



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOLON KARSİNOMLARINDA SATB2
EKSPRESYONU İLE
MİKROSATELLİT İNSTABİLİTE
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
ARAŞTIRILMASI**

DR. HATİCE SERTAKAN
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR-2022



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOLON KARSİNOMLARINDA SATB2
EKSPRESYONU İLE
MİKROSATELLİT İNSTABİLİTE
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. HATİCE SERTAKAN
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. HÜSEYİN BÜYÜKBAYRAM

DİYARBAKIR - 2022

ÖN SÖZ

Asistanlık eğitimim süresince yardım ve desteklerini esirgemeyen, bilimsel ve mesleki deneyimleri başta olmak üzere her konuda yol gösterici olan başta tez danışman hocam Prof. Dr. Hüseyin BÜYÜKBAYRAM, diğer hocalarım, Prof. Dr. Selver ÖZŞENER ÖZEKİNCİ, Doç. Dr. Ulaş ALABALIK, Dr. Öğr. Üyesi Ayşenur KELEŞ, Dr. Öğr. Üyesi Gülay AYDOĞDU, Dr. Öğr. Üyesi Dr. İbrahim İBİLOĞLU'na Dr. Öğr. Üyesi Engin Deniz YILMAZ'a,

İstatistiksel değerlendirmede yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi İsmail YILDIZ'a,

Beraber çalışmaktan ve tanışmaktan mutluluk duyduğum arkadaşlarım Uz. Dr. Fatma Şule KUTLAR DURSUN, Uz. Dr. Mustafa NACİR, Uz. Dr. Gülден YILDIZ, Arş. Gör. Dr. Medine DİCLELİ, Arş. Gör. Dr. Tuğçem BOLOVA'ya

Çalışmamın kesit alma işlemi ve immünohistokimya aşamalarında yardımcı olan arkadaşlarım teknisyen Serdar LAÇİN, Ali KARAL, biyolog Ali DEMİR ve kimyager Vedat YILDIRIM olmak üzere bölümümüzde çalışan tüm arkadaşlarıma,

Bu tezin hazırlanmasında maddi destek sağlayan “Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü (DÜBAP)”ne (TIP.21.006 no'lu proje),

Bugünlere gelmemde büyük katkıları olan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda hissettiğim annem ve babama, varlığıyla her zaman bana güç veren ve beni her durumda sabırla destekleyen eşim Bilal'e, huzur kaynaklarım yakışıklı oğlum Muhammed ve güzel kızım Elif'e ve tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Ocak-2022

HATİCE SERTAKAN

ÖZET

Kolon adenokarsinomu, gastrointestinal traktın en sık görülen malignitesidir. Dünya çapında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Dünyadaki tüm kanser ölümlerinin yaklaşık olarak %10'undan kolon adenokarsinomları sorumludur. Kolon kansinomlarının nedenleri ve patogenezi genetik ve çevresel faktörlerin her ikisi ile ilişkilidir.

Mikrosatellitler, insan genomu boyunca dağılmış hem kodlanan hem de kodlanmayan bölgelerdeki baz çiftlerinin kısa tekrarlı DNA dizileridir. Tekrarlanan yapıları nedeniyle replikasyon hatalarına özellikle eğilimlidirler ve yanlış eşleşme tamiri (MMR) sistemi tarafından onarılırlar. MMR sisteminde MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6, MLH-3, MSH-3, PMS-1 gibi proteinler yer alır. Bu proteinler, DNA hasarını onaran heterodimerler oluşturur. Bu proteinlerden birinin eksikliği, eksik MMR (deficient MMR, dMMR), mikrosatellit instabilite (MSI) ile sonuçlanır. Kolorektal karsinogenezde en yaygın görülen heterodimerler MLH-1/PMS-2 ve MSH-2/MSH-6'dır. SATB2 (Special AT-rich sequence binding protein), DNA'nın AT açısından zengin matriks bağlanma bölgesi ile etkileşime giren transkripsiyon faktörü ailesinin bir üyesidir. Kolon ve appendiks dahil olmak üzere alt gastrointestinal sistem epitel hücrelerinde eksprese edilir. Dolayısıyla alt gastrointestinal tümörlerde belirteç olarak kullanılabilir.

Bu çalışmada; SATB2 ile MMR proteinlerinin immünohistokimyasal yöntem ile tespiti, MMR protein eksikliğine sahip tümörlerin, yerleşim yeri, histolojik alt tip, yaş, cinsiyet, tümör evresi, sağkalım, crohn benzeri lenfoid reaksiyon, tümörü infiltre eden lenfositler, lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon açısından değerlendirilmesi, yine SATB2 ekspresyonunun yaş, cinsiyet, histolojik alt tipler, tümör evresi, sağkalım, lenf nodu metastazı, uzak organ metastazı, lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon ile olan ilişkisi, ayrıca SATB2-dMMR arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD.'na 01 Ocak 2010-30 Ağustos 2020 tarihleri arasında gönderilen kolon adenokarsinom tanısı alan, neoadjuvan tedavi almamış 150 olgu dahil edildi.

İstatistiksel verilere göre dMMR; sağ kolon yerleşimi, tümörü infiltre eden lenfositler, Crohn benzeri lenfositik yanıt ile literatür ile uyumlu olacak şekilde anlamlı olarak ilişkili bulundu. Çalışmamızda SATB2 negatif tümörler ile yüksek histolojik derece, yüksek evre ve düşük oranda sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlendi. Çalışmamızda dMMR grubunda, MSS grubuna göre SATB2 negatif ve SATB2 düşük ekspresyon gösteren vakalar daha yüksek oranda izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Kolon adenokarsinomlarında rutin uygulanabilecek immünohistokimyasal MLH-1, MSH-2, MSH-6, PMS-2 parametreleri MSI'yi öngörmede hızlı bir yol olabileceği, MSI tespiti hastaların klinik takibinde ve tedavi planlanmasında yardımcı olacağını, SATB2 ekspresyonunun kolon kanserlerinde olumlu prognostik faktör olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca dMMR varlığı ile negatif SATB2 ekspresyonu arasındaki ilişkinin sağkalım ile ilişkili olduğunu, hasta değerlendirilirken göz önünde bulundurulması gerektiğini ve tedaviyi yönlendirmede önemli bir rolü olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Kolon adenokarsinomu, mikrosatellit instabilite, SATB2, immünohistokimya

ABSTRACT

Colon adenocarcinoma is the most common malignancy of the gastrointestinal tract. It is an important cause of morbidity and mortality worldwide. Colon adenocarcinomas are responsible for approximately 10% of all cancer deaths in the world. The causes and pathogenesis of colon carcinomas are related to both genetic and environmental factors.

Microsatellites are short repeating DNA sequences of base pairs in both coding and non-coding regions scattered throughout the human genome. Due to their repetitive nature, they are particularly prone to replication errors and are repaired by the mismatch repair (MMR) system. The MMR system includes proteins such as MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6, MLH-3, MSH-3, PMS-1. These proteins form heterodimers that repair DNA damage. Deficiency of one of these proteins results in missing MMR (dMMR), microsatellite instability (MSI). The most common heterodimers in colorectal carcinogenesis are MLH-1/PMS-2 and MSH-2/MSH-6. SATB2 (Special AT-rich sequence binding protein) is a member of the transcription factor family that interacts with the AT-rich matrix binding site of DNA. It is expressed in epithelial cells of the lower gastrointestinal tract, including the colon and appendix. Therefore, it can be used as a marker in lower gastrointestinal tumors.

In this study; Detection of SATB2 and MMR proteins by immunohistochemical method, evaluation of tumors with MMR protein deficiency in terms of location, histological subtype, age, gender, tumor stage, survival, crohn-like lymphoid reaction, lymphocytes infiltrating the tumor, lymphovascular invasion and perineural invasion, again We aimed to investigate the relationship of SATB2 expression with age, gender, histological subtypes, tumor stage, survival, lymph node metastasis, distant organ metastasis, lymphovascular invasion and perineural invasion, as well as the relationship between SATB2-MSI.

Our study included 150 patients who were diagnosed with colon adenocarcinoma and did not receive neoadjuvant treatment, who were referred to Dicle University Faculty of Medicine, Department of Pathology between January 01, 2010 and August 30, 2020.

According to statistical data, dMMR; right colon location, tumor infiltrating lymphocytes, Crohn's-like lymphocytic response were found to be significantly

associated with the literature. In our study, a statistically significant relationship was observed between SATB2 negative tumors and high histological grade, high stage and low survival rate. In our study, SATB2 negative and SATB2 low expression cases were observed at a higher rate in the dMMR group compared to the MSS group, and it was found to be statistically significant.

We think that immunohistochemical parameters MLH-1, MSH-2, MSH-6, PMS-2 that can be routinely applied in colon adenocarcinomas can be a quick way to predict MSI, MSI detection will help in clinical follow-up and treatment planning of patients, and SATB2 expression is a positive prognostic factor in colon cancers. In addition, we think that the relationship between the presence of dMMR and negative SATB2 expression is associated with survival, should be considered when evaluating the patient, and has an important role in guiding the treatment.

Keywords: Colon adenocarcinoma, microsatellite instability, SATB2, immunohistochemistry

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AJCC:	Amerikan Ortak Kanser Komitesi
APC:	Adenomatöz polipozis coli
BRAF:	v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B
BT:	Bilgisayarlı tomografi
CEA:	Karsinoembriyonik antijen
CIMP:	CpG-island methylator phenotype
CIN:	Kromozomal instabilite
CpG:	Cytosine-phosphate-guanine
DCC:	Deleted in colorectal cancer
DNA:	Deoxyribonucleic acid
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
FAP:	Famlyal adenomatöz polipozis
HNPCC:	Hereditör non-polipozis kolorektal kanser
H&E:	Hematoksilen & Eozin
İHK:	İmmünohistokimya
KRAS:	Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
KRK:	Kolorektal kanser
MR:	Manyetik rezonans
MLH-1:	MutL Homolog 1
MMR:	Mismatch repair
MSS:	Mikrosatellite stabilite
MSH-2:	MutS Homolog 2
MSH-6:	MutS Homolog 6
MSI:	Mikrosatellit instabilite
MSI-H:	Microsatellite instability-high
MSI-L:	Microsatellite instability-low
MUC:	Müsin

- PCR:** Polymerase chain reaction
- PET:** Pozitron emisyon tomografi
- PIK3A:** Fosfatidilinozitol-4,5-bifosfonat 3-kinaz katalitik altbirim alfa
- PMS-2:** Postmeiotic Segregation Increased 2
- TGF- β :** Transforme edici büyüme faktörü beta
- TSA:** Traditional serrated adenom



TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 1: Kolorektal tümörlerin histolojik sınıflandırılması (WHO 2019).....	5
Tablo 2: Kolorektal tümörlerde TNM evrelemesi.....	24
Tablo 3: İmmünohistokimyasal çalışmada kullanılan primer antikorlar.....	344
Tablo 4: Prognostik parametreler ve immünohistokimyasal analiz sonuçları	388
Tablo 5: Yaş ile MMR durumu karşılaştırması.....	411
Tablo 6: MMR İHK durumunun tümör lokalizasyonu ile ilişkisi.....	422
Tablo 7: SATB2 ekspresyon durumunun tümör lokalizasyonu ile ilişkisi	422
Tablo 8: MMR ve SATB2 ekspresyon durumları ile cinsiyet arasındaki ilişki	433
Tablo 9: Lenf nodu metastazı ile SATB2 ekspresyon durumu arasındaki ilişki.....	444
Tablo 10: Tümörün histolojik derecesi ile SATB2 ekspresyon durumu arasındaki ilişki ..	455
Tablo 11: Tümör evresi ile MMR durumu karşılaştırılması	466
Tablo 12: SATB2 ekspresyon durumu ile tümör evresinin karşılaştırılması	47
Tablo 13: MMR durumu ile crohn benzeri lenfoid reaksiyon arasındaki ilişki	499
Tablo 14: MMR durumunun tümörü infiltre eden lenfositler ile ilişkisi	511
Tablo 15: MMR durumu ve SATB2 ekspresyon durumu ile LVİ arasındaki ilişki.....	522
Tablo 16: MMR durumu ve SATB2 ekspresyon durumu ile PNI arasındaki ilişki.....	533
Tablo 17: Kolon adenokarsinomlarda Kaplan-Meier metodu ile elde edilen sağkalım süreleri (ay) için Log Rank testi ile analiz sonuçları	544
Tablo 18: İmmünohistokimyasal olarak MMR proteinlerinin nükleer ekspresyonlarının değerlendirilmesi.....	566
Tablo 19: MMR durumu ile SATB2 ekspresyon durumunun karşılaştırılması	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Kalın barsağın anatomik ve embriyolojik bölümleri.....	2
Şekil 2: Kalın barsak duvarının histolojik tabakaları	4
Şekil 3: Adenom- karsinom sekansındaki moleküler değişiklikler	12
Şekil 4: Kolon karsinogenezinde mismatch tamir yolağındaki morfolojik ve moleküler değişiklikler.....	13
Şekil 5: İyi diferansiye adenokarsinom, Desmoplastik stromada tübüller, anastomoz yapan ve dallanan glandüler yapılar (H&E; X100)	16
Şekil 6: Az diferansiye adenokarsinom, tümörün %50'sinden az oranda gland formasyonu içermekte (H&E; X100).....	17
Şekil 7: Müsinöz adenokarsinom, Submukozada müsin havuzları ile çevrili kümeler ve küçük glandüler yapılar halinde tümör hücreleri (H&E; X100)	18
Şekil 8: Taşlı yüzük hücreli karsinom, muskularis propriaya infiltre müsin gölcükleri içinde taşlı yüzük hücreleri (H&E; X200).....	20
Şekil 9: Crohn benzeri lenfoid reaksiyon (Oklar: Germinal merkezi olan lenfoid agregatlar) (H&E; X40)	488
Şekil 10: Crohn benzeri lenfoid reaksiyon (Oklar: Germinal merkezi olmayan lenfoid agregatlar) (H&E; X40)	499
Şekil 11: Tümörü infiltre eden lenfositler (Halka: Stromada tümör hücreleri arasındaki lenfositik hücre kümesi) (H&E; X100).....	500
Şekil 12: Tümörü infiltre eden lenfositler (Halkalar: Neoplastik gland epiteline infiltre görünümdeki lenfositler) (H&E; X200).....	511
Şekil 13: Kaplan-Meier eğrisi Kolon kanserlerinde SATB2 ekspresyon durumuna göre genel sağkalım	544
Şekil 14: İyi diferansiye adenokarsinom, MSH2 pozitifliği (İmmünperoksidaz; X100)	577
Şekil 15: Az diferansiye adenokarsinom, MSH6 pozitifliği (İmmünperoksidaz; X100)	57
Şekil 16: Taşlı yüzük hücreli karsinom, MLH1 pozitifliği (İmmünperoksidaz; X100)	588
Şekil 17: Taşlı yüzük hücreli karsinom, PMS2 pozitifliği (İmmünperoksidaz; X200)	58
Şekil 18: İyi diferansiye adenokarsinom, MSH2 negatifliği (İmmünperoksidaz; X200)....	599
Şekil 19: İyi diferansiye adenokarsinom, MSH6 negatifliği (İmmünperoksidaz; X100).....	59
Şekil 20: Az diferansiye adenokarsinom, MLH1 negatifliği (İmmünperoksidaz; X200) ...	600
Şekil 21: Müsinöz adenokarsinom, PMS2 negatifliği (İmmünperoksidaz; X200).....	60
Şekil 22: Taşlı yüzük hücreli karsinom, SATB2 negatifliği (İmmünperoksidaz; X100)	611
Şekil 23: Orta derece diferansiye adenokarsinom, SATB2 zayıf şiddette pozitifliği (İmmünperoksidaz; X100)	622
Şekil 24: İyi diferansiye adenokarsinom, SATB2 orta şiddette pozitifliği (İmmünperoksidaz; X100)	62
Şekil 25: İyi diferansiye adenokarsinom, SATB2 güçlü şiddette pozitifliği (İmmünperoksidaz; X100)	633

İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
İÇİNDEKİLER	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Embriyoloji	2
2.2. Anatomi.....	2
2.3. Histoloji.....	4
2.4. Kolorektal Karsinomlar.....	5
2.4.1. Kolon adenokarsinomu	6
2.4.1.1. Epidemiyoloji.....	6
2.4.1.2. Etiyoloji.....	7
2.4.1.2.1. Genetik faktörler	7
2.4.1.2.1.1. Herediter nonpolipozis kolorektal kanser sendromu (HNPCC-Lynch sendromu)	7
2.4.1.2.1.2. Muir-Torre sendromu.....	8
2.4.1.2.1.3. Familyal Adenomatöz Polipozis	8
2.4.1.2.1.4. Diğer polipozis sendromları[1, 17]	8
2.4.1.2.2. Adenomlar.....	9
2.4.1.2.3. Serrated lezyonlar	10
2.4.1.2.4. Diyet ve yaşam tarzı.....	10
2.4.1.2.5. Kronik İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı	10
2.4.1.2.6. Radyasyon.....	11
2.4.1.2.7. Diğer faktörler.....	11
2.4.1.3. Patogenez	11
2.4.1.4. Klinik özellikler	14
2.4.1.5. Görüntüleme	15

2.4.1.6.	Lokalizasyon	15
2.4.1.7.	Makroskopik bulgular	15
2.4.1.8.	Mikroskopik Bulgular	15
2.4.1.9.	Histokimyasal ve İmmünohistokimyal Bulgular	17
2.4.2.	Kolon adenokarsinomunun diğer histopatolojik varyantları	18
2.4.3.	Evreleme ve Histolojik Grade.....	23
2.4.4.	Yayılım ve metastaz.....	25
2.4.5.	Tedavi	25
2.4.6.	Prognostik faktörler.....	26
2.4.6.1.	Crohn benzeri lenfoid reaksiyon	28
2.4.6.2.	Tümörü infiltrate eden lenfositler	28
2.4.6.3.	MMR proteinleri	29
2.4.6.4.	SATB2	31
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1.	Olguların Belirlenmesi ve Hazırlanması.....	32
3.2.	Parafin blok seçimi	32
3.3.	Kesitlerin elde edilmesi ve deparafinizasyon işlemi	32
3.4.	Histomorfolojik değerlendirme.....	33
3.5.	İmmünohistokimyasal çalışma.....	33
	İmmünohistokimyada kullanılan belirteçler ve çalışma protokolü.....	33
3.5.1.	İmmünohistokimyasal skoreleme	35
3.6.	İstatistiksel Yöntem	36
4.	BULGULAR.....	38
4.1.	Genel bulgular.....	38
4.1.1.	Histolojik alt tip	40
4.1.2.	Yaş	41
4.1.3.	Yerleşim yeri.....	41
4.1.4.	Cinsiyet.....	43
4.1.5.	Metastaz durumu.....	43
4.1.6.	Histolojik derece	45
4.1.7.	Evre	46
4.1.8.	Crohn benzeri lenfoid reaksiyon	47
4.1.9.	Tümörü infiltrate eden lenfositler	49
4.1.10.	Lenfovasküler invazyon	51

4.1.11.	Perinöral invazyon	52
4.1.12.	Genel sağkalım analizi	53
4.2.	İmmünohistokimyasal bulgular.....	55
4.2.1.	Mikrosatellit instabilite	55
4.2.2.	SATB2 ekspresyonu	60
4.2.3.	İmmünohistokimyasal olarak MSI ile SATB2 arasındaki ilişki	63
5.	TARTIŞMA	65
6.	SONUÇLAR	73
7.	KAYNAKÇA.....	76



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kolon adenokarsinomu, gastrointestinal traktın en sık görülen malignitesidir. Dünya çapında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir[1]. Tüm kolon karsinomlarının %90'ını adenokarsinomlar oluşturur[2]. Cerrahi ile beraber radyoterapi, kemoterapi ve immünoterapi tedavi seçenekleri bulunmaktadır[3].

