'nin nedeni hatalı eşleşme tamir genlerinden birinin (sıklıkla MLH-1 veya MSH-2) kalıtsal mutasyonudur. Sporadik MSI-H kolorektal karsinomlarda, mutator fenotipin gelişimindeki asıl mekanizma promoter hipermetilasyonu ile MLH-1 geninin inaktivasyonudur. Moleküler analiz; zaman alıcı, pahalı ve özel ekipman gerektiren bir yöntemdir. Bu nedenle laboratuvarlarda rutin olarak uygulanmasının zor olduğu düşünülmektedir. MLH-1, PMS-2 ve MSH-2, MSH-6'nın immunhistokimyasal analizi ise hızlı ve daha kolaydır ve laboratuvarlarda rutin bir

test olarak kullanılabilir. Bazı yazarlar, hatalı eşleşme tamir genlerinin mutasyonel analizi için immunhistokimyanın bir tarama yöntemi olarak kullanılabileceğini savunmaktadırlar (2,67-69).

MSI ilişkili kolorektal karsinomlarda izlenmesi beklenen belirli klinik ve histopatolojik özellikler vardır. Bunlar; kadın cinsiyet, sağ kolon yerleşimi, çok odaklı olma eğilimi, lenfositik yanıt, müsinöz ve medüller diferansiasyon ve yüksek tümör derecesidir (3-7).

5.1. Klinikopatolojik Özellikler ile MMR Protein Ekspresyonlarının İlişkisi

5.1.1. Yaş ve cinsiyet

Amerikan Kanser Birliğinin (American Cancer Society) yayınladığı Colorectal Cancer Facts & Figures 2014-2016 raporuna göre kolorektal kanser insidansı ve kolorektal kansere bağlı ölüm oranları yaşla birlikte artmaktadır. Yeni vakaların %90'ı, kolorektal kansere bağlı ölümlerin ise %93'ü 50 yaş üstünde görülmektedir (70,71). Kolon kanserlerinde tanı anında erkeklerde ortalama yaş 69 iken, kadınlarda 73 olarak tespit edilmiştir. Bu oran rektum yerleşimli tümörlerde görülen ortalama yaştan anlamlı olarak fazladır. Rektum yerleşimli tümörlerde ortalama yaş erkeklerde 63 iken, kadınlarda 65'tir (72).

Aynı raporda açıklanan rakamlara göre insidans ve ölüm oranları erkeklerde kadınlardan %30-40 fazladır. Bunun nedenleri tam olarak anlaşılamamakla birlikte, hormon ve risk faktörlerine maruziyette cinsiyetler arası farklılıkların, olası neden olduğu düşünülmektedir (73). Bizim çalışmamızda vakaların 71'i (%61,2) erkek, 45'i (%38,8) kadındır. Olgularımızın yaş aralığı 23-90, ortalama yaş 63'tür. Cinsiyet ve yaş dağılımı açısından bulgularımız literatür ile uyumludur.

Çalışmamızda 50 yaş altı ile MLH-1 ve PMS-2 ekspresyonlarında kayıp saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p=0,006$, $p=0,011$). Greenson ve ark., geniş çaplı serilerinde yüksek düzeyde mikrosatellit instabilite saptadıkları olgularında 50 yaş altı ile anlamlı ilişki izlemişlerdir (62). Sendromik mikrosatellit instabil tümörler sporadik olanlara nazaran daha genç yaşta

görülmektedirler (72). Yüksek düzey MSI tümörlerin, MMR protein ekspresyonunda kayıp saptadığımız vakalarımızın yaş dağılımları ile uyumları, bu vakaların muhtemel MSI-H olduklarını düşündürmektedir.

Zumstein ve ark. 2016 yılına ait çalışmalarında MMR protein ekspresyonu saptanması ile kadın cinsiyet arasında anlamlı ilişki bulmaları, aynı şekilde Greenson ve ark. 1649 vakalık serilerinde MSI-H tümörler ile kadın cinsiyet arasında ilişki göstermeleri, mikrosatellit instabilite içeren tümörlerin demografik özelliklerine dair yapılan pekçok çalışma ile uyumludur (74, 62). Ancak bizim çalışmamızda kadın cinsiyet açısından, MMR proteinleri korunanlar ile kayıp saptananlar arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Bu uyumsuzluğun muhtemel nedeni: çalışmamızın, demografik özellikleri ortaya koymak için yeterli hasta sayısı içermemesidir.

5.1.2. Lokalizasyon

Kolorektal karsinomların sıklıkla rektosigmoid bölgede bulunduğu, ancak yaşlı hastalarda ve Lynch Sendromlu hastaların 2/3'ünde proksimal kolonda yerleştiği bilinmektedir (75,4,5,76).

Çalışmamızda sağ ve transvers kolon yerleşimli tümörlerde MLH-1, PMS-2 ve MSH-6 ekspresyonunda kayıba daha sık rastlanıldığı görülmüştür ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p = 0,002$). Yuan ve ark. 296 vakalık çalışmalarında MSI-H tümörlerin MSS tümörlere göre daha çok sağ kolon yerleşimli oldukları görülmüştür (77). Karahan ve ark. çalışmasında çekum ve çıkan kolon yerleşimi ile PMS-2 ve MSH-6 ekspresyon kaybı arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır (78).

Bulgularımız literatür ile uyumludur.

5.1.3. Tümör Çapı

Bizim çalışmamızda 5 cm'den büyük tümörlerde MLH-1 ve PMS-2 ile kayıba daha çok rastlanmıştır ($p = 0,032$, $p = 0,001$). Giovanni ve ark., ikili panel (MLH1 ve MSH-2) çalıştıkları 724 vakalık serilerinde, 7 cm ve üstünde tümör çapı ile protein ekspresyonu kaybı arasında anlamlı ilişki saptamışlardır (79). Gafa ve ark. benzer şekilde ikili panel uyguladıkları çalışmalarında, büyük tümör çapının ekspresyon

kaybı ile ilişkili olduğu izlenmiştir (80). Ancak 4'lü panel uygulanan daha geniş serilerde tümör çapı ile MMR protein ekspresyonu ile ilişki bulunamamıştır (62, 77). Tümör çapını; genetik altyapı, olgunun ilk tanıya kadar geçen süresi gibi pek çok parametre değiştirebilmektedir. Bu varyasyonlar nedeniyle literatürdeki çelişki anlaşılabilir. Ancak tümör çapı; lokalizasyon, lenfositik infiltrasyon gibi diğer mikrosatellit instabiliteyi düşündüren fenotipik parametrelerle birlikte değerlendirilirse daha değerli olabilir.

5.1.4. Lenfovasküler ve Perinöral İnvazyon

Çalışmamız sonucunda MLH-1 ve MSH-6 ekspresyon kaybı gösteren tümörlerde daha çok lenfovasküler invazyon olduğu görülmüştür ($p= 0,013$, $p= 0,008$). Perinöral invazyon ile MMR protein ekspresyonları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Kruschewski ve ark. çalışmasında da MLH-1 negatif olguların lenfovasküler invazyonla ilişkisi bulunmuşken aynı çalışmada MSH-2 ile bu ilişki saptanamamıştır (81). Wright ve ark. ise farklı olarak MMR protein kaybı saptanan olgularda perinöral ve lenfovasküler invazyonu daha düşük oranda izlemişlerdir (82).

5.1.5. Greyd

Çalışmamızda MLH-1, PMS-2 ve MSH-6 ekspresyonu kaybı ile yüksek dereceli tümör histolojisi arasında ilişki bulunmaktadır ($p= 0,001$, $p= 0,039$, $p= 0,002$). Literatürde Giovanni ve ark., Chapusot ve ark. ve Jover ve ark. da çalışmalarında MMR proteinleri ile boyanma görülmemesi ile yüksek tümör greydi arasında ilişki göstermişlerdir (76,83,84). Moleküler yöntemlerle kanıtlanmış pek çok seride de gösterildiği gibi MMR protein ekspresyonlarında kayıp saptanan vakalar, mikrosatellit instabilite saptananlarda olduğu gibi yüksek tümör derecesi ile ilişkili bulunmaktadır (77, 62). Çalışmamızda da MMR protein ekspresyonu kaybı ile yüksek dereceli tümör histolojisi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunması, ekspresyon kaybı saptanan tümörlerin muhtemelen MSI-H tümörler olduğunu desteklemektedir.

5.1.6. Tümör Sınırları

Çalışmamızda ekspansif büyüme paterni gösteren tümörlerde tek tek değerlendirildiğinde MLH-1, PMS2 ve MSH-6 ekspresyonlarında kayıp izlenmektedir ($p= 0,022$, $p= 0,033$, $p= 0,04$). Gafa ve ark. MLH-1 ve MSH-2 ile çalıştıkları serilerinde boyanma göstermeyen olgularda ekspansif büyüme paterninin görülmesini anlamlı bulmuşlardır (80). Greenson ve ark., Giovanni ve ark., Wright ve ark. serilerinde de ekspansif büyüme paterni MMR protein ekspresyon kaybıyla ve moleküler çalışmalar sonucunda da MSI-H ile ilişkilendirmişlerdir (62, 79, 82). Çalışmamızda tümörlerin genetik özellikleri bilinmemekle birlikte, MMR ekspresyon kaybı ile mikrosatellit instabil tümör fenotipik özelliklerinden ekspansif büyüme paterni ile anlamlı ilişki saptanması, tümörlerin muhtemel MSI-H olduğunu destekler niteliktedir.

5.1.7. Kirli Nekroz

Çalışmamızda kirli nekroz varlığı ile MMR protein ekspresyonları arasında bir ilişki bulunamamıştır. Greenson ve ark. 365 vakalık serilerinde kirli nekroz yokluğunu MSI-H tümörlerle ilişkilendirmişlerdir (62). Alexander ve ark., Zumstein ve ark. ise serilerinde MMR ekspresyonları ile kirli nekroz arasında anlamlı ilişki belirleyememişlerdir (63, 74). Kirli nekroz yokluğunun mikrosatellit instabilite üzerinden gelişen tümörlerin bir özelliği olduğu bilinse de, bu fenotipi tek başına göstermede yetersiz kalmaktadır. Ancak diğer mikrosatellit instabilite göstergeleri ile birlikte değerlendirildiğinde yararlı olabilir.

5.1.8. Tümör İnfiltrat Lenfositler (TIL)

Çalışmamızda TIL varlığı ile MMR protein ekspresyonu kaybı korelasyon göstermektedir. Alexander ve ark. 323 vakalık serilerinde MSI-H tümörlerde %21 (19/92) belirgin TIL varken, MSS tümörlerinden yalnızca %3'ünde (6/231) belirgin TIL saptamışlardır ($p< 0,000001$) (41). Wright ve ark. 458 olgulu çalışmada MMR defektif vakalarının %78,7'sinde TIL (+) iken, nondefektif vakalarının

%29'unda TIL (+)'tir (82). Ancak lenfositik infiltrasyona tanımsal sınırlama getirilmediği, intratümöral, peritümöral lenfositik yanıtların beraber değerlendirildiği çalışmalarda korelasyon düşük bulunabilmektedir (77, 78). Bu nedenle Greenson ve ark.; TIL tanımını spesifik yaparak, 2 lenfosit eşik değerini kullanarak ve immünohistokimya gibi yardımcı yöntemler kullanarak (CD3) çalışmışlardır. 1649 vakalık serilerinde MSI-H tümörleri belirlemede histopatolojik göstergeler içerisinde en iyi korelasyonu TIL ile sağlamışlardır (62). Çalışmamızda da TIL'ın MMR ekspresyon kaybı ile korelasyonunun yüksek bulunması dolayısıyla TIL'ın güvenilir bir mikrosatellit instabilite göstergesi olduğunu düşünmekteyiz.