Kolonik adenokarsinoma yol açan moleküler olaylar heterojendir; genetik ve epigenetik anormallikleri içerir[1]. Kolon karsinomları gelişiminde kromozomal kararsızlık (CIN), CpG adası metilasyon fenotipi (CIMP) ve mikrosatellit instabilite (MSİ) yolağı olmak üzere 3 ana yolak vardır[4].

MSİ yolağı, hatalı eşleşme onarım (Mismatch Repair, MMR) genleri olan MLH1, MLH3, MSH2, MSH3, MSH6, PMS1 ve PMS2'deki mutasyonlara bağlı olarak gelişir. MSİ'de, sıklıkla dört ana MMR genlerinden birinin (MSH2, MLH1, MSH6 veya PMS2) mutasyonu izlenir. Bu yolak kolon kanserlerinin yaklaşık olarak %15-20'sinden sorumludur[5]. SATB2 (Special AT-rich sequence binding protein), neoplastik olmayan kolorektal mukozada yüksek oranda eksprese edilen nükleer matris bağlanma bölgeleriyle etkileşime giren bir transkripsiyon faktörüdür[6].

Son yıllarda giderek artan sayıda çalışmada MSİ'nin kemoterapiye yanıt cevabı üzerine olumlu katkıda bulunduğu gösterilmektedir[7, 8]. Yapılan son çalışmalarda SATB2 tümör büyümesi veya baskılanması ile ilişkilendirilmiş ve SATB2'nin birkaç kanser türünde tümör ilerlemesini baskıladığı gösterilmiştir. Yani SATB2'nin ekspresyonu olumlu prognostik faktördür[9].

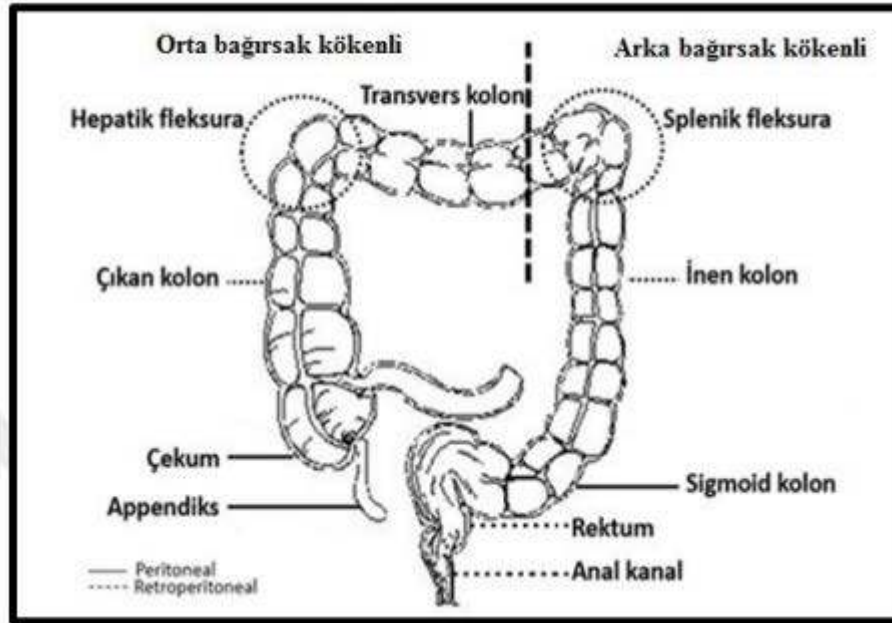
Çalışmamızda Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı alan kolon adenokarsinomlu olgularda immünohistokimyasal çalışma ile MSH2, MSH6, MLH1, PMS2 ve SATB2 protein ekspresyon durumu değerlendirildi. Bu parametrelerin klinikopatolojik özellikler ve birbirleriyle olan ilişkileri gösterildi. Böylece seçilmiş olgularda hedefe yönelik tedavilere öncü olması, tedavi etkinliğini artırmada ve yönlendirmede rol alabileceğini göstermek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Embriyoloji

İlkel bağırsaklar, gebeliğin 3.haftasında yolk sak kesesinin endodermal çatısından gelişmeye başlar. Sagittal düzlemde ortak bir mezenter tarafından asılan basit bir tüp şeklindedir. Ön bağırsak, orta bağırsak ve arka bağırsak olmak üzere 3 bölümden oluşur[10]. Ön bağırsaktan özofagus, mide, pankreas ve duodenumun ampulla vateriye kadar olan kısmı gelişir. Orta bağırsaktan distal duodenum, jejunum, ileum, çekum, çıkan kolon ve transvers kolonun 2/3 proksimali gelişir. Arka bağırsaktan 1/3 distal transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektum gelişir[11].

2.2. Anatomi



Şekil 1: Kalın barsağın anatomik ve embriyolojik bölümleri

Kolon ileumun sonundan rektosigmoid köşeye kadar uzanan ileoçekal valv ve appendiksi de içeren ortalama 150 cm (120-200 cm) uzunluğunda tübüler bir yapıdır. Kolonun bölümleri sırasıyla çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon ve sigmoid kolondur. Sigmoid kolon devamında rektum ile anüs gelir ve tüm kalın bağırsak tamamlanmış olur[10, 12].

Çekum: Yaklaşık 6-8 cm çapında olan çekum, kalın bağırsağın ilk bölümüdür ve sağ iliak fossada, terminal ileum distalinde yer alır. Çekum yüzeyinin %90'dan

fazlası periton ile kaplıdır. İleum, ileoçekal valv olarak adlandırılan konik papiller bir çıkıntı ile çekuma açılır. İleoçekal valve 3 cm uzaklıkta ise apendiks yer alır. Apendiks kör sonlanan tübüler bir yapı olup ortalama 8-10 cm uzunluktadır[10].

Çıkan kolon: Ortalama 12-20 cm uzunluğunda olan çıkan kolon çekum ile hepatik fleksura arasında yer alır. Çıkan kolon karaciğerin alt kısmından aşağı ve safra kesesinin lateralinden sola dönerek hepatik fleksurayı oluşturur. Çıkan kolon posterior yüzeyi hariç periton ile kaplıdır[10].

Transvers kolon: Hepatik fleksuradan başlayan transvers kolonun uzunluğu yaklaşık olarak 45 cm'dir ve kolonun en uzun segmentidir. Batını sağdan sola kateder ve dalak önünde splenik fleksurayı oluşturur. Transvers kolonun neredeyse tamamı periton ile kaplıdır[10].

İnen kolon: Yaklaşık 25 cm uzunluğunda olan inen kolon splenik fleksuradan başlar ve pelvise kadar uzanır. Çıkan kolon gibi ön, medial ve lateral yüzeyleri periton ile kaplıdır[10].

Sigmoid kolon: İnen kolon iliak krest seviyesine geldiğinde sigmoid kolon adını alır. Yaklaşık 35-40 cm uzunluktadır. Sigmoid kolon tamamen peritonla kaplıdır[10].

Rektum: Rektum yaklaşık 12-14 cm uzunluktadır. Rektosigmoid bileşkeden başlar ve anal kanalda biterek kalın bağırsağın distalini oluşturur[10, 12]. Rektumun distal 1/3 kısmı tamamen retroperitoneal yerleşimlidir[13].

Anal kanal: Anal kanalın 2 tanımı vardır. Anatomik anal kanal, anal sınırdan dentat çizgiye kadar uzanan 2 cm'lik kısımdır. Cerrahi veya fonksiyonel anal kanal ise anal sınırdan anorektal halkaya kadar uzanan 4 cm'lik kısmı kapsar. Dentat çizgi proktodeal membran kalıntılarının oluşturduğu bir hat olarak ele alınır ve anal kanalı venöz ile lenfatik drenajı, innervasyonları, epiteli ayrı olan 2 bölgeye ayırır[10].

Arteriyel dolaşım: Çekumdan itibaren transvers kolonun proksimal kısmı dahil süperior mezenterik arter ve dalları, distal transvers kolon, splenik fleksura, inen kolon ve rektosigmoid kolonu inferior mezenterik arter ve dalları besler[10]. İnternal iliak arterden gelen dallar ise rektum ve anal kanalı besler[12, 13].

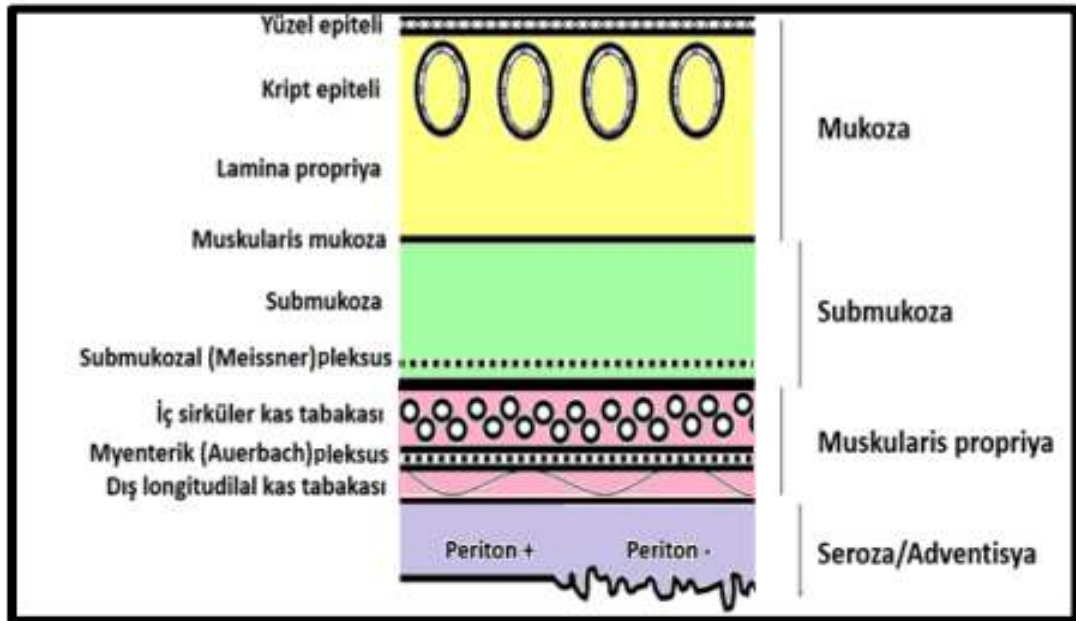
Venöz dolaşım: Kolonun venöz dolaşımı arterleri takip eder[10, 13]. Çekum, çıkan kolon ve transvers kolonun sağ yarısını süperior mezenterik ven, transvers kolonun sol yarısı, inen kolon, sigmoid kolon ve süperior rektumu inferior mezenterik

ven drene eder. Süperior ve inferior mezenterik ven portal sisteme dökülür. Rektum distali ve anal kanalın drenajını inferior ve medial rektal venler sağlar. Bunlar internal iliak vene ve dolayısıyla sistemik dolaşıma dökülür[13].

Lenfatik drenaj: Kolonun lenfatik drenajı arterleri takip eder[10, 12, 13]. Bu drenaj esas olarak mezenter yoluyla ana vasküler yollar boyunca yer alan parakolik lenf nodlarına olur. Rektumun lenfatik drenajı ise inferior mezenterik arter, hipogastrik ve ana iliak lenf nodları arasındadır[12].

Sinirleri: Kolon hem sempatik hem de parasempatik sistemler tarafından uyarılır. Sempatik sistem kolon peristaltizmi üzerinde inhibitör etki gösterirken, parasempatik sistem kolon peristaltizmini artırır. Proksimal kolonun parasempatik inervasyonu nervus vagustan sağlanırken, distal kolon ve rektumun parasempatik inervasyonu S2 ve S4 kaynaklı pelvik splanknik sinirlerden sağlanır. Proksimal kolon süperior mezenterik plexus yoluyla çölyak plexus tarafından inerve edilirken, distal kolon sempatik liflerini süperior hipogastrik plexustan ve inferior mezenterik arter dallarına paralel olarak alır[10].

2.3. Histoloji



Şekil 2: Kalın barsak duvarının histolojik tabakaları

Kolon duvarı sırasıyla mukoza, submukoza, muskularis propria ve seroza (rektumda perimuskuler dokular) olmak üzere 4 katmandan oluşur. Mukoza ise kendi içerisinde epitel, lamina propria ve muskularis mukoza olmak üzere 3 tabakaya ayrılır.

Tunika mukoza: Mukoza içine Lieberkühn kriptlerinin açıldığı tek sıralı kolumnar veya küboidal epitel ile döşeli olup, bu epitel absorbtif hücreler ve goblet hücreleri içerir. Kriptlerde ise absorbtif hücreler ve goblet hücreleri yanısıra indiferansiye prekürsör hücreler, endokrin hücreler ve Paneth hücreleri bulunur. Lamina propriada düz kas demetleri, kapiller damarlar, sinirler, lenfatikler, kollajen lifler ve bunlar arasında dağınık halde yerleşmiş lenfositler, plazma hücreleri, histiyositler ve mast hücreleri yer alır. Ayrıca lenfoid folliküller de görülebilir. Muskularis mukozada ise sinir ve kas lifleri yer alır.

Tunika submukoza: Lamina propriaya benzer hücre bileşenleri bulunduran gevşek bağ dokusudur. Ayrıca Meissner'in submukozal nöral pleksusu da bu tabakada yer alır.

Tunika muskularis: Muskularis propria içte sirküler, dışta longitudinal seyreden kas tabakası ve bunlar arasında yer alan Auerbach'ın myenterik nöral pleksusunu bulundurur.

Tunika seroza: Tek sıralı yassı veya küboidal mezotelyal hücreler ile bunun altındaki fibroelastik dokudan oluşur[12].

2.4. Kolorektal Karsinomlar

Kolorektal tümörler Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2019 sınıflamasına (Tablo 1) göre 2 ana gruba ayrılmıştır[2].

Tablo 1: Kolorektal tümörlerin histolojik sınıflandırılması (WHO 2019)

❖ Benign Epitelyal Tümörler ve Prekürsörler
▪ Serrated displazi, düşük dereceli
▪ Serrated displazi, yüksek dereceli
• Hiperplastik polip, mikroveziküler tip
• Hiperplastik polip, goblet hücreli
▪ Adenomatöz polip, düşük dereceli displazi
▪ Adenomatöz polip, yüksek dereceli displazi
• Tübüler adenom, düşük dereceli
• Tübüler adenom, yüksek dereceli
• Villöz adenom, düşük dereceli

- Villöz adenom, yüksek dereceli
- Tübülovillöz adenom, düşük dereceli
- Tübülovillöz adenom, yüksek dereceli
- İlerlemiş adenom
- Glandüler intraepitelyal neoplazi, düşük dereceli
- Glandüler intraepitelyal neoplazi, yüksek dereceli
- ❖ Malign Epitelyal Tümörler
 - Adenokarsinom, NOS
 - Adenom benzeri adenokarsinom
 - Mikropapiller adenokarsinom
 - Müsinöz adenokarsinom
 - Az diferansiye karsinom
 - Taşlı yüzük hücreli karsinom
 - Medüller adenokarsinom
 - Adenoskuamöz karsinom
 - Andiferansiye karsinom, NOS
 - Sarkomatoid karsinom
 - Nöroendokrin tümör, NOS
 - Nöroendokrin tümör, Derece 1
 - Nöroendokrin tümör, Derece 2
 - Nöroendokrin tümör, Derece 3
 - L hücreli tümör
 - Glukagon benzeri peptid üreten tümör
 - PP/PYY üreten tümör
 - Enterokromaffin hücreli tümör
 - Serotonin üreten tümör
 - Nöroendokrin karsinom, NOS
 - Büyük hücreli nöroendokrin karsinom
 - Küçük hücreli nöroendokrin karsinom
 - Mikst nöroendokrin-nöroendokrin olmayan neoplazm(MİNEN)

2.4.1. Kolon adenokarsinomu

Kolon adenokarsinomu, gastrointestinal traktın en sık görülen malignitesidir. Dünya çapında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir[1]. Tüm kolon karsinomlarının %90'ını adenokarsinomlar oluşturur[2].

2.4.1.1.Epidemiyoloji

Gastrointestinal kanserler arasında en yaygın olanı kolorektal kanserlerdir[2]. Dünyadaki tüm kanser ölümlerinin yaklaşık olarak %10'undan kolon adenokarsinomları sorumludur. Her yıl yaklaşık 1.2 milyon yeni kolorektal adenokarsinom vakası görülmekte ve dünya çapında 600.000 ölüm meydana

gelmektedir. Bununla birlikte, gastrointestinal sistem karsinomları içinde açık ara en iyi tedavi edilebilir formudur[12]. Kolon adenokarsinomlarının insidansı Kuzey Amerika'da en yüksektir. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki kansere bağlı ölümlerin yaklaşık olarak %15'ine tekabül eder ve akciğer kanserinden sonra 2.sırada yer alır [1]. Kolon adenokarsinom insidansı Avustralya, Yeni Zelanda, Avrupa ve (yaşam tarzı ve diyetteki değişikliklerle birlikte) Japonya'da da yüksektir. Buna karşılık, Güney Amerika, Hindistan, Afrika ve Güney Orta Asya'da daha düşük oranda izlenir[1, 12]. Kadınlarda en sık görülen 2.kanser ve erkeklerde en sık görülen 3.kanserdir[2]. Ortalama görülme yaşı 60-70 yaş arasındır[1, 12]. Vakaların az bir kısmı 50 yaşından önce ortaya çıkar ancak son veriler 40 yaşından önce hastalık insidansının arttığını ve daha agresif davrandığını göstermektedir[1, 12].

2.4.1.2.Etiyoloji

Kolon karsinomlarının nedenleri ve patogenezi genetik ve çevresel faktörlerin her ikisi ile ilişkilidir[12].

2.4.1.2.1. Genetik faktörler

2.4.1.2.1.1.Herediter nonpolipozis kolorektal kanser sendromu (HNPCC-Lynch sendromu)

Kolon kanserlerinin çoğu sporadiktir; hastaların yaklaşık dörtte üçünde aile öyküsü negatiftir. Buna göre, hastaların yaklaşık %15-20'sinde pozitif aile öyküsü rol alır[14]. Bu tümörlerin %5'i hereditör zeminde ortaya çıkar[15]. Bu kategorinin prototipi Lynch sendromudur (LS)[14]. Tüm kolon kanserlerinin yaklaşık %2-5'ine neden olur[15, 16]. Lynch sendromu, DNA yanlış eşleşme tamir genleri olan MLH-1, MSH-2, MSH-6 ve PMS-2'yi etkileyen patojenik mutasyonlardan kaynaklanan otozomal dominant kalıtım gösteren bir hastalıktır[12, 15, 17]. Bu genetik defekt nedeniyle Lynch sendromu mikrosatellit instabilite (MSI) ile karakterize edilir[18]. %90 hastada MLH-1 ya da MSH-2 mutasyonu mevcuttur[16]. Lynch sendromunda kolorektum, endometriyum, mide, ince bağırsak, over, safra kesesi, hepatobiliyer sistem, pankreas, üriner trakt (Renal pelvis, mesane ve üreter), böbrek, beyin ve prostat gibi çeşitli kanserler görülebilir. Bu zeminde meydana gelen tümörler sıklıkla genç yaşlarda ortaya çıkar[5, 12, 17]. LS'den kaynaklanan çoğu kolon kanseri MSI'ye sahip

olduğundan test, Lynch sendromuna sahip hastaları tespit etmek için bir tarama aracı olarak hizmet edebilir[5]. MSI'li tümörler sıklıkla sağ kolonda lokalizedir ve histopatolojik olarak müsinöz, taşlı yüzük hücreli, medüller özellikler, tümör infiltrate edici lenfositler, az diferansiasyon, Crohn benzeri reaksiyon ile karakterizedir[5, 17, 18]. Klinik olarak ise Lynch sendromunu tanımlarken revize Bethesda kriterleri ele alınmaktadır[17, 18].

2.4.1.2.1.2.Muir-Torre sendromu

Muir-Torre sendromu herhangi bir visseral kanserle sebaceöz deri tümörünün(sebaceöz adenom, sebaceoma, sebaceöz karsinom veya keratoakantoma gibi) birlikte izlendiği otozomal dominant kalıtım gösteren hereditör bir hastalıktır[17, 18]. Lynch sendromu ile benzer mutasyonlar görülür. Burada görülen kolon kanserleri daha çok proksimal kolon yerleşimlidir ve genellikle genç yaşlarda ortaya çıkar[18].

2.4.1.2.1.3.Familyal Adenomatöz Polipozis

Klasik familyal adenomatöz polipozis (FAP) otozomal dominant kalıtım gösteren kromozom 5q21 üzerinde yer alan APC genindeki mutasyondan kaynaklanan bir hastalıktır. Kolorektumda 100 den fazla polip görülür. Ayrıca gastrointestinal sistemin diğer alanlarında da polipler izlenebilir. FAP'lı hastaların yaklaşık %10'unda desmoid tümör ortaya çıkar. Sıklıkla ekstraintestinal benign tümörler de (osteoma gibi) eşlik eder. Polipler genellikle 2.dekatta ortaya çıkar. Kolektomi uygulanmazsa, hastaların kolon kanserine yakalanma olasılığı neredeyse %100'dür. Atenüe familyal adenomatöz polipozis sendromunda ise klasik FAP tan farklı olarak daha az oranda (20-100) kolorektal adenom izlenir [17, 18]. Burada kolon kanser gelişme riski daha düşük, kolon kanserine yakalanma yaşı ise daha ileridir[17].

2.4.1.2.1.4.Diğer polipozis sendromları[1, 17]

- MUTYH ilişkili polipozis
- NTHL1 ilişkili polipozis
- Hereditör mikst polipozis sendromu
- Serrated polipozis

- Peutz-Jeghers sendromu
- Cowden sendromu
- Jüvenil polipozis sendromu
- Gardner sendromu
- Turcot sendromu

2.4.1.2.2. Adenomlar

Adenomlar premalign lezyon olmaları nedeniyle önem taşırlar. Makroskopik olarak saplı veya sesil polipoid ya da nonpolipoid yapıdadırlar[1, 18]. Adenomların çapı 0,3 cm ile 10 cm arasında değişir[1]. Çoğu adenom 1 cm'den küçüktür. 1 cm'den büyük olan adenomlar sıklıkla distal kolonda yerleşim gösterirler. Adenomların yaklaşık olarak %5'inde invaziv karsinoma rastlanır[18]. Adenomun boyutu arttıkça karsinom gelişme riski de artar[1, 18]. 2 cm'den büyük adenomlarda yaklaşık %10 oranında invaziv karsinom eşlik eder. Adenomlar epitelyal displazi ile karakterizedir. Bu displazi düşük dereceli ve yüksek dereceli olarak ikiye ayrılır. Klasik adenomların düşük dereceli displaziye sahip oldukları kabul edilir. Yüksek dereceli displazide ise yapısal ve sitolojik özelliklere bakılır. Yapısal olarak kriptlerde düzensiz dallanmalar, tomurcuklanma ve kribriform patern izlenir. Sitolojik olarak ise nükleer hiperkromazi, elongasyon ve stratifikasyon gözlenir, nükleer polarite kaybolmuştur. Bu değişikliklere belirgin nükleol ve goblet hücre sayısında azalma da eşlik eder. Mitotik figürler sıklıkla izlenir[18, 19]. Adenomlar arkitektürel yapılarına göre tübüler, tübülovillöz veya villöz olmak üzere üçe ayrılır. Tübüler adenomlar gland ya da tübül formasyonu gösterirler ve tübül yapıları birbirinden normal lamina propria ile ayrılmıştır. Villöz adenomlarda ise büyüme paterni muskaris mukozadan adenomun dış yüzeyine doğru dik olacak şekilde uzanım gösteren parmaksı yapılar ya da villuslar olarak izlenir. Lezyonun %75-80'i tübüler ya da villöz patern gösteriyor ise sırasıyla tübüler adenom ya da villöz adenom olarak isimlendirilir. Bu tanımlamaya göre arada kalan lezyonlar ise tübülovillöz adenom olarak adlandırılır[18].

İleri adenom 10 mm'den büyük, tübülovillöz veya villöz arkitektüre sahip, ve/veya yüksek derece displazi veya intramukozal adenokarsinom içeren adenomları kapsar ve bu terim uluslararası popülasyon tarama programlarının karşılaştırılmasında

kullanılır. İleri adenomlarda senkron ve metakron adenom görülme riski yüksektir. Bu yüzden ileri adenomların çıkarılması kanserin önlenmesinde büyük etkiye sahiptir[2].

2.4.1.2.3. Serrated lezyonlar

Kolonun serrated lezyonları epitelde testere dişi ya da yıldız şeklinde arkitekture sahiptir. Subtipleri; hiperplastik polip (mikroveziküler tip, goblet hücreli tip), sesil serrated lezyon, displazili sesil serrated lezyon, geleneksel serrated adenom ve sınıflandırılmayan serrated adenomdur. Hiperplastik polipler ile geleneksel serrated adenomlar sıklıkla distal kolon ve rektum yerleşimli iken, sesil serrated lezyonlar proksimal kolon yerleşimlidir. Küçük hiperplastik poliplerin malignite potansiyelleri yoktur. Sesil serrated lezyon, geleneksel serrated adenom ve 1 cm'den büyük serrated polipler histolojiden bağımsız olarak metakron büyük serrated polip görülme olasılığını arttırmırlar. Büyük serrated polipler ise kolon karsinomu görülme ihtimalini arttırmaktadır[2].

2.4.1.2.4. Diyet ve yaşam tarzı

Artan kolon kanser riski ile en sık ilişkilendirilen diyet faktörleri, düşük oranda bitkisel lif alımı, yüksek rafine karbonhidrat ve yağ alımıdır. Dolayısıyla bağırsak mikrobiyotası ve nihayetinde intraluminal içeriğin kimyasal bileşimi değişmektedir[1, 2, 12]. Sonuçta dışkı hacmi azalmakta ve bakteriyel metabolizma daha uzun bir süre boyunca kolonik mukoza ile temas halinde olmaktadır. Bu durum potansiyel olarak bakteriyel metabolizmanın toksik oksidatif yan ürünlerini arttırabilir[1]. Ayrıca alkol tüketimi, sigara kullanımı ve sedanter yaşam tarzı da olumsuz etkenler arasındadır[2, 14].

2.4.1.2.5. Kronik İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları (Crohn hastalığı ve ülseratif kolit) ilişkili karsinogenezin, genetik, immünolojik, bulaşıcı ve diğer çevresel faktörlerin kombinasyonu ile birlikte kolon içindeki sürekli inflamasyona bağlı olduğu düşünülmektedir. Ülseratif kolitte displazi vakalarının çoğu sol veya distal kolonda meydana gelir ki bu da ülseratif kolit ile ilişkili kolon kanserlerinin lokalizasyonunu yansıtır[20]. Yaygın ülseratif koliti olan, 7-10 yıldan uzun süredir hastalığı olan, kolitin genç yaşta başladığı ve primer sklerozan kolanjitisi olan hastalarda kolon karsinom insidansı belirgin şekilde artar. Crohn hastalığında, ülseratif kolite göre

kanser insidansı daha düşüktür[12]. Burada displazi daha eşit dağılır ve vakaların %80'inden fazlasında kansere komşu olarak görülür[20].

2.4.1.2.6. Radyasyon

Bazı kolon karsinom vakaları, pelvik bölgeye (genellikle serviks karsinomlarında) uygulanan radyasyon tedavisinin geç bir komplikasyonu olarak ortaya çıkar[2, 12].

2.4.1.2.7. Diğer faktörler

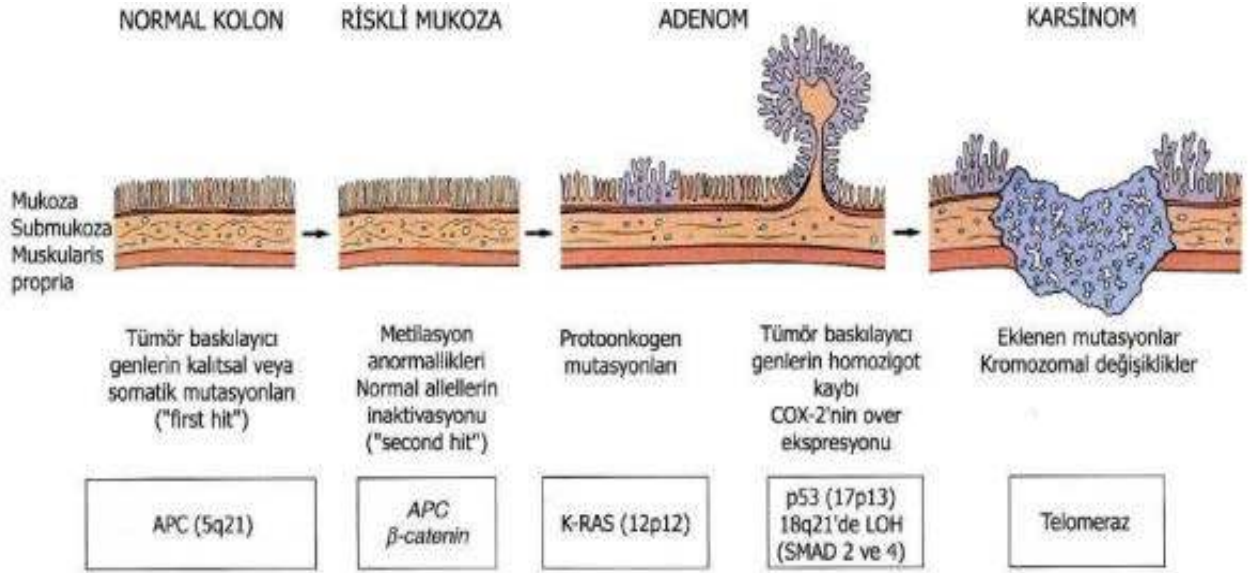
Kolon kanserine neden olan diğer faktörler arasında kistik fibrozis, üreterosigmoidostomi, akromegali sayılabilir[2].

2.4.1.3. Patogenez

Kolonik adenokarsinoma yol açan moleküler olaylar heterojendir; genetik ve epigenetik anormallikleri içerir. Klasik adenom-karsinom sekansında aktive olan APC/ β -katenin yolu ile DNA uyumsuzluğu onarımı ve mikrosatellit tekrar bölgelerindeki mutasyonların birikimiyle ilişkili olan MSI yolu olmak üzere en az iki genetik yol tanımlanmıştır[1].

Adenom-karsinom sekansı: Sporadik kanserlerin %80'inden sorumludur. En sık genomik instabilite nedeni kromozomal instabilite olup kromozom kayıpları ya da kazanımları ile seyreder. Mutasyonlar en sık APC, KRAS, PİK3A ve TP53 genlerinde olur[16]. Bu neoplastik süreçte en erken ortaya çıkan APC mutasyonudur. APC 5q21 de kalıtılan tümör supressör gendir. Adenomların gelişmesi için mutasyonla ya da epigenetik olaylarla APC geni inaktive olur. APC geni, Wnt sinyal yolunun bir bileşeni olan β -katenin'e bağlanır ve yıkımını destekler. APC geninin inaktivasyonu sonucu hücrede β -katenin birikir. TCF ve çoğalmayı destekleyen genlerin (myc ve siklin D1 dahil) transkripsiyonunu aktive eder. Böylece anormal sinyalleşme başlar. KRAS bir onkoproteindir. KRAS mutasyonları, çapı 1 cm'den az olan adenomların %10'undan azında, çapı 1 cm'den büyük olan adenomların ve invaziv adenokarsinomların ise %50'sinde bulunur. Karsinogenez ayrıca hücre döngüsünü inhibe eden TGF- β (transforme edici büyüme faktörü beta reseptör) sinyal yolağının efektörleri olan SMAD2 ve SMAD4 gibi tümör supressör genlerdeki mutasyonlarla da ilişkilidir. Bu genlerin kaybı, sınırsız hücre büyümesine izin verebilir. TP53 tümör supressör gendir, kolon kanserlerinin %70 ila %80'inde mutasyona uğrar, ancak adenomlarda TP53 mutasyonu nadirdir. Bu durum TP53 mutasyonunun tümörün ileri aşamalarında

meydana geldiğini gösterir. TP53 ve diğer tümör baskılayıcı genlerin işlev kaybı, genellikle kromozomal delesyonlardan kaynaklanır ve bu, APC/β-katenin yolunun kromozomal instabilite ayağını gösterir[1].

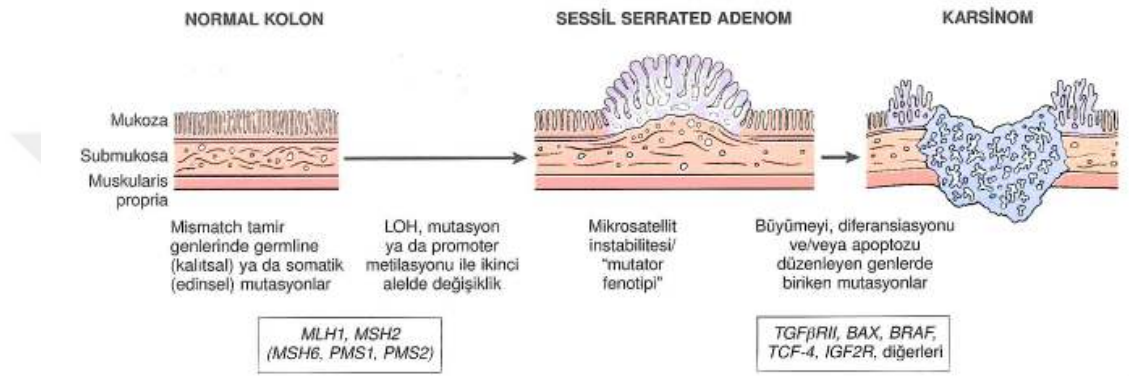


Şekil 3: Adenom- karsinom sekansındaki moleküler değişiklikler

Mikrosatellit instabilite: Mikrosatellitler, insan genomu boyunca dağılmış hem kodlanan hem de kodlanmayan bölgelerdeki baz çiftlerinin kısa tekrarlı DNA dizileridir. Tekrarlanan yapıları nedeniyle replikasyon hatalarına özellikle eğilimlidirler ve yanlış eşleşme tamiri (MMR) sistemi tarafından onarılırlar. MMR, DNA replikasyonu, genetik rekombinasyon veya kimyasal/fiziksel hasar sırasında ortaya çıkan uyumsuz bazların tanımlanması ve ardından onarılması ile sonuçlanan birçok proteini içeren bir süreçtir. MMR sisteminde MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6, MLH-3, MSH-3, PMS-1 gibi proteinler yer alır. Bu proteinler, MLH-1/PMS-2 ve MSH-2/MSH-6 gibi DNA hasarını onaran heterodimerler oluşturur. Bu proteinlerden birinin eksikliği, eksik MMR (dMMR), mikrosatellit instabilite (MSİ) ile sonuçlanır. [5]. Yani MSİ'nin zeminindeki mekanizma DNA yanlış eşleşme tamir genlerindeki defektten kaynaklanır[16].