5.1.9. Crohn-benzeri Lenfositik Yanıt

Literatürde Greenson ve ark., Giovanni ve ark., Wright ve ark., Chapusot ve ark. gibi birden çok seride MMR protein ekspresyon kaybı ile Crohn-benzeri lenfositik yanıt ilişkili bulunmuştur (62,79,82,83). Ancak Zumstein ve ark., Kruschewski ve ark., Jover ve ark. gibi pek çok seride, bizim serimizde olduğu gibi, MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6 ekspresyonları ile Crohn-benzeri lenfositik yanıt arasında ilişki saptanamamıştır (74, 81, 84). Literatürdeki bu uyumsuzluğun muhtemel nedeninin Crohn-benzeri lenfositik yanıtı her merkezin farklı tanımlaması ve uluslararası bir konsensus eksikliği olduğunu düşündürmektedir.

5.1.10. Müsinöz Diferansiasyon

Çalışmamızda müsinöz differansiasyon ile MMR proteinlerinden yalnızca PMS-2 ekspresyon kaybı ile ilişki anlamlı bulunmuştur. Karahan ve ark. 186 vakalık serilerinde müsinöz histoloji 4 MMR proteininin kaybı ile de korele bulunmuştur (78). Zumstein ve ark. MMR ekspresyon kaybı ile müsinöz histolojiyi korele buldukları çalışmalarında tümörün %50'sinde müsinöz farklanma olması şartını ararken, Alexander ve ark. çok daha düşük müsin yüzdelерinin de MSI-H ile korele olduğunu bildirmektedir (74, 63). Buna karşın Lin Yuan ve ark. müsinöz diferansiasyon ile MSI-H tümörler arasında bir ilişki saptanamamışlardır (77). Müsinöz diferansiasyon, mikrosatellit instabilite ile ilişkili olduğu bilinen, ancak tek başına veri değeri

tartışmalı bir parametredir. Diğer verilerle birlikte patoloji raporlarında yer alması ve beraber değerlendirilmesi daha yararlı olabilir.

5.1.11. Medüller Diferansiyasyon

Çalışmamızda medüller diferansiyasyon ile MMR protein ekspresyonları arasında ilişki bulunmamaktadır. Literatürde Gafa ve ark. serisinde MLH-1 ve MSH-2 ile boyanma göstermeyen olguların medüller morfoloji ile ilişkisi gösterilmiştir (80). Medüller tümör histolojisi kabul görmüş bir mikrosatellit instabilite göstergesidir (3-7). Literatür ile bu uyumsuzluğun nedeninin çalışmamızda yalnızca bir tümörde medüller differansiyasyona rastlanması olduğu düşünülmüştür.

5.1.12. Tümöral Tomurcuklanma

Tümöral tomurcuklanma ile kötü prognoz ilişkisi, sporadik MSS tümörlerde iyi bilinmekle birlikte, MSI sporadik ya da sendromik tümörlerdeki etkisi henüz anlaşılmış değildir. Literatürdeki az sayıdaki çalışmada MSS ve MSI-L tümörlerde tümöral tomurcuklanma görülme oranı (yaklaşık %50), Lynch Sendromu ilişkili tümörlerde görülme oranından (yaklaşık %20) daha fazladır. Sporadik MSI-H tümörlerde ise neredeyse hiç görülmemiştir (65). Bizim çalışmamızda tümöral tomurcuklanma ile MLH-1 ekspresyon kaybı arasında ilişki izlenmektedir ($p=0,041$). MLH-1 ekspresyon kaybı hem sporadik hem de sendromik MSI tümörlerde izlenebilir. Çalışmamızda tümöral tomurcuklanma ve aynı zamanda MLH-1 kaybı gösteren tümörlerin sendromik olup olmadıklarını bilmemekteyiz. Ancak mevcut literatür bilgilerine göre bu olguların sendromik olma ihtimalinin, tomurcuk içermeyenlere göre daha çok olduğunu düşünebiliriz. Tümöral tomurcuklanma ve mikrosatellit instabilite ilişkisinin moleküler tetkikler içeren daha geniş serilerle araştırılması gerekmektedir.

5.2. MMR Protein Ekspresyonlarının Birbirleri ile İlişkisi

Çalışmamızda kolorektal kanser olgularının MMR protein ekspresyonlarının değerlendirilmesinde; 14 vakada MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilemezken (iç kontrol negatif), aynı vakalarda PMS-2 çalışılamamıştır. 1 vakada MLH-1 ile anlamlı sonuç elde edilememiştir. 4'lü panelin çalışılabildiği 101 vakadan 70'inde (%69,3) 4 işaretleyicinin tümünde ekspresyonlar korunmuştur. 31 olguda (%30,7) en az 1 MMR protein ekspresyon kaybı saptanmıştır.