Mikrosatellitler tipik olarak kodlamaya katılmayan bölgelerde lokalize olsa da bazı mikrosatellit dizileri, transforme edici büyüme faktörü beta reseptör-2 olan Tip 2 TGF-β reseptörü ya da proapoptotik protein Bax proteini gibi hücre büyümesinin

regülasyonunda görevli proteinleri kodlayan genlerde lokalize olabilir. TGF- β kolon epitel hücre proliferasyonunu inhibe etmektedir ve dolayısıyla mutasyonu kontrolsüz hücre artışına neden olur. Bax kaybı ise anormal klonların hayatta kalmasına neden olur. BRAF onkogenindeki mutasyonlara ve CpG adalarındaki hipermetilasyona, DNA mismatch tamir kusuru yoluyla gelişen kanserlerde sık rastlanırken, KRAS ve TP53 mutasyonları nadirdir. Sonuçta, MSI, BRAF mutasyonu ve MLH-1 hipermetilasyon kombinasyonunun karsinogenez yolağında yer alabilir[1].



Şekil 4:Kolon karsinogenezinde mismatch tamir yolağındaki morfolojik ve moleküler değişiklikler

Şu anda, MSI'yi tespit etmek için kullanılan İHK ve PCR olmak üzere iki yöntem vardır. PCR ile amplifiye edilmiş mikrosatellit lokusları tespit edilir ve yaygın olarak kullanılan nükleotitler BAT25, BAT26, D5S346, D2S123 ve D17S250'dir. Belirteçlerden en az ikisinde kayma var ise yüksek düzeyde mikrosatellit instabilite (MSI-H), yalnızca bir dinükleotit belirtecinde kayma var ise düşük düzeyde mikrosatellit instabilite (MSI-L) olarak kabul edilmektedir. Uluslararası kriterlere göre, belirteçlerin en az yüzde 30'u ve fazlasında kararsızlık var ise MSI-H olarak sınıflandırılır. Belirteçlerde herhangi bir kayma yok ise mikrosatellit stabil (MSS) tümörler olarak sınıflandırılır. Başka bir yöntem, MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 dahil olmak üzere DNA yanlış eşleşme onarım genleri (MMR) ile ilgili kodlanmış proteinlerin İHK'sal yöntem ile tespitidir. Eksik MMR(Deficient MMR-dMMR), MSI-H veya MLH1, MSH2, MSH6 veya PMS2 protein ekspresyonunun kaybı şeklinde tanımlanmıştır. Yeterli MMR (Proficient MMR-pMMR), MSS/MSI-L'nin varlığı (yani, taranan lokusların <30'unda kararsızlık) şeklinde tanımlanmıştır.

MSI-L'nin, MSS sergileyen tümörlere biyolojik olarak benzer olduğu gösterilmiş ve bu iki moleküler fenotipin birlikte gruplandırılabilceğı belirtilmiştir[21].

MSİ/eksik DNA uyumsuzluğu onarımı (MSI/dMMR) olumlu bir prognostik faktör olarak kabul edilmektedir[7].

CpG adacık metilasyon fenotipi: DNA metilasyonunun yer aldığı epigenetik instabilite de kolon karsinomlarında altta yatan mekanizmalardan biridir. Bu tümörlerde, genlerin promotor bölgelerinde yer alan CpG dinükleotit bölgeleri metilasyona uğrar, yani MLH-1 promotör bölgesi tipik olarak hipermetillenir. Bu durum tümör supressör genlerde inaktivasyona yol açar[16]. Böylece MLH-1 ekspresyonu ve onarım fonksiyonu azalır. BRAF onkogen aktive edici mutasyonlar bu kanserlerde yaygındır. Fakat KRAS ve TP53'de mutasyon beklenmez[1].

Morfoloji, kansere yol açan altta yatan moleküler olayları net bir şekilde gösteremez fakat bazı korelasyonlar MSİ ile ilişkilendirilmiştir. Örneğin belirgin müsinöz farklılaşma ve peritümöral lenfositik infiltratlar MSİ'li invaziv karsinomlarda sıklıkla izlenir. Bu tümörler ve ayrıca CpG adası hipermetilasyona sahip olanlar genellikle sağ kolon yerleşimlidir. MSİ'yi tespit etmek önemlidir çünkü genetik danışma, kolon veya diğer organlarda ikinci bir malignite riskinin artması ve bazı durumlarda prognoz ve tedavideki farklılıklar nedeniyle HNPCC'li hastaların tespit edilmesi gerekir[1].

2.4.1.4.Klinik özellikler

Kolon karsinomları kronik kan kaybından kaynaklanan anemi ve karın ağrısı, bağırsak alışkanlıklarındaki değişiklikler (kabızlık ve ishal gibi) ve rektal kanama ile ortaya çıkabilir. Bu bulgular tümörün yerleşim yerine göre değişiklik gösterebilir. Sol kolon yerleşimli tümörlerde intestinal obstrüksiyon, bağırsak alışkanlıklarında değişiklikler ve sol alt kadran ağrısı daha sık görülürken, sağ kolon yerleşimli tümörlerde demir eksikliği anemisine bağlı halsizlik ve yorgunluk daha sık görülmektedir. Perforasyon, rektosigmoid yerleşimli tümörlerde distansiyonun bir sonucu olarak, tümör bölgesinde veya çekumda nadiren meydana gelebilir[1, 12]. Diğer nonspesifik semptomlar anemiye bağlı yorgunluk, soluk görünüm ve nefes darlığı ve kilo kaybıdır[14].

Bahsedilen bu semptomlar genellikle hastalığın ileri evre bulgularıdır bu nedenle, tümörleri daha erken bir aşamada tespit etmek için birçok girişimde bulunulmuştur. En etkili yöntem 40 yaşın üzerindeki hem erkek hem de kadınların endoskopik muayenelerinin yapılmasıdır. Ayrıca asemptomatik karsinom vakalarını tespit etmenin en etkili ve en ucuz yolu gaytada gizli kan testidir[12].

2.4.1.5.Görüntüleme

Kolorektal kanser için popülasyon taramasının yaygınlaşmasıyla, birçok kişiye klinik öncesi bir aşamada teşhis konabilir. Kolonoskopi, kolon kanserlerinin teşhisinde altın standarttır. Yüksek oranda tanısal doğruluğa sahiptir ve tümörün lokalizasyonunu tespit eder. Eş zamanlı biyopsi örneklemesi yapılabilir, erken lezyonlar terapötik olarak çıkarılabilir. Yani hem tanısal hem de tedavi edici etki sağlayan tek tarama tekniğidir[14]. BT kolonografi kolon kanserlerinin non-invaziv tespiti için kullanılabilir, fakat kesin tanı için biyopsi veya rezeksiyon gerekir. Klinik görüntüleme esas olarak kanser evrelemesi için kullanılır. Kapsamlı cerrahi uygulanmadan önce uzak metastazları belirlemek için BT veya PET-BT kullanılır[2].

2.4.1.6.Lokalizasyon

Tüm kolon karsinomların yaklaşık %50'si rektosigmoid bölge yerleşimlidir; son birkaç dekatta yerleşim yeri proksimal kolonda daha sık tespit edilmeye başlanmıştır. Sağ kolon yerleşimli tümörler genellikle ileri yaş ile ilişkilidir. Multisentrik karsinomlar %3–6 oranında bulunur[12].

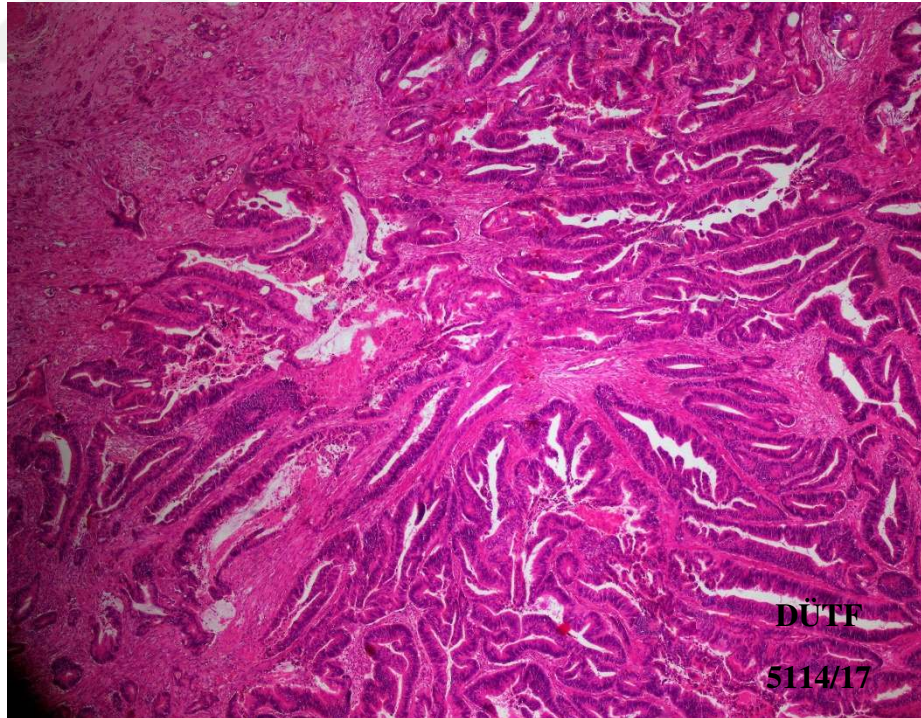
2.4.1.7. Makroskopik bulgular

Kolon adenokarsinomları makroskopik olarak genellikle polipoid, ülseratif/infiltratif, anüler, flat/deprese görünümlere sahiptir. Nadiren de olsa midedekine benzer şekilde geniş yüzeyel yayılım (Diffüz infiltratif/linitis plastica) izlenebilir. Polipoid görünüm bağırsak duvarından keskin bir şekilde ayırt edilebilen, iyi sınırlı geniş hacimli kitle şeklindedir. Proksimal kolon yerleşimli tümörler makroskopik olarak genellikle ekzofitik, distal kolon yerleşimli tümörler ise genellikle endofitik ve anüler görünüme sahiptir [2, 12]. Makroskopik değerlendirmede, tümörün duvarla sınırlı mı yoksa perikolik dokulara genişlemiş mi olduğu, büyük damarlarda invazyon olup olmadığı ve kolonun geri kalanının başka bir karsinom odağı ya da polip içerip içermediği de kontrol edilmelidir[12].

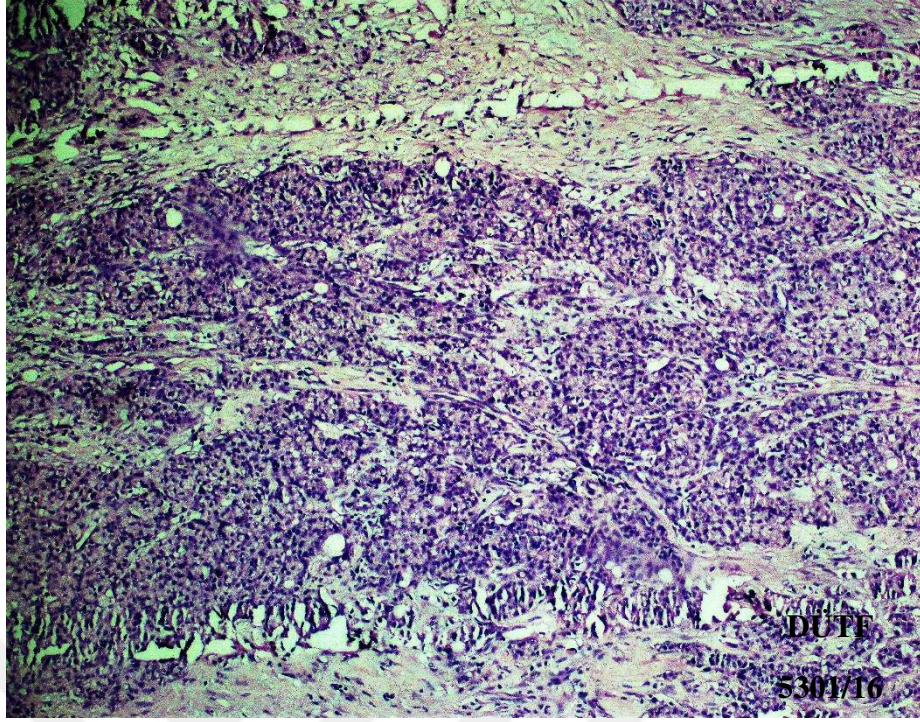
2.4.1.8. Mikroskopik Bulgular

Kolon malign tümörlerinin %90'ı genellikle değişken miktarlarda müsin salgılayan, iyi-orta derecede farklılaşmış glandlara sahip adenokarsinomlardır. Tümör hücreleri çoğunlukla kolumnar ve goblet hücrelerinin kombinasyonundan oluşur. Bunlara nadiren nöroendokrin hücreler ve Paneth hücreleri de eşlik eder[12]. Gastrointestinal traktın diğer bölümlerinden farklı olarak burada invazyon kriteri submukoza tutulumudur[2, 16, 19]. Tümör sadece muskularis mukoza ve lamina propriayı invaze etmiş ise in situ karsinom olarak adlandırılır[16, 19]. Çevre stromada belirgin desmoplastik ve inflamatuvar reaksiyon izlenir. İnflamatuvar hücrelerin çoğu T lenfositlerden oluşur, bunun yanı sıra B lenfositler, plazma hücreleri, histiyositler ve S-100 protein pozitif dendritik hücreler de izlenebilir. Nadiren eozinofiller de bulunur. Tümör, bağırsak duvarının tüm katmanlarını tutabilir. Ardından perikolik yağ dokuya invaze olur, perinöral ve vasküler tutulum görülebilir[12].

Tümör kenarında rezidüel adenomlar izlenebilir, fakat daha yaygın olarak reaktif hiperplastik değişiklikler izlenir. Transizyonel mukoza olarak tanımlanan bu alanda glandlar daha uzun, tortioze ve daha fazla goblet hücrelerine sahiptir[12].



Şekil 5: İyi diferansiye adenokarsinom, Desmoplastik stromada tübüller, anastomoz yapan ve dallanan glandüler yapılar (H&E; X100)



Şekil 6: Az diferansiye adenokarsinom, tümörün %50'sinden az oranda gland formasyonu içermekte (H&E; X100)

2.4.1.9.Histokimyasal ve İmmünohistokimyal Bulgular

Kolon adenokarsinomlarının çoğunluğu histokimyasal olarak müsin pozitifdir[12, 16].

İmmünohistokimyasal olarak, konvansiyonel kolon adenokarsinomlarında MUC1 ve MUC3 pozitif izlenir. Müsinöz adenokarsinomda MUC2 pozitifliği, özellikle kötü diferansiye tümörlerde MUC13 pozitifliği gözlenir. Son zamanlarda, kolon kanserinin serrated yolağı ile ilişkili tümörlerinde MUC2, MUC5AC ve MUC6'nın artan ekspresyonu dikkati çekmektedir[12].

Kolon adenokarsinomları her zaman için sitokeratin pozitifdir, en yaygın CK20 pozitif ve CK7'nin negatif olduğu boyanma paterni izlenir ve akciğer ya da over gibi diğer adenokarsinomlardan ayırt etmede yardımcı olur. Bunun tam tersi boyanma immünoreaktivite paternleri (CK7 pozitifliği gibi) izlenebilir[12, 16].

Kolon adenokarsinomlarında CEA pozitivitesi kural niteliğindedir[12].

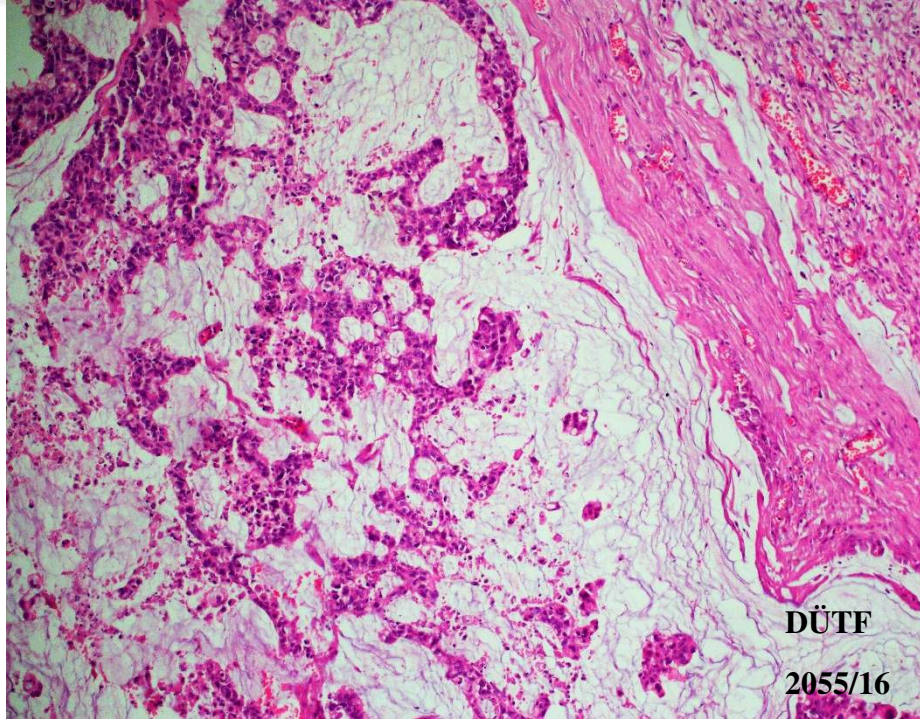
CDX2, bağırsak epitel hücrelerinin çoğalmasında ve farklılaşmasında rol oynar ve kolon adenokarsinomlarının büyük çoğunluğunda pozitifdir[12]. Bununla birlikte over, mesane ve akciğerin primer müsin üreten karsinomları ile pankreatikobiliyer

adenokarsinomlarda da eksprese edilebilir. Bu yüzden ayırıcı tanıda dikkatli olunmalıdır[12, 16].