Bu vakaların dağılımı şöyledir;

14 vakada (%13,8) MLH-1 ve PMS-2 ekspresyonlarında beraber kayıp

3 vakada (%3) MSH-2 ve MSH-6 ekspresyonlarında beraber kayıp

5 vakada (%4,9) PMS-2'de izole kayıp

3 vakada (%3) MSH-6'da izole kayıp

1 vakada (%1) MSH-2'de izole kayıp

3 vakada (%3) MLH-1, PMS-2, MSH-6'da 3'lü kayıp

2 vakada (%2) MLH-1 ve MSH-6'da beraber kayıp

Yuan ve ark. 1450 vakalık serisinde; revize Bethesda kılavuzuna göre kriterleri karşılayan 296 vakaya PCR yöntemi uygulamıştır. Vakaların 68'i (%23) MSI-H, 9'u (%3) MSI-L, 219'u (%74) MSS olarak sınıflanmıştır. 296 vakaya aynı zamanda immünohistokimyasal olarak MMR proteinleri çalışılmıştır. 72 tümörde (%24,3) en az bir MMR proteininde kayıp saptanmıştır. Bunların 68'i MSI-H, 2'si MSI-L ve 2'si MSS tümörlerdir. 52 (%17,6) vakada PMS-2 ekspresyonunda kayıp vardır, bunların 50'si MSI-H iken 2'si MSS'dir. 51 (%17,2) vakada MLH-1 ekspresyonunda kayıp vardır, bunların 49'u MSI-H iken 2'si MSS'dir. 51 tümör MLH-1 ve PMS-2 ekspresyonunda beraber kayıp göstermiştir. MLH-1'de kayıp bulunan tümörlerin tamamında PMS-2'de de kayıp mevcuttur. 21 vakada (%7,1) MSH-6 ekspresyonunda kayıp mevcuttur, bu vakaların 19'u MSI-H, 2'si MSI-L olarak sınıflanmıştır. 15 vakada (%5,1) MSH-2 ekspresyonunda kayıp vardır, bunların tamamı MSI-H olarak sınıflanmıştır. MLH-1 ve PMS-2'deki ile benzer şekilde, MSH-2'de kayıp saptanan tümörlerin tamamında MSH-6'da da kayıp mevcuttur. 6 vakada izole MSH-6 ekspresyonu mevcuttur (77).

Karahan ve ark.; kolon rezeksiyon spesmenlerinden oluşan 186 vakalık çalışmalarında, bizim çalışmamızda olduğu gibi, moleküler temeli bilinmeyen olgularına immünohistokimyasal olarak 4'lü panel uygulamışlardır. 12 vakada MLH-1 ve PMS-2'de beraber kayıp, 1 vakada MSH-2 ve MSH-6'da beraber kayıp ve 2 vakada 4 işaretleyicide de kayıp saptamışlardır. Ayrıca 2 vakada MLH-1 ile izole kayıp, 3 vakada PMS-2 ile izole kayıp, 3 vakada da MSH-6 ile izole kayıp saptamışlardır (78).

Bizim çalışmamızdaki ekspresyon kayıpları arasındaki dağılımda MLH-1 ve PMS-2 de beraber kayıp görülen vakaların çoğunlukta olması literatürle uyumludur. Bunun nedeni MLH-1 ve PMS-2 kaybı gösteren vakaların hem sporadik hem sendromik MSI tümörleri temsil eden sayıca daha çok bir popülasyonu işaret etmesidir. Hampel ve ark. 500 hastalık serilerinde MLH-1 kaybı saptanan 48 vakanın 33'ünde MLH-1 promotor metilasyonu saptanmış, 13'ünde Lynch Sendromuna ait germline mutasyon bulunmuştur. 2 vakaya genetik test yapılamamıştır (69).

MMR protein ekspresyon kayıpları ilk önce akla Lynch sendromunu getirmeli ve hastalara mutasyon analizi yapılmalıdır. Ancak bazı 3'lü ya da tek kayıplar için alternatif açıklamalar gündeme gelmektedir. Lin Yuan ve ark. çalışmasında izole MSH-6 ekspresyon kaybı gösteren vakalar MSI-L olarak bulunmuştur ki, bu grup fenotipik olarak MSI-H'dan ziyade MSS tümörlere benzemektedir (77). MSH-6 mutasyonunun MSI-L'a neden olduğu gösterilmektedir (85, 86). Aynı çalışmada MLH-1, PMS-2 ve MSH-6 ile 3'lü kayıp izlenen tümörlerin neoadjuvan kemoterapi almış MSS tümörler olduğu bulunmuştur (77).

MMR protein ekspresyon kayıplarında (internal kontrol pozitifken) beklenmedik bulguların çeşitli açıklamaları olabilir. Ancak bu vakalar Lynch sendromu olasılıkları akılda tutularak ileri yöntemlerle araştırılmalıdır. Yine de moleküler tetkik sonuçlarının MSI-L ve MSS olabileceği akılda tutulmalıdır.

İmmünohistokimya ile MLH-1, PMS-2, MSH-2 ve MSH-6 protein analizi kolorektal karsinomlarda MMR genlerindeki defekti ortaya koyan pratik bir yöntemdir. Bazı çalışmalarda sensitivitesi %90, spesifisitesi %100'e yakın olarak

bildirilmektedir (87-89). Bununla birlikte; bu yöntemin gerek sporadik gerekse herediter kolorektal karsinomlu hastalarda ilk tarama amaçlı kullanılması, defekt saptanan olgularda genetik analizin eklenmesi daha doğru ve güvenilir bir yaklaşım olacaktır.



6. SONUÇLAR

1-70 olguda (%69,3) 4 MMR protein ekspresyonu da korunmuştur. 31 olguda (%30,7) en az 1 immün işaretleyicide kayıp saptanmıştır.

2-14 vakada (%13,8) MLH-1 ve PMS-2 ekspresyonlarında beraber kayıp saptanmıştır. MLH-1 ekspresyonu ile PMS-2 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,001$).

3-3 vakada (%3) MSH-2 ve MSH-6 ekspresyonlarında beraber kayıp saptanmıştır. MSH-2 ekspresyonu ile MSH-6 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p = 0,002$).

4-5 vakada (%4,9) PMS-2'de izole kayıp izlenmektedir.

5-3 vakada (%3) MSH-6'da izole kayıp mevcuttur.

6-1 vakada (%1) MSH-2'de izole kayıp mevcuttur.

7-3 vakada (%3) MLH-1, PMS-2, MSH-6'da 3'lü kayıp izlenmektedir.