2.4.2. Kolon adenokarsinomunun diğer histopatolojik varyantları

Müsinöz Adenokarsinom

Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre müsinöz adenokarsinom, tümörün %50'den fazlasını hücre dışı müsin gölcüklerinin oluşturduğu kolon adenokarsinomlarının özel bir türüdür [2, 4, 12, 16, 18]. Müsinöz adenokarsinom kümeler, tabakalar veya taşlı yüzük hücreleri de dahil tek tek tümör hücrelerinin infiltrasyonu şeklinde izlenebilir. Bu en yaygın alt tiptir ve prevelansı %5 ila %20 arasında değişmektedir. Tümörde müsinöz alanlar %50'den az ise müsinöz komponentin eşlik ettiği adenokarsinomdan söz edilir[2]. MUC2 pozitif boyanırlar. Müsinöz karsinomlarda moleküler düzeyde MSI oranı yüksektir ve kolonun başka bir yerinde gelişen adenomlarla konvansiyonel adenokarsinoma göre daha sık ilişkilidir. Nonmüsinöz adenokarsinoma kıyasla daha ileri evrede tanı alırlar, lenf nodu tutulumu daha yüksektir, daha yaygın perirektal yayılım yaparlar. Yani genel olarak daha kötü prognoza sahiptir[18].



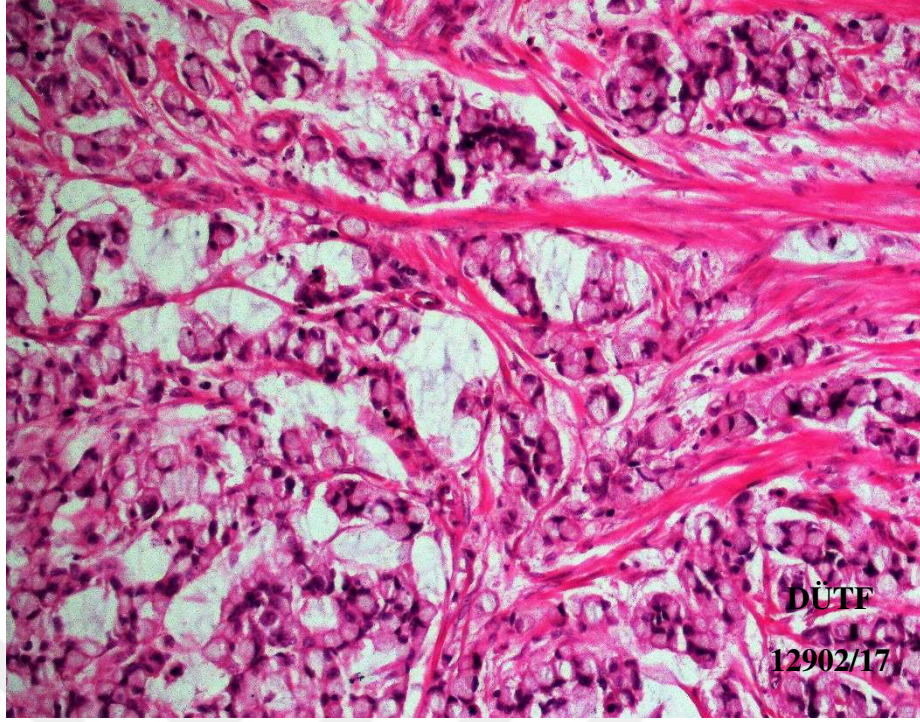
Şekil 7: Müsinöz adenokarsinom, Submukozada müsin havuzları ile çevrili kümeler ve küçük glandüler yapılar halinde tümör hücreleri (H&E; X100)

Taşlı yüzük hücreli karsinom

Taşlı yüzük hücreli karsinom genellikle gençlerde görülen kolon adenokarsinomlarının çok nadir bir formudur (Tüm kolon kanserlerinin %1'i kadar). Müsinöz karsinoma benzer şekilde MSI oranı yüksektir. Mikroskopik olarak, tümör çok az glandüler oluşumla birlikte %50'den fazla taşlı yüzük hücrelerinden oluşur. Burada izlenen müsin, müsinöz karsinomda görülenin aksine hücre içi yerleşimlidir. Bu hücre içi müsin birikimi, çekirdeğin yer değiştirmesine neden olur ve hücreler tipik görünümü olan taşlı yüzük morfolojisini kazanır. Yayılım genellikle peritoneal yol ile gerçekleşir ve prognozu çok kötüdür. Metastaz genellikle lenf nodları, peritoneal yüzeyler ve overlerde izlenir. Kolonda primer taşlı yüzük hücreli karsinomu tanısı konmadan önce mide veya meme metastazı olma olasılığı daima araştırılmalıdır. İmmünohistokimyasal olarak, CK7-/CK20+ profili kolorektal primeri düşündürürken, CK7+/CK20- ise metastaza işaret eder. Ayrıca kolonun taşlı yüzük hücreli karsinomunda MUC2, MUC5AC ve CDX2 pozitifliği de izlenebilir[12].

Taşlı yüzük hücreli karsinomu psödomembranöz kolit ve diğer inflamatuvar durumlardan ayırt etmek önemlidir[12].

Bazı müsinöz adenokarsinomlarda ya da müsinöz komponenti olan adenokarsinomlarda hücre dışı ve hücre içi müsin oluşumu birarada izlenebilir. Taşlı raporunda taşlı yüzük hücrelerinin varlığını ve yüzdesini belirtmek yararlı olacaktır[12, 16].



Şekil 8: Taşlı yüzük hücreli karsinom, muskularis propriaya infiltre münin gölcükleri içinde taşlı yüzük hücreleri (H&E; X200)

Medüller karsinom

Medüller adenokarsinom genellikle kadınlarda görülür, çekum veya sağ kolonda yerleşimlidir. Tümör, poligonal hücrelerin oluşturduğu tabakalar, trabeküller veya organoid paternde izlenir. Mikroskopik olarak tümör hücreleri veziküler nükleus, belirgin nükleoller, bol sitoplazma ve çok sayıda tümörü infiltre eden lenfositlere sahiptir. Medüller adenokarsinomların çoğu MSI ile karakterizedir[12].

Glandüler diferansiasyon göstermemesi nedeniyle az diferansiye adenokarsinomlardan ayırım güç olabilir. İmmünohistokimyasal olarak, MUC1, MUC2 ve TF3 pozitif izlenirken, MLH1 ile CDX2 ekspresyonu genellikle izlenmez[12, 16].

Mikropapiller adenokarsinom

Kolon adenokarsinomlarının yaklaşık %20'sinde meme, mesane ve akciğer gibi organlarda görülene benzer şekilde mikropapiller patern izlenebilir. Bu paternde, vasküler, lenfatik ve perinöral invazyon ile lenf nodu metastazları daha sık görülmektedir ve dolayısıyla kötü prognozludur[12, 16].

Serrated adenokarsinom

Serrated adenokarsinom bazı moleküler bulgulara göre morfolojik olarak farklı bir kolorektal adenokarsinom türü olarak önerilmiştir. Serrated adenomun neoplastik yolağı ve prekürsör serrated lezyonlardan (SSP) geliştiği düşünülmektedir. Mikroskopik olarak testere dişi şeklinde, müsinöz veya trabeküler büyüme paterni gösteren, bol eozinofilik sitoplazma, kondanse kromatin, korunmuş polariteye sahip hücrelerden oluşan ve nekroz içermeyen bir tümördür. Tüm kolorektal kanserler içinde yaklaşık %7,5 oranında, proksimal yerleşimli tümörler içinde %10-15 oranında izlenir[12, 16].

Serrated adenokarsinomların iki farklı alt tipi vardır; daha sık görülen tip proksimal kolon yerleşimlidir, SSP'lerden köken alır ve MSI yüksektir. Daha az yaygın olan tip, distal kolon yerleşimlidir, geleneksel serrated adenom (TSA)lardan köken alır ve MSI düşük veya stabildir[12].

Adenom benzeri adenokarsinom

Daha önce villöz adenokarsinom ve invaziv papiller adenokarsinom olarak tanımlanırdı. Invaziv karsinom alanlarında %50 veya daha fazla oranda adenom benzeri villöz yapılar içeren düşük dereceli bir tümördür. Desmoplastik reaksiyon çok az oranda izlenir. Tümör ekspansive tarzda büyür. İnsidansı %3-%9 arasında değişmektedir[2].

Adenoskuamöz karsinom

Hem adenokarsinom hem de skuamöz hücreli karsinom özelliklerini taşıyan bu alt tip tüm kolon karsinomları arasında çok ender görülmektedir[2].

Sarkomatoid komponent içeren karsinomlar

Sarkomatoid bileşenli karsinomlar kolon karsinomları içinde küçük bir grubu oluşturur. Tümör iğsi verabdoid özellikler barındıran hücrelerden oluşur. Geniş, eozinofilik sitoplazmalı tümör hücreleri diskoheziv yapıda olup miksoid matriks içine gömülüdür ve intrasitoplazmik rabdoid cisimcikler içerir[2]. Daha çok yaşlı hastalarda görülür[12].

Indiferansiye karsinom

Indiferansiye karsinom morfolojik, immünohistokimyasal ve moleküler özelliklerini kaybetmiş, nadir görülen epitelyal tümörlerdir[2]. Medüller karsinomlardan lenfoplazmasitik hücre infiltrasyonu olmaması, sinsityal büyüme paterni göstermemesiyle ayrılır[2, 18].

DSÖ sınıflamasında yer almayan ancak kolonda görülebilen diğer nadir alt tipler

Lenfoepitelyoma benzeri karsinom kolonda nadir görülen alt tiplerden biridir. EBV ilişkilidir. Tümör sinsityal büyüme paterni gösterir. Nükleuslar veziküler olup, belirgin eozinofilik nükleollere sahiptir. Ayrıca yoğun intratümöral lenfosit infiltrasyonu hemen daima mevcuttur. Özellikle bu özelliğinden dolayı ayırıcı tanıda öncelikle medüller karsinom yer alır. Medüller karsinomdaki lenfoid infiltrasyon daha çok peritümöral yerleşim gösterir[16].

Berrak hücreli karsinom da nadir görülen alt tiplerdendir. Sitoplazmik glikojen birikiminden dolayı tümör hücreleri berrak görünümündedir. Genellikle çıkan kolon yerleşimli olup daha çok erkeklerde görülür. İmmünohistokimyasal olarak CK20, CDX2 ve zayıf MUC2 ekspresyonuna sahiptir. CK7 negatif izlenir. Böbrek hücreli karsinom metastazından ayırmak için PAX8 kullanımı yardımcı olur[12, 16].

Hepatoid adenokarsinom trabeküler veya solid gelişim paterni gösteren, geniş eozinofilik ya da berrak poligonal hücrelere sahip, morfolojik olarak hepatosellüler karsinoma benzeyen bir tümördür. Kolonda çok nadir olmakla beraber bildirilen olgular vardır[12, 16].

Bazaloid (kloakojenik) karsinom anal kanaldaki ile benzer nitelikte olup çok az sayıda olgu bildirilmiştir[16].

Camsı (glassy) hücreli karsinom serviksteki homologuna benzer niteliktedir ve kolonda nadiren tanımlanmıştır[12, 16].

Nöroendokrin diferansiasyon[12];

Nöroendokrin farklılaşma çeşitli şekillerde kendini gösterebilir;

1. Adenokarsinomun diğer alt tiplerinde (özellikle müsinöz tip) dağınık nöroendokrin hücreler olarak izlenebilir. Tüm adenokarsinomların %15-50'sinde meydana gelir. Bu durum genellikle kemoterapi ve radyoterapiden sonra görülür.
2. Tipik adenokarsinom ve nöroendokrin diferansiasyon sergileyen başka bir tümörün kombinasyonu şeklinde izlenebilir. Her bileşenin tümörün en az %30'unu oluşturması gereklidir.
3. Büyük hücreli nöroendokrin karsinom şeklinde izlenebilir.

4. Küçük hücreli nöroendokrin karsinom şeklinde izlenebilir. Genellikle sağ kolonda ortaya çıkar. Kötü prognozludur.
5. Tipik karsinoid tümörler şeklinde izlenebilir.

2.4.3. Evreleme ve Histolojik Grade

Adenokarsinom tümör hücrelerinin asiner/glandüler yapılar oluşturma derecesine göre 3 diferansiasyon derecesine ayrılır. Kolon adenokarsinomlarının %15-20'sini derece I (iyi diferansiye tümörler), %60-70'ini derece II (orta diferansiye tümörler), yaklaşık olarak %15-20'sini de derece III (az diferansiye tümörler) tümörler oluşturur. Derece I adenokarsinomlar baskın olarak nükleer polaritenin korunduğu, nükleusların uniform boyutta olduğu basit glandüler yapılardan oluşur. Derece II tümörlerde nükleer polarite zor seçilir ya da tamamen kaybolmuştur. Glandüler yapılar biraz daha kompleks ya da hafif düzensiz formdadır. Derece III tümörlerde nükleer polarite kaybı ve glandüler yapıların diferansiasyon kaybı çok belirgindir. Derece I ve derece II tümörler düşük dereceli, derece III tümörler yüksek dereceli olarak kabul edilir. Derece III tümörler, derece I ve II'ye göre daha kötü prognozludur. Kolon adenokarsinomlarında derece III diyebilmek için az diferansiye komponentin tümörün %50'sinden fazlasını oluşturmaları gereklidir[18].

1937'de Dukes, kolorektal karsinomlarda uygulanabilen ünlü evreleme sistemini önermiştir. Dukes sisteminde prognozla doğrudan ilişkisi nedeniyle hala yaygın olarak kullanılmaktadır[12]. 1954 yılında ise Astler-Coller sınıflaması kullanılmıştır. Fakat şu an en yaygın Uluslararası Kanseri Savaş Örgütü (UICC) ve Amerikan Ortak Kanseri Komitesi (AJCC) tarafından önerilen TNM evreleme sistemi kullanılmaktadır. Bu sistem hem klinik hem de patolojik evrelemeye yardımcıdır[18].

Kolon karsinomlarında patolojik TNM Evrelemesi[2].

pT-primer tümör

pTx: Değerlendirilemeyen tümör

pT0: Primer tümöre ait bulgu yok

pTis: İn situ karsinom

pT1: Tümör submukozaya invaze

pT2: Tümör muskularis propriaya invaze

pT3: Tümör subseroza ya da periton ile kaplı olmayan perikolik/perirektal dokulara invaze

pT4: Tümör komşu organ ya da yapılara invaze ve/veya visseral peritonu perfore etmekte

pT4a: Tümör visseral peritonu invazeemiş

pT4b: Tümör komşu organ ya da yapılara invaze

pN-Bölgesel lenf nodları

pNx: Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor

pN0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok

pN1: 1-3 lenf nodu metastazı mevcut

pN1a: 1 bölgesel lenf nodu metastazı

pN1b: 2-3 bölgesel lenf nodu metastazı

pN1c: Bölgesel lenf nodu metastazı olmaksızın periton ile kaplı olmayan perikolik/perirektal yumuşak dokuda veya subserozada tümör satellitleri

pN2: 4 veya daha fazla bölgesel lenf nodu metastazı

pN2a: 4-6 bölgesel lenf nodu metastazı

pN2b: 7 veya daha fazla bölgesel lenf nodu metastazı

M-Uzak metastaz

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz

M1a: Periton metastazı olmaksızın 1 organa sınırlı metastaz(karaciğer, akciğer, over, bölgesel olmayan lenf nodu/nodları)

M1b: Birden fazla organa metastaz

M1c: Diğer organ tutulumu olsun veya olmasın periton metastazı

Tablo 2: Kolorektal tümörlerde TNM evrelemesi

Evre	Tümör	Lenf nodu	Metastaz
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre 1	T1, T2	N0	M0
Evre 2	T3, T4	N0	M0

Evre 2a	T3	N0	M0
Evre 2b	T4a	N0	M0
Evre 2c	T4b	N0	M0
Evre 3	T(Herhangi)	N1, N2	M0
Evre 3a	T1, T2 T1	N1 N2a	M0 M0
Evre 3b	T1, T2 T2, T3 T3, T4a	N2b N2a N1	M0 M0 M0
Evre 3c	T3, T4a T4a T4b	N2b N2a N1, N2	M0 M0 M0
Evre 4	T(Herhangi)	N(Herhangi)	M1
Evre 4a	T(Herhangi)	N(Herhangi)	M1a
Evre 4b	T(Herhangi)	N(Herhangi)	M1b
Evre 4c	T(Herhangi)	N(Herhangi)	M1c

2.4.4. Yayılım ve metastaz

Kolonun portal drenajına bağlı olarak, karaciğer uzak metastatik lezyonların en yaygın görüldüğü yerdir[1]. Bölgesel lenf nodlarına da metastaz sık görülür. Nispeten daha az metastatik bölgeler arasında periton, akciğer ve overler yer alır. Merkezi sinir sistemi, kemik, testis, uterus ve oral kavite metastazın nadir görüldüğü bölgeler arasındadır[12].

2.4.5. Tedavi

Cerrahi rezeksiyon kolon kanserlerinin tedavisinde başvuru standart yöntemidir. Cerrahinin tekniği ve tipi, tümörün yerleşim yerine göre değişir[12]. Cerrahi prosedür, çevresel cerrahi sınır rezeksiyonlarına özen gösterilerek lenf nodları ile birlikte tümörlü kolon segmentinin çıkarılmasıdır[14]. Kolorektal kanserlerde disseke edilmesi gereken lenf nodu sayısı minimum 12'dir[22]. Radyoterapi,

radıofrekans ablasyon/kriyoablasyon, kemoterapi, hedefe yönelik ilaç tedavileri ve immünoterapi de diğer tedavi yöntemlerindendir[3]. MSI tümörler, klasik kemoterapötik ilaçlardan biri olan 5-Fulorourasil'e direnç göstermesi ve immünoterapik ilaçlardan anti PD-1 ve PD-L1 inhibitörlerine yanıt vermesi nedeniyle önemlidir[3, 5].

2.4.6. Prognostik faktörler

Sağkalım oranları ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki 5 yıllık sağkalım oranı %65'tir. Tümörün evresine bağlı olarak bu oran %40 ile %90 arasında değişmektedir[1]. Patolojik tümör evresi kolon karsinomlarında en önemli prognostik faktördür[12, 16].