8-2 vakada (%2) MLH-1 ve MSH-6'da beraber kayıp saptanmıştır. MLH-1 ekspresyonu ile MSH-6 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p = 0,013$).

9-50 yaş altı ile MLH-1 ve PMS-2 ekspresyonlarında kayıp saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p = 0,006$, $p = 0,011$).

10-Sağ ve transvers kolon yerleşimli tümörlerde MLH-1, PMS-2 ve MSH-6 ekspresyonunda kayıba daha sık rastlanıldığı görülmüştür ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p = 0,002$).

11-5 cm'den büyük tümörlerde MLH-1 ve PMS-2 ile kayıba daha çok rastlanmıştır ($p = 0,032$, $p = 0,001$).

12-MLH-1 ve MSH-6 ekspresyon kaybı gösteren tümörlerde daha çok lenfovasküler invazyon saptanmıştır ($p = 0,013$, $p = 0,008$).

13-Çalışmamızda MLH-1, PMS-2 ve MSH-6 ekspresyonu kaybı ile yüksek greyd tümör histolojisi arasında ilişki bulunmaktadır ($p = 0,001$, $p = 0,039$, $p = 0,002$).

14-Ekspansif büyüme paterni gösteren tümörlerde MLH-1, PMS-2 ve MSH-6 ekspresyonlarında kayıp saptanmasında artış izlenmektedir ($p = 0,022$, $p = 0,033$, $p = 0,04$).

15-Müsinöz differansiasyon ile PMS-2 ekspresyon kaybı ile ilişki anlamlı bulunmuştur ($p= 0,043$).

16-Tümöral tomurcuklanma ile MLH-1 ekspresyon kaybı arasında ilişki izlenmektedir ($p= 0,041$).

17-MMR protein ekspresyonları korunmuş grup ile en az bir MMR proteininde kayıp saptanmış grup arasında klinikopatolojik parametrelerin görülmesi açısından anlamlı farklılıklar bulunmuştur.

18-MMR proteinlerinden en az birinde kayıp saptanan tümörler, ekspresyonu korunmuş olanlara göre daha çok 5 cm'den büyük çaplı olma eğilimindedirler ($p= 0,002$).

19-MMR proteinlerinden en az birinde kayıp saptanan tümörler, ekspresyonu korunmuş olanlara göre daha çok greyd 3 olarak izlenmişlerdir ($p= 0,008$).

20-MMR proteinlerinden en az birinde kayıp saptanan tümörler, ekspresyonu korunmuş olanlardan daha sıklıkla ekspansif olarak görülürler ($p= 0,002$).

21-MMR proteinlerinden en az birinde kayıp saptanan tümörler, ekspresyonu korunmuş olanlara göre daha sıklıkla TIL içerirler ($p < 0,001$).

22-MMR proteinlerinden en az birinde kayıp saptanan tümörler, ekspresyonu korunmuş olanlara göre daha sıklıkla sağ kolon ve transvers kolon yerleşimi gösterirler ($p < 0,0001$).

23-MMR proteinlerinden en az birinde kayıp saptanan tümörler, genelde MSI tümörlerde görülen klinikopatolojik özellikleri (büyük çap, ekspansif sınırlar, sağ kolon yerleşimi, yüksek greyd, tümör infiltre eden lenfositler gibi) göstermektedir.

24-MMR proteinlerinin dördünün de ekspresyonlarının korunduğu tümörler genelde MSS tümörlerde görülen klinikopatolojik özellikleri (küçük çap, infiltratif sınırlar, sol kolon yerleşimi gibi) göstermektedir.

25-MMR proteinlerinden en az birinde kayıp saptanması kuvvetle MSI-H tümör şüphesi oluşturur.

26-4'lü panel MMR proteinleri (MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6) farklı fenotipik özelliklerdeki kolon karsinomlarını ayırmada etkili bir yöntemdir.

7. KAYNAKLAR

1. Liu C, Crawford JM. The Gastrointestinal Tract. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, editors. Robbins and Cotran. Pathologic Basis of Disease. 7th ed. Philadelphia PA: Elsevier Saunders, 2005. p. 797-875.
2. Park IJ, Kim HC, Kim JS, Yu ES, Yu CS, Kim JC. Correlation Between h MLH1/h MSH-2 and p53 Protein Expression in Sporadic Colorectal Cancer. Hepato Gastroenterology 2005; 52: 450-454.
3. Kumar V, Robbins and Cotran. Pathologic Basis of Disease. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, editors. Philadelphia PA: Elsevier Saunders; 2005. p. 269-342.
4. Bosman T, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. World Health Organization Classification of Tumours of the Digestive System. 4th Edition. Lyon, France: IARC Press; 2010. p. 131-181.
5. Michailidi C, Papavassiliou AG, Troungos C. DNA repair mechanisms in colorectal carcinogenesis. Curr Mol Med 2012; 12: 237-246.
6. Whitehall V, Leggett B. Microsatellite instability: detection and management in sporadic colorectal cancer. J Gastroenterol Hepatol 2011; 26: 1697-1699.
7. Musulén E, Sanz C, Muñoz-Mármol AM, Ariza A. Mismatch repair protein immunohistochemistry: a useful population screening strategy for Lynch syndrome. Hum Pathol 2014; 45: 1388-1396.
8. Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 9th ed. Edinburgh, London, Philadelphia: Elsevier; 2004. p. 776-855.
9. Williams I. Innominate grooves in the surface of mucosa. Radiology 1965, 84: 877-880.
10. Shamsuddin AM, Phelps PC, Trump BF. Human large intestinal epithelium. Light microscopy, histochemistry, and ultrastructure. Hum Pathol 1982, 13: 790-803.
11. Dahl J, Greenson JK. Colon. In Mills SE (ed.): Histology for pathologists, ed. 3. Philadelphia, 2007, Lippincott Williams & Wilkins, pp. 627-648.