Diğer faktörler ise;

Bölgesel lenf nodu tutulumu (N) da önemli prognostik parametrelerden biridir. Neoadjuvan tedavi almamış spesmenlerde en az 10 (ve ideal olarak 12) lenf nodu incelenmelidir. Bazı çalışmalarda, metastatik lenf nodlarının toplam lenf nodu sayısına oranının önemli bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir. Ayrıca common iliak ve eksternal iliak lenf nodları tutulumu uzak metastaz olarak kabul edilir[12].

İzole tümör hücreleri, bir lenf nodundaki 0.2 mm ya da daha küçük boyutta tek tek veya küçük tümör kümeleri olarak izlenir ve N0 olarak tanımlanır.. Mikrometastazlar ise lenf nodlarında 0,2 mm'den büyük ancak ≤ 2 mm'lik tümör birikimleridir[12]. Mikrometastazların olumsuz prognostik etkisini gösteren veriler var olmasına rağmen, bu iki kategorinin prognostik önemi tam olarak açıklığa kavuşmuş değildir[12, 16].

Perikolonik tümör depozitlerini (PTD) saptamak önemlidir, çünkü kötü prognozla ilişkilidir[12, 16].

Histopatolojik olarak tümör subtipi de önemli prognostik faktörlerdendir. Müsinöz, taşlı yüzük ve andiferansiye karsinomlar klasik adenokarsinomlara göre klinik olarak daha agresif seyreder. Yüksek dereceli tümörler (%50'den az gland oluşumu) (az diferansiye) düşük dereceli tümörlerden ($\geq$ %50 gland oluşumuna sahip) (iyi ve orta diferansiye) daha agresiftir[12, 16].

Vasküler invazyon, özellikle ektramural venöz invazyon, olumsuz prognostik faktörlerdendir. Bu bulgunun tüm kolektomi örneklerinin yaklaşık %25'inde mevcut olduğu tahmin edilmektedir[12].

Lenfatik invazyon ve sonuç arasındaki ilişki henüz tam netliğe ulaşmamıştır[12].

Tümörün gelişim paterni de prognoz açısından önem arz eder. Ekspansive gelişim paterni gösteren tümörler, infiltratif olanlardan daha az agresif bir klinik seyir gösterir[12, 16]. Ekspansive gelişim paterni gösteren tümörler MSI-H fenotip ile ilişkilendirilmiştir[12].

Tümör tomurcuklanması, tümörün ilerleme sınırında görülür. Tümörden ayrılan ve desmoplastik stromaya infiltre olan beş veya daha az tümör hücresi olarak tanımlanır. Negatif prognostik faktördür[12]. Yani yüksek derecede tomurcuklanma içeren tümörler genellikle derece I ya da derece II'dir. Tümöral tomurcuklanma genellikle MSS, MSI-L kanserlerde ve Lynch sendromunda sık görülür. Sporadik MSI-H kanserlerde saptanmamıştır. Tümöral tomurcuklanmanın TNM evresinden bağımsız prognostik faktör olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir[18]. Ayrıca malign kolorektal polipli hastaya yaklaşımda kullanılabilecek potansiyel prognostik belirteç olarak görünmektedir[12, 18].

Cerrahi eksizyonun yeterliliği de önemli prognostik faktörler arasında yer alır. Kolorektal kanserlerde proksimal ve distal rezeksiyon sınırları yanısıra radyal (çevresel) sınır da örneklenmelidir. Radyal cerrahi sınır pozitifliğinin nüks ve genel sağkalım ile ilişkisi yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir[12].

Hasta yaşı da diğer prognostik faktörlerdendir. Çok genç ve çok yaşlı hastalarda daha kötü prognoz beklenirken, kolorektal karsinomların cinsiyet olarak kadınlarda daha iyi seyirli olduğu gösterilmiştir[12, 16].

5.0 ng/mL'den yüksek serum CEA seviyesi negatif prognostik faktör olarak kabul edilir[12, 16].

Bağırsak duvarı perforasyonu da negatif prognostik faktörlerdendir[12, 16].

Tümöre eşlik eden lenfoplazmatik infiltrasyon, Crohn benzeri bir lenfoid reaksiyon iyi prognoz göstergesidir[12, 16].

Tümörde perinöral invazyon varlığı ve belirgin tümör anjiyogenezi negatif prognostik faktörler arasında yer alır[12, 16].

Müsin ilişkili antijenlerin ekspresyonu olumsuz prognostik faktörler arasında yer alırken, MUC-1 bağımsız prognostik faktördür[16].

KRAS mutasyonları rekürren vakalarda daha sık görülmüştür[16].

MSİ olumlu prognostik belirteçtir[16].

Tümörde Klaudin-1 kaybı, Fascin ekspresyonu, pRb ve p16INK4 ekspresyonları, timidilat sentetaz mRNA veya proteini aşırı ekspresyonu, p27 kaybı, p53 ekspresyonu, kromozom 18q/DCC gen kaybı olumsuz prognostik faktörler arasında yer alırken, BCL-2 protein ekspresyonu, HLA DR ekspresyonu, TGF-β1 mutasyonları olumlu prognostik faktörler arasında yer alır. Anöploidi ile özellikle rektal tümörlerde olmak üzere rekürrens ve sağkalım arasında ilişki gösterilmiştir[16]. Bu bahsedilen belirteçlerin çoğu rutin klinik uygulamanın parçası olma noktasına ulaşamamıştır[12].

2.4.6.1.Crohn benzeri lenfoid reaksiyon

Crohn benzeri lenfoid reaksiyon (CBLR), tümör invazyon sınırında tümör alanları çevresindeki germinal merkezleri olan veya olmayan nodüler lenfoid agregatların görülmesidir. Genellikle muskularis propria ve perikolik yağ dokusunda izlenir. CBLR, tümörlere karşı konak immün yanıtın göstergesi olarak kabul edilmiştir ve iyi prognozla ilişkilendirilmiştir. CBLR, MSİ ile yakından ilişkilidir.

Graham ve Appelman'ın skorlama sistemi:

- Skor 0: Tüm tümör kesitlerinde 0-1 lenfoid agregat
- Skor 1: Az sayıda germinal merkezi olan veya olmayan lenfoid agregatlar
- Skor 2: Belirgin sayıda ve germinal merkezi olan lenfoid agregatlar

Ueno ve arkadaşları'nın skorlama sistemi:

- İnaktif lenfoid agregat: Maksimum lenfoid agregat çapı 1 mm'nin altında
- Aktif lenfoid agregat: Maksimum lenfoid agregat çapı 1mm'nin üzerinde

Vayrynen ve Makinen'in skorlama sistemi:

- Düşük yoğunlukta CBLR: mm²'ye düşen lenfoid agregat sayısı 0,38'in altında
- Yüksek yoğunlukta CBLR: mm²'ye düşen lenfoid agregat sayısı 0,38'in üstünde

CBLR değerlendirmede farklı yöntemler denenmiş fakat optimal bir değerlendirme için fikir birliğine varılamamıştır[23].

2.4.6.2. Tümörü infiltre eden lenfositler

Tümör infiltre edici lenfositler (TIEL) doğrudan tümör çevresinden izole edilen lenfositler olarak adlandırılır. TIEL'lerin infiltrasyonunun, tümör invazyonu ve

ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Jakubowska ve arkadaşları TİEL'i lenfositlerin yeri invazyon sınırı ve tümör merkezinde görülenler olarak 2 ayrı kategoride ve lenfositlerin konumu intraepitelyal ve stromada görülenler olarak 2 ayrı kategoride değerlendirmiştir. TİEL, intraepitelyal lenfositlere göre görülmedi/görüldü olarak 2'ye, stromal lenfositlerin yüzdesine göre ise TİEL'i %0-10 arasında zayıf, %10-40 arasında orta, %50 ve üzerinde şiddetli olarak 3'e ayırmışlardır[24].

2.4.6.3.MMR proteinleri

MMR sistemi içinde MLH-1, MSH-2, MSH-6, MLH-3, MSH-3, PMS-1 ve PMS-2 gibi proteinler yer alır. Bu proteinler, heterodimerler oluşturarak DNA hasarını onarmada görevlidir[5]. Kolorektal karsinogenezde en yaygın görülen heterodimerler MLH-1/PMS-2 ve MSH-2/MSH-6'dır[25]. Replikasyon sırasında hatalar tespit edilir. MSH-2/MSH-6 ve MSH-2/MSH-3 heterodimerleri tarafından bağlanır. Daha sonra MLH-1/PMS-2 heterodimerleri yeniden sentez için toplanır. Bu proteinlerden birinin eksikliği eksik MMR (dMMR) olarak geçer ve mutasyona neden olur. Sonuçta MSİ ortaya çıkar[5].

Mikroskopik olarak kötü diferansiasyon, medüller karsinom ya da müsimöz karsinom histomorfolojisi, tümörün ekspansif büyüme paterni göstermesi, tümöre eşlik eden lenfositlerin varlığı, tümör çevresinde Crohn benzeri lenfoid follikül oluşumu içeren adenokarsinomlarda MSİ ihtimali akla gelmelidir. MSİ sağ kolonda daha sık görülmektedir ve kadın cinsiyet eğilimi göstermektedir[4, 5, 16]. Genellikle sporadik tümörler yaşlı kadın hastalarda görülme eğilimindeyken, Lynch sendromlu hastalarda genellikle daha genç yaşta (50 yaş veya altı) görülür. MSİ Evre II tümörlerde daha sık izlenirken metastatik tümörler arasında nispeten daha nadirdir[5].

Tümörlerin MSİ açısından taranmasında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi ve immünohistokimyasal boyama (IHK) olmak üzere iki tür test kullanılır.

PCR temelli moleküler incelemede MSİ, tümöral doku ve normal doku hücrelerinde nükleotid tekrarlarının uzunluğunun karşılaştırılması yoluyla saptanır. Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından önerilen standart tanı prosedürü, mononükleotid tekrarları için iki adet (BAT26 ve BAT25) ve dinükleotid tekrarları için üç adet (D2S123, D5S346 ve D17S250) olmak üzere toplam beş adet mikrosatellitin kullanılması şeklindedir. Her bir bölge için tümöral doku ve normal dokuda dalga

paterni karşılaştırılır[5, 16]. İşaretlenen bölgede meydana gelen dalga paternindeki kayma o bölge için instabilite olarak kabul edilir[16]. İşaretlenen beş mikrosatellit bölgesinden ikisi veya daha fazlası kararsızlık gösteriyorsa MSI-H (MSİ-yüksek), sadece bir tanesi kararsızlık gösteriyorsa MSI-L (MSİ-düşük) ve hiçbir belirteç kararsızlık göstermiyorsa MSS (mikrosatellit stabil) olarak olarak tanı alır[5, 16, 19, 26].

MMR proteinlerinden olan MLH-1, MSH-2, MSH-6 ve PMS-2 İHK'sal yöntemde MSİ durumunu tespit etmek için en sık kullanılan proteinlerdir. İHK'sal yöntemle tümör hücre nükleuslarında MMR proteinlerinin kaybı moleküler testlere göre çok daha basit bir şekilde saptanabilir[25, 27]. İHK'sal yöntem tüm MMR proteinlerinden en sık mutasyona uğrayan 4 tanesi çalışmaya dahil edildiği zaman yüksek duyarlılık (>%90) ve özgüllüğe (%100) sahiptir. Bu durumda İHK'sal analiz moleküler testlerle neredeyse eş değer bir öngörücülüğe sahiptir[27].

MMR proteinleri normalde özellikle kript epiteli gibi çoğalan hücrelerde bulunur[25]. MMR proteinlerinden PMS-2 ve MSH-6, sırasıyla MLH-1 ve MSH-2 ile eşleşir ve burada major proteinler MLH-1 ve MSH-2'dir[5]. MLH-1 veya MSH-2 mutasyona uğradığında bu sırasıyla partnerleri olan PMS-2 veya MSH-6'nın da bozunmasına ve protein kaybına neden olacaktır. Örneğin, MSH-2 mutasyona uğradığı zaman immünohistokimyasal olarak MSH-2 ve MSH-6'nın yokluğu/kaybı olarak ortaya çıkar. Ancak, bunun tersi durum söz konusu değildir. Germline PMS-2 veya MSH-6 mutasyona uğradığında genellikle partnerleri olan MLH-1 veya MSH-2'nin protein ekspresyonunda eş zamanlı bir kayıp beklenmez[5, 25]. Bu durum, MSH-3 gibi diğer MMR proteinlerinin MLH-1 veya MSH-2'ye bağlanıp onları stabilize etmesinden kaynaklanır. Yani telafi edici etkileri bulunmaktadır[25].

MSİ'nin iyi prognostik faktör olduğu çoğu çalışmada bildirilmiştir. Bununla birlikte, MSİ'ye sahip olan bir hasta alt grubunda nüks gelişme ve hastalıktan ölmesi de olasıdır. Bu, MSİ'ye sahip hastaları da alt gruplara ayrılması gerektiğini göstermektedir[28]. Ayrıca MSI-H'nin tümör hücrelerinde somatik mutasyonların birikmesine neden olduğu, tümör mutasyon yükünü ve yeni antijen ekspresyonlarını artırdığı ve bol miktarda tümör infiltrate eden lenfositler dahil olmak üzere bir dizi moleküler ve biyolojik değişikliğe yol açtığı bildirilmiştir. Ve bu değişiklikler, kontrol

noktası inhibitör ilaçlarına karşı artan hassasiyetle ilişkilendirilmiştir. Yani bir tümörde mikrosatellite durumunu belirlemek tedavi için yönlendirici niteliktedir[8].

2.4.6.4.SATB2

SATB2 (Special AT-rich sequence binding protein), DNA'nın AT açısından zengin matriks bağlanma bölgesi ile etkileşime giren transkripsiyon faktörü ailesinin bir üyesidir. Dolayısıyla transkripsiyonun düzenlenmesi ve kromatinin yeniden şekillenmesinde görev alarak gen ekspresyonunu düzenler. SATB2 osteoblastik ve nöronal diferansiasyonda ayrıca iskelet gelişimi, yarı damak oluşumu gibi olaylarda rol oynar. Aynı zamanda kolon ve appendiks dahil olmak üzere alt gastrointestinal sistem epitel hücrelerinde eksprese edilir. Dolayısıyla alt gastrointestinal tümörlerde belirteç olarak kullanılabilir[9, 29-31].

Yapılan son çalışmalarda SATB2 tümör büyümesi veya baskılanması ile ilişkilendirilmiş ve SATB2'nin kolorektal kanserde, küçük hücreli dışı akciğer kanserinde ve mide kanserinde tümör ilerlemesini baskıladığı gösterilmiştir. Yani tümöral dokuda SATB2'nin eksprese edilmesi iyi prognoz göstergesidir[9].

SATB2 ile kanser kök hücreleri (CSC'ler) arasındaki ilişki üzerine de yapılan çalışmalar mevcuttur. CSC'ler, kendini yenileyebilen, çok yönlü farklılaşma özelliğine sahip ayrıca hücrelerin tümöral yönde farklılaşmasında, tümör hiyerarşisinin ve tümör heterojenitesinin oluşumundan sorumlu olan hücrelerdir [32]. Yapılan çalışmalarda SATB2'nin kanser kök hücreleri üzerinde tümör baskılayıcı gen olarak görev yaptığı tespit edilmiş ve böylece SATB2'nin yüksek eksprese edilmesi kolon tümör hücre göçünün inhibe edilmesi ile ilişkilendirilmiştir[33].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olguların Belirlenmesi ve Hazırlanması

Çalışmamıza Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD.'na 01 Ocak 2010-30 Ağustos 2020 tarihleri arasında gönderilen kolon adenokarsinom tanısı alan, neoadjuvan tedavi almamış, uygun tespit işlemi yapılmış ve yeterli dokuya sahip kolon rezeksiyon materyalleri arasından seçilen 150 olgu dahil edildi.

Olgularımıza ait bloklar tümör hücrelerinin en yoğun olduğu ve nekrozun en az olduğu alanlar dikkate alınarak seçildi. Bu koşulları sağlamayan olgular çalışma dışı bırakıldı.

Olgulara ait veriler Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji bölümüne ait patoloji raporları, hastane otomasyon sistemi ve onkoloji bölümüne ait verilerden elde edildi.

Çalışma için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yerel etik kurul onayı alınmıştır. Bu çalışma Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından, TIP.21.006 nolu proje kod numarası ile desteklenmiştir.

3.2. Parafin blok seçimi

Tüm materyallere ait hematoksil-eozin (H&E) ve tanıya yönelik yapılmış olan immünohistokimyasal belirteçler ile boyalı preparatlar iki gözlemci (ilgili asistan ve ilgili öğretim üyesi) tarafından tekrar incelendi. H&E boyalı preparatlar ile materyaller DSÖ sınıflamasına göre histolojik alt tiplerine ayrıldı. Çalışma için tümör hücrelerinin en yoğun olduğu ve nekrozun en az olduğu bloklar seçildi.

3.3. Kesitlerin elde edilmesi ve deparafinizasyon işlemi

Çalışmada MSH-2, MSH-6, MLH-1 ve PMS-2'ye yönelik immünohistokimyasal belirteçler için, rutin doku takibi işlemleri uygulanan bloklardan mikrotom cihazı (Shandon, ABD) kullanılarak her olgu için adhezivli lamlara (Isotherm, Almanya) 5µm kalınlığında ikişer adet kesit alındı.

İmmünohistokimyasal çalışma için kesit alınan lamlar 65°C'lik etüvde 30 dakika bekletilerek deparafinizasyonu yapıldı ve lamlara dokuların yapışması sağlandı.

3.4. Histomorfolojik değerlendirme

Olgulara ait tüm hematoksilen ve eozin (H&E) boyalı kesitler tekrar gözden geçirildi. Tümörün evresi değerlendirilirken, tümörün invazyon derinliği, lenf nodu ve uzak organ metastazı varlığı ele alındı. Histolojik derece, College of American Pathologists (CAP) protokolüne göre değerlendirildi ve diferansiasyon derecesine göre 1.derece (İyi diferansiye), 2.derece(Orta diferansiye) ve 3.derece(Az diferansiye) olarak belirlendi. Olgularda tümörün %50'sinden az oranda müsinöz komponent mevcut ise müsinöz diferansiasyon içeren adenokarsinom olarak değerlendirildi.

CBLR değerlendirilirken olgulara ait tümörün invazyon sınırlarını içeren preparatlarda çapı 1mm'nin üzerinde olan, germinal merkeze sahip veya germinal merkezi olmayan tüm lenfoid agregatlar hesaplandı. Lenfoid agregat sayısı 1 ve üzerinde olan olgular CBLR pozitif olarak kabul edildi (Şekil 9-10).

Çalışmamızda stromal TİEL ve intraepitelyal TİEL ayrı ayrı değerlendirildi. Stromal TİEL değerlendirilirken olgulara ait tümörlü preparatlar içerisinde lenfositik infiltrasyonun en yoğun olduğu preparat seçildi. Ve lenfositik infiltrasyonun en yoğun olduğu alan dikkate alındı. Yoğunluk %10 ve üzerinde ise TİEL olarak kabul edildi (Şekil 11).

İntraepitelyal TİEL değerlendirilirken olgulara ait bütün tümörlü preparatlar incelendi. Tümöre ait neoplastik glandları infiltre eden lenfositlerin varlığı intraepitelyal TİEL olarak var ya da yok şeklinde değerlendirildi (Şekil 12).

3.5. İmmünohistokimyasal çalışma

İmmünohistokimyada kullanılan belirteçler ve çalışma protokolü

İmmünohistokimyasal çalışmada MSH-2 (monoklonal fare antikoru, klon G219-1129, Ventana), MSH-6 (monoklonal tavşan antikoru, klon SP93, Ventana), MLH-1 (monoklonal fare antikoru, klon M1, Ventana), PMS-2 (monoklonal fare antikoru, klon A16-4, Ventana) ve SATB2 (monoklonal tavşan antikoru, klon EP281; 1:150 dilüsyon, Epitomics) kullanıma hazır formda primer antikorlar kullanıldı.

İmmünohistokimyasal çalışmanın en doğru şekilde değerlendirilmesi için kontrol dokular ile birlikte çalışıldı. SATB2 için tümörsüz kolon dokusu içeren parafin

blok kontrol bloğu olarak seçildi. MSH-2, MSH-6, MLH-1 ve PMS-2 için stromal ve tümörü infiltre eden lenfositler kontrol dokusu olarak kullanıldı. Bu kontrol blokları kullanılarak primer antikorların optimum çalışma dilüsyonu ve inkübasyon süresi saptandı (Tablo 3).

Tablo 3: İmmünohistokimyasal çalışmada kullanılan primer antikorlar

Antikor	Klon	Sellüler lokalizasyon	Dilüsyon	İnkübasyon	Firma
MSH-2	G219-1129	Nükleer	Kullanıma hazır	32 dk	Ventana
MSH-6	SP93	Nükleer	Kullanıma hazır	32 dk	Ventana
MLH-1	M1	Nükleer	Kullanıma hazır	40 dk	Ventana
PMS-2	A16-4	Nükleer	Kullanıma hazır	40 dk	Ventana
SATB2	EP281	Nükleer	1:150	32 dk	Epitomics

İmmünohistokimyasal çalışma Ventana BenchMark Ultra cihazında (Roche Diagnostics, ABD) otomatik olarak, aşağıda belirtilen sıra ile yapıldı:

MSH-2, MSH-6 ve SATB2 antikorları için;

- 1) Cihaza yerleştirilen lamalar, 72°C'ye kadar ısıtılarak deparafinizasyon yapıldı.
- 2) 95°C'ye kadar ısıtılarak Ventana Conditioner 1-EDTA solüsyonu (Roche Diagnostics, ABD) ile 8 dakika inkübe edilerek hücre iyileştirmesi yapıldı.
- 3) Antikor inkübasyonu için lamalar 37°C'ye soğutuldu ve 4 dk süre ile inkübe edildi.
- 4) Bu aşamada primer antikor uygun dilüsyonda manuel şekilde lamlara uygulandı. 32 dakika süre ile inkübe edildi.

- 5) Arka plan boyanma için bir damla hematoksilin uygulanıp 16 dk, Bluing belirteci uygulanıp 4 dk süre ile inkübe edildi.

*MLH-1 antikoru da aynı aşamalardan geçerek hazırlanmış olup inkübasyon süresi 40 dakikadır.

PMS-2 antikoru için;

- 1) Cihaza yerleştirilen lamalar, 75°C'ye kadar ısıtılarak deparafinizasyon yapıldı.
- 2) 100°C'ye kadar ısıtılarak Ventana ULTRA Conditioner 1-EDTA solüsyonu (Roche Diagnostics, ABD) ile 4 dakika inkübe edilerek hücre iyileştirmesi yapıldı.
- 3) Antikor inkübasyonu için lamalar 37°C'ye soğutuldu ve 4 dk süre ile inkübe edildi.
- 4) Bu aşamada primer antikor uygun dilüsyonda el ile lamlara uygulandı. 40 dakika süre ile inkübe edildi.
- 5) Arka plan boyanma için bir damla hematoksilin uygulanıp 16 dk, Bluing belirteci uygulanıp 4 dk boyunca inkübe edildi.

Makineden çıkarılan lamalar deterjanlı su ile zarar verilmeden yıkandı, saf alkolde 5 dakika boyunca bekletildi. Ardından 5 dakika boyunca ksilende bekletildi ve lamel ile kapatıldı.

3.5.1. İmmünohistokimyasal skorlama

İmmünohistokimyasal boyama uygulanan preparatlar ışık mikroskopunda, 2 patolog tarafından semikantitatif ve subjektif olarak değerlendirildi. SATB2 için nükleer boyanma pozitif kabul edildi. MSH-2, MSH-6, MLH-1 ve PMS-2 için fokal ya da diffüz nükleer boyanma pozitif kabul edildi. MLH-1, PMS-2, MSH-2 ve MSH-6 için protein ekspresyonu kaybı/değişikliği, tümör hücrelerinde nükleer boyamanın tamamen yokluğu olarak tanımlandı ve eksik MMR/hasarlı MMR (dMMR) olarak isimlendirildi.

SATB2 değerlendirilirken tüm olgularda pozitif boyanan alanların yüzdesi (yaygınlığı) ve boyanma şiddeti (yoğunluğu) skorlandı ve nükleer skor elde edildi. Tümör hücrelerinin %0-1'inde boyanma skor 0, %2-25'inde boyanma skor 1, %25-50'sinde boyanma skor 2, %51-75'inde boyanma skor 3 ve %76-100'ünde boyanma

skor 4 olarak belirlendi. Nükleer yoğunluk, normal kolon epitelindeki baskın yoğunluğa atıfta bulunarak boyanma yok, zayıf, orta veya güçlü olacak şekilde 0-3 arasında skorlandı. Nükleer skor (NS) tümör hücrelerinin yoğunluk ve yaygınlığının çarpımı ile elde edildi. Buna göre SATB2 negatif tümörler (NS=0), SATB2 ekspresyonu düşük tümörler (NS=1-9), SATB2 ekspresyonu yüksek tümörler (NS>9) olmak üzere 3 ayrı kategori oluşturuldu[34].

Bu çalışmada bölgemizdeki neoadjuvan tedavi almamış kolon adenokarsinomlarında yaş, cinsiyet, sağkalım, histolojik alt tip, tümörün yerleşim yeri, lenf nodu metastazı, uzak organ metastazı varlığı, lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon varlığı, Crohn benzeri lenfoid reaksiyon(CBLR) ile tümörü infiltrate eden lenfosit(TIEL) varlığı belirlendi.

Hastaların takibine bakıldığında tanı tarihi, progresyon görülenlerde görülme tarihi ve ölenlerde ölüm tarihi belirlendi. Son durumları sağ ve ex şeklinde belirtildi

Hastaların sağkalım verileri değerlendirilirken tanı tarihi ve ölüm tarihi belirlendi. Son durumları sağ ve ölü şeklinde tanımlandı. Cerrahi komplikasyonlara bağlı olarak ölen hastalar sağkalım değerlendirmesine dahil edilmedi.

Bu çalışmada; SATB2 ile MMR protein ekspresyon kaybının immünohistokimyasal yöntem ile tespiti, MSI'ye sahip tümörlerin ve SATB2 ekspresyonunun histolojik alt tip, yaş, tümörün yerleşim yeri, cinsiyet, metastaz, tümör derece ve evresi, crohn benzeri lenfoid reaksiyon, tümörü infiltrate eden lenfositler, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon ve sağkalım açısından değerlendirilmesi, ayrıca SATB2-MSI arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

3.6. İstatiksel Yöntem

Araştırma verilerimizin istatistiksel değerlendirmesinde IBM SPSS 21.0 for Windows (Statiscical Peackage for Social Sciences) istatistik paket programı kullanıldı. Ölçümsel değişkenle ortalama $\pm$ standart sapma (SS) ile, kategorik değişkenler sayı ve yüzde ile sunuldu. İstatiksel değerlendirmelerde normal dağılım gösteren sürekli değişkenlerin iki grup arasındaki ortalamalarının değerlendirilmesinde Bağımsız t testi, normal dağılıma uymayanlar ise Kruskal Wallis ve Mann Whitney U testi ile analiz edildi. Nitel değişkenlerin karşılaştırılmasında

Chi-kare (χ^2) testi kullanıldı. Kullanılan Skor değerlerinin sağkalım üzerine etkisi log rank testi kullanılarak incelendi. Sağkalım hızları Kaplan-Meier sağkalım analizi kullanılarak hesaplandı. Hipotezler çift yönlü olup, $p \leq 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı sonuç kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Genel bulgular

Çalışmamıza Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD.'na Ocak 2010-Ağustos 2020 tarihleri arasında gönderilen 150 olgu değerlendirildi. Çalışmamızdaki hastaların prognostik parametreleri ve immünohistokimyasal boyanma özellikleri Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4: Prognostik parametreler ve immünohistokimyasal analiz sonuçları

		Sayı	Yüzde
Histolojik Alt Tip	Adenokarsinom, NOS	132	88
	Müsinöz	17	11,3
	Taşlı yüzük hücreli	1	0,7
Derece	1.Derece(G1)	50	33.3
	2.Derece(G1)	70	46.7
	3.Derece(G2)	12	8
Evre	1	20	13.3
	2	74	44
	3	57	38
	4	7	4.7
Cinsiyet	Kadın	69	46

	Erkek	81	54
Yerleşim yeri	Sağ kolon	66	44
	Sol kolon	84	56
Lenf nodu metastazı	Var	60	40
	Yok	90	60
Uzak organ metastazı	Var	37	24.7
	Yok	113	75.3
Crohn benzeri lenfoid reaksiyon	Var	64	42.7
	Yok	86	57.3
Tümörü infiltre eden lenfositler	Var	59	39.3
	Yok	91	60.7
Lenfovasküler invazyon	Var	44	29,3
	Yok	106	70,7
Perinöral invazyon	Var	41	27,3
	Yok	109	72,7
Sağkalım	Ölü	29	19.3
	Sağ	121	80.7

MSH-2	Hasarlı	10	6.7
	İntakt	140	93.3
MSH-6	Hasarlı	12	8
	İntakt	138	92
PMS-2	Hasarlı	28	18.7
	İntakt	122	81.3
MLH-1	Hasarlı	29	19.3
	İntakt	121	80.7
SATB2	Negatif	42	28
	Zayıf pozitif	19	12.7
	Orta şidd. Pozitif	50	33.3
	Güçlü pozitif	39	26
Yaş	Ortalama±SS	63,00±16,314	

4.1.1. Histolojik alt tip

Çalışmamızda kolon adenokarsinom tanısı almış toplam 150 adet olgu incelendi. DSÖ sınıflamasına göre olguların 17'si müsinöz adenokarsinom, 1'i taşlı

yüzük hücreli karsinom ve 132'si Adenokarsinom, NOS olarak değerlendirildi. Adenokarsinom, NOS tanımlı vakalardan 50'si 1.derece, 70'i 2.derece, 12'si 3. derece olarak belirlendi(Tablo 4).

4.1.2. Yaş

Olguların en genci 22, en yaşlısı 94 yaşında olup yaş ortalaması $63,00 \pm 16,314$ olarak değerlendirildi.

dMMR saptanan 44 olgudan en genci 27, en yaşlısı 94 yaşında olup yaş ortalaması $58,68 \pm 16,503$ olarak değerlendirildi. 50 yaş ve altı 15 olgu (%34,1), 50 yaş üstü 29 olgu (%65,9) saptandı. Mikrosatellite durumu ile yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,331$) (Tablo 5).

SATB2 ekspresyonu negatif olan 42 olgunun yaş ortalaması $62,67 \pm 15,826$, SATB2 düşük ekspresyon gösteren 69 olgunun yaş ortalaması $62,26 \pm 16,430$, SATB2 yüksek ekspresyon gösteren 39 olgunun yaş ortalaması $55,82 \pm 16,034$ olarak değerlendirildi. SATB2 nükleer skor kodu ile yaş arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,481$).

Tablo 5: Yaş ile MMR durumu karşılaştırması

	dMMR	YAŞ-MMR		P değeri
		pMMR	Total	
≤50 yaş	15	26	41	0,331
>50 yaş	29	80	109	
Total	44	106	150	

4.1.3. Yerleşim yeri

Çalışmamızdaki 150 olgunun 66'sı sağ kolon (%44), 84'ü sol kolon (%56) yerleşimlidir. MMR sağlam 106 olgudan 70'i sol kolon, 36'sı sağ kolon yerleşimli olarak izlendi. MMR protein ekspresyon kaybı izlenen 44 olgudan ise 30'u sağ kolon, 14'ü sol kolon yerleşimli olarak izlendi. Mikrosatellite durumu ile tümörün yerleşim

yeri arasında uygulanan Ki-kare testi ile istatistiksel olarak oldukça yüksek anlamlı farklılık izlendi ($p=0,000$)(Tablo 6).

Tablo 6: MMR durumunun tümör lokalizasyonu ile ilişkisi

		YERLEŞİM YERİ				P değeri
		Sağ Kolon		Sol Kolon		
		Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
MMR durumu	pMMR	36	34	70	66	0,000
	dMMR	30	68	14	32	

Çalışmamızdaki 150 olgunun 42'si SATB2 negatif (%28) izlenmiş olup, 27'si sağ kolon, 15'i sol kolon yerleşimli idi. Olgulardan 69'u SATB2 ile düşük ekspresyon (%46) göstermiş olup bunlardan 26'sı sağ kolon, 43'ü sol kolon yerleşimli idi. Olgulardan 39'u (%26) SATB2 ile yüksek ekspresyon göstermiş olup, 13'ü sağ kolon, 26'sı sol kolon yerleşimli idi.

SATB2 ekspresyonu ve yerleşim yeri arasında uygulanan Ki-kare testi ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlendi ($p=0,007$)(Tablo 7).

Tablo 7: SATB2 ekspresyon durumunun tümör lokalizasyonu ile ilişkisi

		YERLEŞİM YERİ				P değeri
		Sağ kolon		Sol kolon		
		Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
SATB2	Negatif	27	40,9	15	17,9	

Düşük ekspresyon	26	39,4	43	51,2	0,007
Yüksek ekspresyon	13	19,7	26	31	

4.1.4. Cinsiyet

Çalışmamızdaki 150 olgunun 69'u kadın (%46), 81'i erkektir (%54) (Tablo 8). Cinsiyete göre MMR durumunun ve SATB2'nin immünohistokimyasal ekspresyonları arasında uygulanan Ki-kare testi ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$).

Tablo 8: MMR ve SATB2 ekspresyon durumları ile cinsiyet arasındaki ilişki

		CİNSİYET				P değeri
		Kadın		Erkek		
		Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
MMR durumu	pMMR	53	76,8	53	65,4	
	dMMR	16	23,2	28	34,6	0,127
SATB2	Negatif	23	33,3	19	23,5	
	Düşük ekspresyon	28	40,6	41	50,6	0,347
	Yüksek ekspresyon	18	26,1	21	25,9	

4.1.5. Metastaz durumu

Çalışmamızda 150 olgunun 60'ında bölgesel lenf nodu, 37'sinde uzak metastaz mevcut olup bu iki grup 'metastatik grup' olarak kabul edildi. 53 olguda ise metastaz mevcut değildi.

Lenf nodu metastazı yapan 60 olgu incelendiğinde 17'sinde(%28,3) MMR hasarlı , 43'ünde(%71,6) MMR sağlam izlendi. Lenf nodu metastaz durumuna göre mikrosatellite ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi (p=0,971).

Uzak metastaz yapan 37 olgu incelendiğinde ise 8'inde MMR hasarlı, 29'unda MMR sağlam izlendi. Uzak metastaz durumuna göre mikrosatellite ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi (p=0,328).

Lenf nodu metastazı yapan 60 olguda SATB2 ekspresyonu değerlendirildiğinde 23'ünde (%38,3) SATB2 negatif izlendi. 27'sinde (%45) SATB2 düşük ekspresyonu izlenirken, 10'unda (%16,7) SATB2 yüksek ekspresyonu izlendi (Tablo 9). Lenf nodu metastaz durumuna göre SATB2 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlendi (p=0,028).

Uzak organ metastazı yapan 37 olguda SATB2 ekspresyonu değerlendirildiğinde 14'ünde (%37,8) SATB2 negatif izlendi. 16'sinde (%43,2) SATB2 düşük ekspresyonu izlenirken, 7'sinde (%18,9) SATB2 yüksek ekspresyonu izlendi. Uzak metastaz durumuna göre SATB2 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi (p=0,256).

Tablo 9: Lenf nodu metastazı ile SATB2 ekspresyon durumu arasındaki ilişki

		LENF NODU METASTAZI				P değeri
		VAR		YOK		
		Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
SATB2	Negatif	23	38,3	19	21,1	0,028
	Düşük ekspresyon	27	45	42	46,7	

Yüksek ekspresyon	10	16,7	29	32,2
------------------------------	----	------	----	------

4.1.6. Histolojik derece

Çalışmamızda 150 olgunun 17'si müsinöz adenokarsinom, 1'i taşlı yüzük hücreli karsinom ve 132'si Adenokarsinom, NOS olarak değerlendirildi. Adenokarsinom, NOS tanılı vakalardan 50'si 1.derece, 70'i 2.derece, 12'si 3. derece olarak belirlendi. Bu vakalardan 1'inde müsinöz diferansiasyon (%50'den az) tespit edildi. MMR hasarlı tespit edilen 44 olgudan 13'ü 1.derece, 17'si 2.derece, 6'sı 3.derece adenokarsinom idi. 8 vaka ise müsinöz adenokarsinomdu. Tümörün histolojik derecesi ile mikrosatellite durumu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi($p=0,208$). Müsinöz diferansiasyon ise MMR sağlam olan grupta daha çoğunlukta izlendi fakat istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı($p=0,195$).