12. Levine DS, Haggitt RC. Normal histology of the colon. *Am J Surg Pathol* 1989, 13: 966-984.
13. Lewin KJ. The endocrine cells of the gastrointestinal tract. The normal endocrine cells and their hyperplasias. *Pathol Annu* 1986, 21(Pt 1): 1-27.
14. Symonds DA. Paneth cell metaplasia in diseases of the colon and rectum. *Arch Pathol* 1974, 97: 343-347.
15. Bartnik W, ReMine SG, Chiba M, Thayer WR, Shorter RG. Isolation and characterization of colonic intraepithelial and lamina propria lymphocytes. *Gastroenterology* 1980, 78: 976-985.
16. Leonard RCF, MacLennan ICM. Distribution of plasma cells in normal rectal mucosa. *J Clin Pathol* 1982, 35: 820-823.
17. Lord MG, Vallies P, Broughton AC. A morphologic study of the submucosa of the large intestine. *Surg Gynecol Obstet* 1977, 145: 55-60.
18. International Agency for Research on Cancer, Ocak 2014, www.cruk.org/cancerstats
19. Yantis RK, Goodarzi M, Zhou XK. Clinical, pathological and molecular features of early-onset colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 572-582.
20. Redston M. Epithelial Neoplasms of the Large Intestine. In: Odze RD, Goldblum JR, Crawford JM, editörs. *Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas*. 1st ed. Philadelphia PA: Saunders; 2004.p. 441-472.
21. Triantafillidis J.K, Nasioulas G, Kosmidis P.A. Colorectal Cancer and Inflammatory Bowel Disease: Epidemiology, Risk Factors, Mechanisms of Carcinogenesis and Prevention Strategies. *Anticancer Research*. 2009; 29: 2727-2738.
22. Gupta A.K, Schoen R.E. Aberrant crypt foci: are they intermediate endpoints of colon carcinogenesis in humans?. *Curent Opinion in Gastroenterology*. 2008; 25: 59-65.
23. Ensari A, Bosman F.T, Offerhaus G.J.A. The serrated polyp= getting it right!. *J Clin Pathol*. 2010; 63(8): 665-667.

24. Bosman T, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. World Health Organization Classification of Tumours of the Digestive System. 4th Edition. Lyon, France: IARC Press; 2010. p. 160-165.
25. Torlakovic E.E, Gomez J.D. Sessile Serrated Adenoma (SSA) vs. Traditional Serrated Adenoma (TSA). *Am J Surg Pathol*. 2008; 32(1): 21-29.
26. Chan A. O, Soliman A. S, Özbek U, Kapran Y. Differing DNA Methylation Patterns and Gene Mutation Frequencies in Colorectal Carcinomas from Middle Eastern Countries. *Human Cancer Biology*. 2005; 11(23): 8281-8287.
27. Riddell RH, Petros RE, Williams GT, Sobin LH. Atlas of Tumor Pathology. Tumors of the Intestines. 3rd series. Bethesda, Maryland: AFIP; 2003. p. 85-240.
28. Cho K.R, Vogelstein B. Genetic Alterations in the Adenoma- Carcinoma Sequence. *Cancer Supplement*. 1992; 70: 1727-1731.
29. Jenkins M.A, Hayashi S, O'shea A.M. Pathology Features in Bethesda Kılavuzus Predict Colorectal Cancer Microsatellite Instability: A Population-Based Study. *Gastroenterology*. 2007; 133: 48-56.
30. Guetz G.D, Schischmanoff O. Does microsatellite instability predict the efficacy of adjuvant chemotherapy in colorectal cancer? A systematic review with metaanalysis. *European Journal of Cancer*. 2009; 45: 1890-1896.
31. Perea J, Lomas M, Hidalgo M. Molecular basis of colorectal cancer: Towards an individualized management?. *Rev Esp Enferm Dig*. 2011; 103: 29-35.
32. Compton CC. Colorectal carcinoma: diagnostic, prognostic and molecular features. *Mod Pathol* 2003, 16: 376-388.
33. Compton C, Fenoglio-Preiser CM, Pettigrew N, Fielding LP. American Joint Committee on Cancer Prognostic Factors Consensus Conference: colorectal working group. *Cancer* 2000, 88:1739-1757.
34. Griffin MP, Bergstralh EJ, Coffey RJ, Beat RW Jr, Melton LJ III. Predictors of survival after curative resection of carcinoma of the colon and rectum. *Cancer* 1987, 60: 2318-2324.

35. Odone V, Chang L, Caces J, George SL, Pratt CB. The natural history of colorectal carcinoma in adolescents. *Cancer* 1982, 49: 1716-1720.
36. Rao BN, Pratt CB, Fleming ID, Dilawari RA, Green AA, Austin BA. Colon carcinoma in children and adolescents. A review of 30 cases. *Cancer* 1985, 55: 1322-1326.
37. Sessions RT, Reiddell DJ. Cancer of the large bowel in the young adult. *Am J Surg Pathol* 1961, 102: 66-69.
38. Russell AH, Tong D, Dawson LE, Wisbeck W. Adenocarcinoma of the proximal colon. Sites of initial dissemination and patterns of recurrence following surgery alone. *Cancer* 1984, 53: 360-367.
39. Steinberg SM, Barkin JS, Kaplan RS, Stablein DM. Prognostic indicators of colon tumors. The Gastrointestinal Tumor Study Group experience. *Cancer* 1986, 57:1866-1870.
40. Kaibara N, Koga S, Jinnai D. Synchronous and metachronous malignancies of the colon and rectum in Japan with special reference to a coexisting early cancer. *Cancer* 1984, 54: 1870-1874.
41. Steinberg SM, Barwick KW, Stablein DM. Importance of tumor pathology and morphology in patients with surgically resected colon cancer. Findings from the Gastrointestinal Tumor Study Group. *Cancer* 1986, 58: 1340-1345.
42. Wolmark N, Fisher ER, Wieand HS, Fisher B and contributing NSABP investigators. The relationship of depth of penetration and tumor size to the number of positive nodes in Dukes C colorectal cancer. *Cancer* 1984, 53: 2707-2712.
43. Nacopoulou L, Azaris P, Papacharalampous N, Davaris P. Prognostic significance of histologic host response in cancer of the large bowel. *Cancer* 1981, 47: 930-936.
44. Spratt JS Jr, Spjut HJ. Prevalance and prognosis of individual clinical and pathologic variables associated with colorectal carcinoma. *Cancer* 1967, 20:1976-1985.
45. Graham DM, Appleman HD. Crohn's like lymphoid reaction and colorectal carcinoma. A potential histologic prognosticator. *Mod Pathol* 1990, 3:332-335.

46. Prall F. Tumour budding in colorectal carcinoma. *Histopathology* 2007, 50: 151-162.
47. Wang LM, Kevans D, Mulcahy H, O'Sullivan J, Fennelly D, Hyland J, O'Donoghue D, Stephan K. Tumor budding is a strong and reproducible prognostic marker in T3N0 colorectal cancer. *Am J Surg Pathol* 2009, 33: 134-141.
48. Krasna MJ, Flancbaum L, Cody RP, SHNeibaum S, Ari GB. Vascular and neural invasion in colorectal carcinoma. Incidence and prognostic significance. *Cancer* 1988, 61:1018-1023.
49. Minsky BD, Mies C, Recht A, Rich TA, Chaffey JT. Resectable adenocarcinoma of the rectosigmoid and rectum. Part II. The influence of blood vessel invasion. *Cancer* 1988, 61: 1417-1424.
50. Ouchi K, Sugawara T, Ono H, Fujiya T, Kamiya Y, Kakugawa Y, Mikuni J, Tateno H. Histologic features and clinical significance of venous invasion in colorectal carcinoma with hepatic metastasis. *Cancer* 1996, 78: 2313-2317.
51. Suzuki A, Togashi K, Nokubi M, Koinuma K, Miyakura Y, Horie H, Lefor AT, Yasuda Y. Evaluation of venous invasion by elastica van gieson stain and tumor budding predicts local and distant metastases in patients with T1 stage colorectal cancer. *Am J Surg Pathol* 2009, 33: 1601-1607.
52. Quirke P, Morris E. Reporting colorectal cancer. *Histopathology* 2007, 50: 103-112.
53. Shirouzu K, Isomoto H, Morodomi T, Kakegawa T. Carcinomatous lymphatic permeation. Prognostic significance in patients with rectal carcinoma. A long term prospective study. *Cancer* 1995, 75: 4-10.
54. Puppa G, Maisonneuve P, Sonzogni A, Masullo M, Capelli P. Pathological assessment of pericolonic tumor deposits in advanced colonic carcinoma: relevance to prognosis and tumor staging. *Mod Pathol* 2007, 20: 843-855.
55. Adam JJ, Mohamdee MO, Martin IG, Scott N. Role of circumferential margin involvement in the local recurrence of rectal cancer. *Lancet* 1994, 344: 707-711.

56. Benhattar J, Losi L, Chaubert P. Prognostic significance of K-ras mutations in colorectal carcinoma. *Gastroenterology* 1993, 104: 1044-1048.
57. Sankila R, Aaltonen LA, Jarvinen HJ. Better survival rates in patients with MLH-1 associated hereditary coorectal cancer. *Gastroenterology* 1996, 110: 682-687.
58. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ. Tumor microsatellite instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2003, 349: 247-257.
59. Nicastrì DG, Doucette JT, Godfrey TE. Is occult lymph node disease in colorectal cancer patients clinically significant? A review of relevant literature. *J Mol Diagn* 2007, 9: 563-571.
60. Newland RC, Chapuis PH, Pheils MT. The relationship of survival to staging and grading of colorectal carcinoma. A prospective study of 503 cases. *Cancer* 1981, 47: 1424-1429.
61. Stanford School of Medicine Surgical Pathology Criteria. [http://surgpathcriteria.stanford.edu /gitumors/colorectal-adenocarcinoma/](http://surgpathcriteria.stanford.edu/gitumors/colorectal-adenocarcinoma/).
62. Greenson J.K, Huang S.C, Herron C. Pathologic Predictors of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *Am J Surg Pathol*. 2009; 33(1): 126-133.
63. Alexander J, Watanabe T, Wu T.T. Histopathological Identification of Colon Cancer with Microsatellite Instability. *Am J Pathol*. 2001; 158(2): 527-535.
64. Hideki U, Yojiro H, Hideyuki S. Objective Criteria for Crohn-like Lymphoid Reaction in Colorectal Cancer. *Am J Clin Pathol* 2013;139:434-441
65. Mitrovic B, Schaeffer D.F. Tumor budding in colorectal carcinoma: time to take notice. *Modern Pathology*. 2012; 25: 1315-1325.
66. Shia, J., Stadler, Z., Weiser, M.R. et al, Immunohistochemical staining for DNA mismatch repair proteins in intestinal tract carcinoma: how reliable are biopsy samples?. *Am J Surg Pathol*. 2011; 35: 447–454
67. Lamberti C, Kruse R, Ruelfs C, Caspari R, Wang Y, Jungck M, Mathiak M, Malayeri HRH, Friedl W, Sauerbruch T, Propping P. Microsatellite instability- a useful diagnostic tool to select patients at high risk for hereditary non-

- polyposis colorectal cancer: a study in different groups of patients with colorectal cancer. *Gut* 1999; 44: 839-843.
68. Hendriks Y, Franken P, Dierssen JW, Leeuw W, Wijnen J, Dreef E, Tops C, Breuning M, Bröcker-Vriends A, Vasen H, Fodde R, Morreau H. Conventional and Tissue Microarray Immunohistochemical Expression Analysis of Mismatch Repair in Colorectal Tumors. *Am J Pathol* 2003; 162: 469-477.
69. Hampel H, Frankel W.L, Martin E. Feasibility of Screening for Lynch Syndrome Among Patients With Colorectal Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2008; 26(35): 5783-5788.
70. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program SEER*Stat Database: Mortality – All COD, Aggregated With State, Total U.S. (1969-2010) <Katrina/Rita Population Adjustment>, National Cancer Institute, DCCPS, Surveillance Research Program, Cancer Statistics Branch, released April 2013. Underlying mortality data provided by NCHS 2013.
71. Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) Program SEER*Stat Database: NAACCR Incidence – CiNA Analytic File, 1995-2010, for Expanded Races, Custom File With County, ACS Facts and Figures projection Project, North American Association of Central Cancer Registries, 2013.
72. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2010. Bethesda, MD: National Cancer Institute, 2013.
73. Murphy G, Devesa SS, Cross AJ, Inskip PD, McGlynn KA, Cook MB. Sex disparities in colorectal cancer incidence by anatomic subsite, race and age. *Int J Cancer*. 2010;128: 1668-1675.
74. Zumstein V, Vinzens F. Systematic immunohistochemical screening for Lynch syndrome in colorectal cancer: a single centre experience of 486 patients. *Swiss Medical Weekly* 2016;146: 14315-14321.
75. Rosai J. Gastrointestinal tract. In: Rosai J, editor. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. China: Elsevier Saunders; 2011. p. 731-803.
76. Mecklin JP. Frequency of hereditary colorectal carcinoma. *Gastroenterology* 1987; 93: 10215.

77. Yuan L, Chi Y, Chen W, Chen X, Wei P, Sheng W. Immunohistochemistry and microsatellite instability analysis in molecular subtyping of colorectal carcinoma based on mismatch repair competency. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8(11): 20988-21000.
78. Karahan B, Argon A. Relationship between MLH-1, MSH-2, PMS-2, MSH-6 expression and clinicopathological features in colorectal cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015; 8(4): 4044-4053.
79. Lanza G, Gafa R, Maestri I, Santini A, Matteuzzi M, Cavazzini L. Immunohistochemical Pattern of MLH-1/MSH-2 Expression Is Related to Clinical and Pathological Features in Colorectal Adenocarcinomas with Microsatellite Instability. *Mod Pathol* 2002; 15(7): 741-749.
80. Kruschewski M, Noske A, Haier J, Runkle N, Anagnostopoulos Y, Buhr HJ. Is reduced expression of mismatch repair genes MLH-1 and MSH-2 in patients with sporadic colorectal cancer related to their prognosis? *Clin Exp Metastasis* 2002; 19: 71-77.
81. Wright CL, Stewart ID. Histopathology and Mismatch Repair Status of 458 Consecutive Colorectal Carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2003; 27:1393-1406.
82. Chepusot C, Martin L, Mungra N, Rageot D, Bouvier AM, Kopp CB, Ponnelle T, Faivre J, Piard F. Sporadic colorectal cancers with defective mismatch repair display a number of specific morphological characteristics: relationship between the expression of h MLH-1 and h MSH-2 proteins and clinicopathological features of 273 adenocarcinomas. *Histopathology* 2003; 43: 40-47.
83. Jover R, Paya A, Alenda C, Poveda MJ, Peiro G, Aranda I, Mateo MP. Defective Mismatch-Repair Colorectal Cancer / Clinicopathologic Characteristics and Usefulness of Immunohistochemical Analysis for Diagnosis. *Am J Clin Pathol* 2004; 122: 389-394.
84. Gafa R, Maestri I, Matteuzzi M, Santini A, Ferretti S, Cavazzini L, Lanza G. Sporadic Colorectal Adenocarcinomas with High-Frequency Microsatellite Instability. *Cancer* 2000; 89: 2025-2037.

85. Shia J, Klimstra DS, Nafa K, Offit K, Guillem JG, Markowitz AJ, Gerald WL, Ellis NA. Value of immunohistochemical detection of DNA mismatch repair proteins in predicting germline mutation in hereditary colorectal neoplasms. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 96-104.
86. Shia J, Zhang L, Shike M, Guo M, Stadler Z, Xiong X, Tang LH, Vakiani E, Katabi N, Wang H, Bacares R, Ruggeri J, Boland CR, Ladanyi M, Klimstra DS. Secondary mutation in a coding mononucleotide tract in MSH6 causes loss of immunoexpression of MSH6 in colorectal carcinomas with MLH1/PMS2 deficiency. *Mod Pathol* 2013; 26: 131-138.
87. Park IJ, Kim HC, Kim JS, Yu ES, Yu CS, Kim JC. Correlation Between h MLH-1/h MSH-2 and p53 Protein Expression in Sporadic Colorectal Cancer. *HepatoGastroenterology* 2005; 52: 450-454.
88. Lamberti C, Kruse R, Ruelfs C, Caspari R, Wang Y, Jungck M, Mathiak M, Malayeri HRH, Friedl W, Sauerbruch T, Propping P. Microsatellite instability- a useful diagnostic tool to select patients at high risk for hereditary non-polyposis colorectal cancer: a study in different groups of patients with colorectal cancer. *Gut* 1999; 44: 839-843.
89. Hendriks Y, Franken P, Dierssen JW, Leeuw W, Wijnen J, Dreef E, Tops C, Breuning M, Bröcker-Vriends A, Vasen H, Fodde R, Morreau H. Conventional and Tissue Microarray Immunohistochemical Expression Analysis of Mismatch Repair in Colorectal Tumors. *Am J Pathol* 2003; 162: 469-477.