SATB2 ekspresyonu negatif olan 42 olgudan 7'si 3.derece, 17'si 2.derece, 8'i 3.derece adenokarsinom, 9'u müsinöz adenokarsinom ve 1'i taşlı yüzük hücreli adenokarsinom idi. SATB2 ekspresyonu ile tümörün histolojik derecesi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,012$) (Tablo 10).

Tablo 10: Tümörün histolojik derecesi ile SATB2 ekspresyon durumu arasındaki ilişki

		SATB2			P Değeri
		Negatif	Düşük ekspresyon	Yüksek ekspresyon	
Adenokarsinom, NOS	1. Derece	8	23	19	
	2.Derece	17	37	16	

	3.Derece	7	3	2	0,012
Müsinöz adenokarsinom		9	6	2	
Taşlı yüzük hücreli karsinom		1	0	0	

4.1.7. Evre

Çalışmamızda 150 olgunun 20'si Evre 1(%13,3), 66'sı Evre 2(%44), 57'si Evre 3(%38), 7'si evre 4(%4,7) olarak değerlendirildi.

MMR protein ekspresyon kaybı izlenen 44 olgunun 5'i Evre 1(%11,4), 24'ü Evre 2(%54,6), 13'ü Evre 3(%29,5) ve 2'si Evre 4(%4,5) olarak belirlendi. MMR sağlam olan 106 olgunun 15'i Evre 1(%14,2), 42'si Evre 2(%39,6), 44'ü Evre 3(%41,5) ve 5'i Evre 4(%4,7) olarak belirlendi. Tümörün evresi ile mikrosatellite durumu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi (p=0,071) (Tablo 11).

Tablo 11: Tümör evresi ile MMR durumu karşılaştırılması

		MMR Durumu		P değeri	
		pMMR		dMMR	
		Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
Tümör Evresi	Evre 1	15	14,2	5	11,4
	Evre 2	42	39,6	24	54,6
	Evre 3	44	41,5	13	29,5
	Evre 4	5	4,7	2	4,5

SATB2 negatif olarak değerlendirilen 42 olgunun 4'ü Evre 1(%9,5), 13'ü Evre 2(%31), 20'si Evre 3(%47,5), 5'i Evre 4 (%12) olarak izlendi.

SATB2 düşük nükleer ekspresyon gösteren 69 olgunun 7'si Evre 1(%10,2), 34'ü Evre 2(%49,3), 26'sı evre 3(%37,7), 2'si Evre 4(%2,9) olarak izlendi.

SATB2 yüksek nükleer ekspresyon gösteren 39 olgunun 9'u Evre 1(%23,1), 19'u Evre 2(%48,7), 11'i Evre 3(%28,2) olarak izlendi.

Tümörün evresine ile SATB2 ekspresyonu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlendi (p=0,005) (Tablo 12).

Tablo 12: SATB2 ekspresyon durumu ile tümör evresinin karşılaştırılması

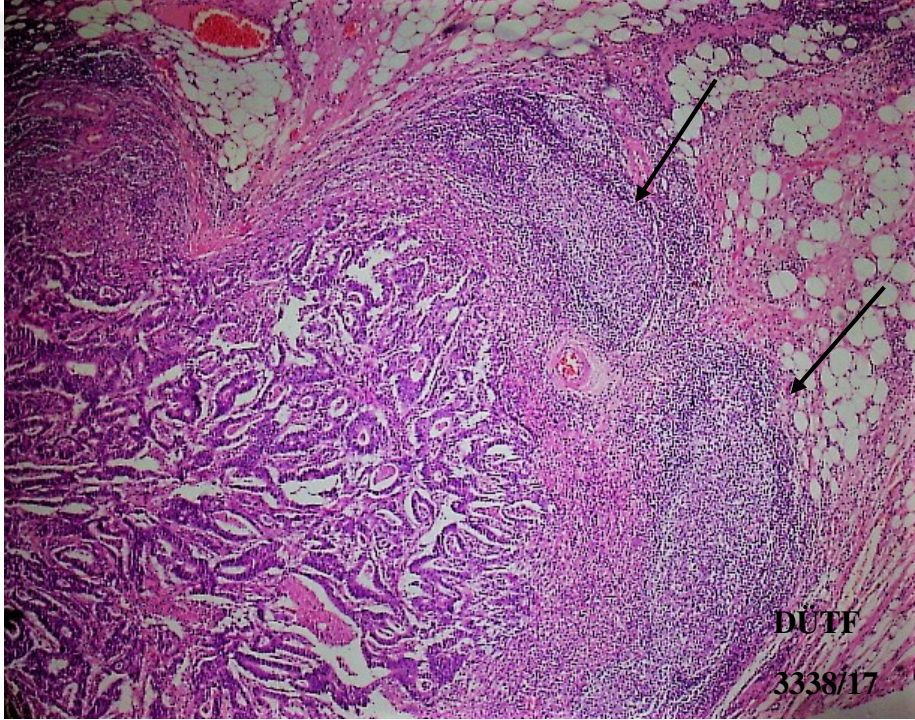
SATB2								P değeri
Negatif				Düşük Ekspresyon		Yüksek Ekspresyon		
		Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
TÜMÖR EVRESİ	Evre 1	4	9,5	7	10,2	9	23,1	0,005
	Evre 2	13	31	34	49,3	19	48,7	
	Evre 3	20	47,5	26	37,7	11	28,2	
	Evre 4	5	12	2	2,9	0	0	

4.1.8. Crohn benzeri lenfoid reaksiyon

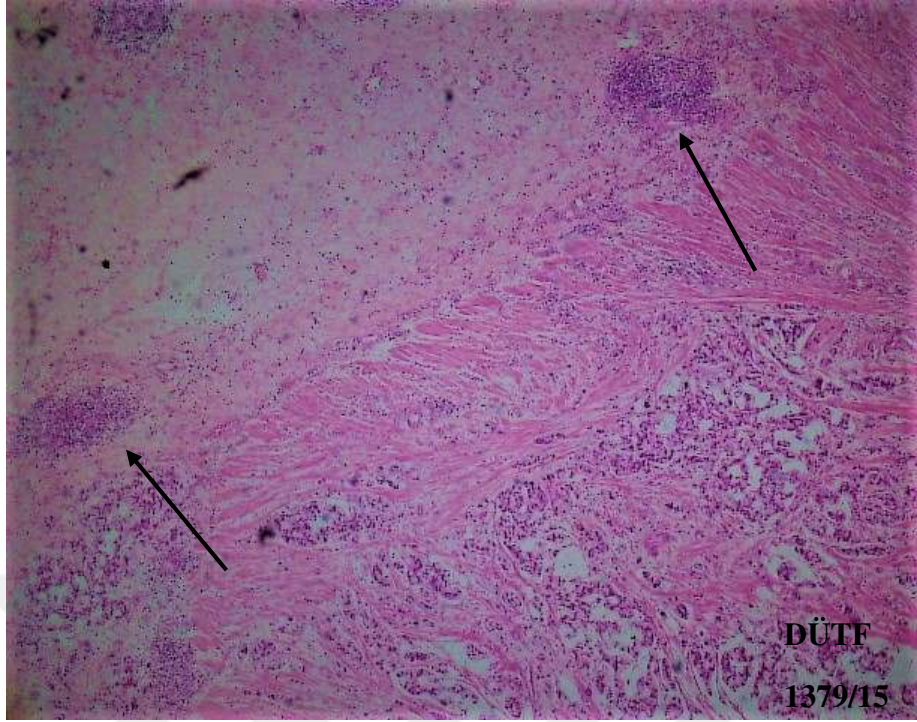
Çalışmamızda 150 olgunun 64'ünde (%42,7) crohn benzeri lenfoid reaksiyon izlenmiş olup, 86'sında (%57,3) crohn benzeri lenfoid reaksiyon izlenmedi.

MMR protein ekspresyon kaybı izlenen 44 olgudan 32'sinde(%50) crohn benzeri lenfoid reaksiyon izlenmiş olup dMMR ile crohn benzeri lenfoid reaksiyon arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı farklılık saptandı ($p=0,000$) (Tablo 13).

SATB2 negatif 42 olgunun 21'inde (%32,8), SATB2 düşük ekspresyon gösteren 69 olgunun 30'unda (%46,9) ve SATB2 yüksek ekspresyon gösteren 39 olgunun 13'ünde (%20,3) crohn benzeri lenfoid reaksiyon izlenmiş olup, SATB2 ekspresyonu ile crohn benzeri lenfoid reaksiyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p=0,082$).



Şekil 9: Crohn benzeri lenfoid reaksiyon (Oklar: Germinal merkezi olan lenfoid agregatlar) (H&E; X40)



Şekil 10: Crohn benzeri lenfoid reaksiyon (Oklar: Germinal merkezi olmayan lenfoid agregatlar) (H&E; X40)

Tablo 13: MMR durumu ile crohn benzeri lenfoid reaksiyon arasındaki ilişki

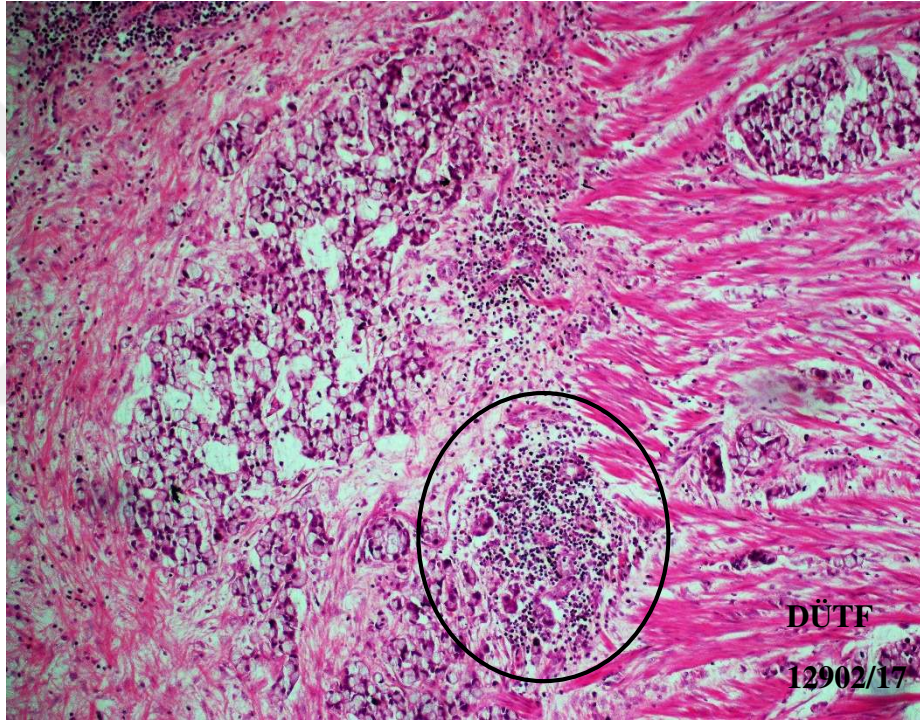
		CROHN BENZERİ LENFOİD REAKSİYON		P değeri	
		VAR		YOK	
		Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
MMR durumu	pMMR	32	50	74	86
	dMMR	32	50	12	14
		0,000			

4.1.9. Tümörü infiltre eden lenfositler

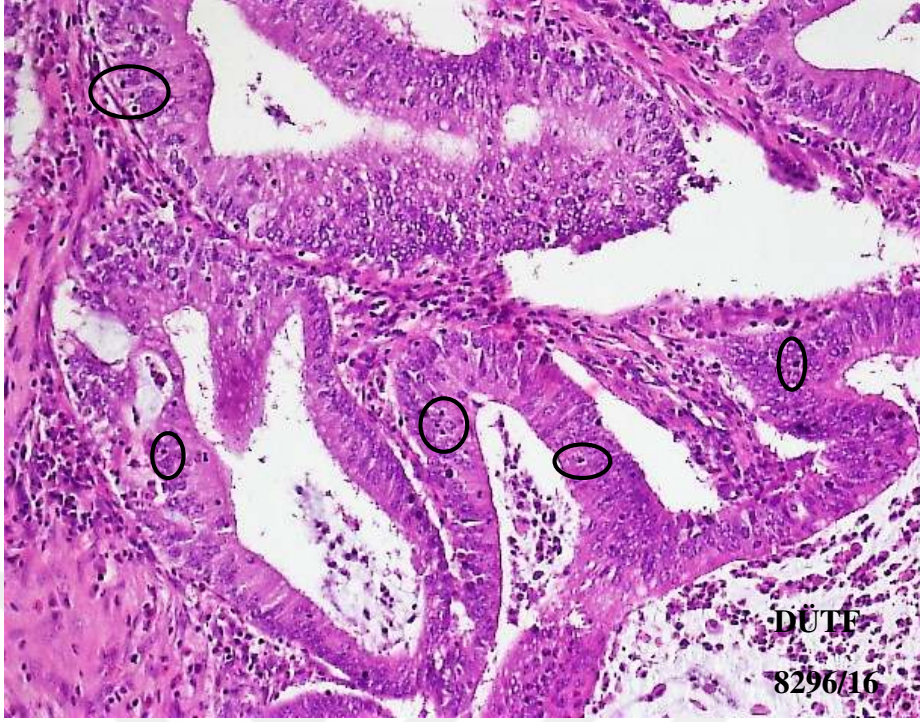
Çalışmamızda 150 olgunun 59'unda (%39,3) tümörü infiltre eden lenfosit varlığı izlenmiş olup, 91'inde (%60,7) tümörü infiltre eden lenfosit varlığı izlenmedi.

MMR protein ekspresyon kaybı izlenen 44 olgudan 25'inde(%42,4) tümörü infiltrate eden lenfosit varlığı izlenmiş olup, MMR protein ekspresyon kaybı ile tümörü infiltrate eden lenfosit varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,009$) (Tablo 14).

SATB2 negatif 42 olgunun 27'sinde (%45,7), SATB2 düşük ekspresyon gösteren 69 olgunun 22'sinde (%37,3) ve SATB2 yüksek ekspresyon gösteren 39 olgunun 10'unda (%17) tümörü infiltrate eden lenfosit varlığı izlenmiş olup, SATB2 ekspresyonu ile tümörü infiltrate eden lenfosit varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p=0,175$).



Şekil 11: Tümörü infiltrate eden lenfositler (Halka: Stromada tümör hücreleri arasındaki lenfositik hücre kümesi) (H&E; X100)



Şekil 12: Tümörü infiltre eden lenfositler (Halkalar: Neoplastik gland epiteline infiltre görünümdeki lenfositler) (H&E; X200)

Tablo 14: MMR durumunun tümörü infiltre eden lenfositler ile ilişkisi

		TÜMÖRÜ İNFİLTRE EDEN LENFOSİTLER		P değeri	
		VAR	YOK		
		Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
MMR durumu	pMMR	34	57,6	72	79,1
	dMMR	25	42,4	19	20,9
		0,009			

4.1.10. Lenfovasküler invazyon

Çalışmamızda 150 olgunun 44'ünde(%29,3) lenfovasküler invazyon saptandı, 106'sında(%70,7) ise saptanmadı.

MMR protein ekspresyon kaybı tespit edilen 44 olgunun 12'sinde(%27,3) LVI saptandı. MMR sağlam tespit edilen 106 olgunun ise 32'sinde LVI saptandı(%30,2).

MMR durumu ile LVİ arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı($p=0,492$) (Tablo 15).

SATB2 negatif 42 olgunun 8'sinde(%19,1), SATB2 düşük ekspresyon saptanan 69 olgunun 20'inde (%29) ve SATB2 yüksek ekspresyon saptanan 39 olgunun 16'unda(%41) LVİ tespit edildi. SATB2 ekspresyon durumu ile LVİ arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı($p=0,274$) (Tablo 15).

Tablo 15: MMR durumu ve SATB2 ekspresyon durumu ile LVİ arasındaki ilişki

		LENFOVASKÜLER İNVAZYON				P değeri
		VAR		YOK		
		Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
MMR Durumu	pMMR	32	30,2	74	69,8	0,492
	dMMR	12	27,3	32	72,7	
SATB2	Negatif	8	19,1	34	80,9	0,274
	Düşük ekspresyon	20	29	49	71	
	Yüksek ekspresyon	16	41	23	59	

4.1.11. Perinöral invazyon

Çalışmamızda 150 olgunun 41'inde(%27,3) perinöral invazyon saptandı. 109 (%72,7) olguda ise saptanmadı.

MMR protein ekspresyon kaybı tespit edilen 44 olgunun 7'sinde(%15,9), MMR sağlam tespit edilen 106 olgunun 34'ünde(%32,1) PNİ saptandı. MMR durumu ile perinöral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı($p=0,100$)(Tablo 16).

SATB2 negatif 42 olgunun 11'inde(%26,2), SATB2 düşük ekspresyon saptanan 69 olgunun 19'unda (%27,5) ve SATB2 yüksek ekspresyon saptanan 39 olgunun 11'inde (%28,2) PNI tespit edildi. SATB2 ekspresyon durumu ile PNI arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı(p=0,481) (Tablo 16).

Tablo 16: MMR durumu ve SATB2 ekspresyon durumu ile PNI arasındaki ilişki

		PERİNÖRAL İNVAZYON		P değeri		
		VAR		YOK		
		Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
MMR durumu	pMMR	34	32,1	72	67,9	0,100
	dMMR	7	15,9	37	84,1	
SATB2	Negatif	11	26,2	31	73,8	0,481
	Düşük ekspresyon	19	27,5	50	72,5	
	Yüksek ekspresyon	11	28,2	28	71,8	

4.1.12. Genel sağkalım analizi

Çalışmamızda 150 olgudan 29'u (%19,3) ölü, 121 olgu (%80,7) sağdır. 14 vaka ameliyat komplikasyonlarından dolayı öldüğü için istatistiksel değerlendirmeye dahil edilmedi. Ortalama sağkalım süresi 30,78±1,97 (%95 GA: 26,91±34,65) ay olarak bulundu. SATB2 negatif saptanan 42 olgunun 10'u ölü, SATB2 düşük ekspresyon gösteren 69 olgunun 18'i ölü ve SATB2 yüksek ekspresyon gösteren 39 olgudan ise 1'i ölü olarak tespit edildi. Değerlendirmeye alınan 15 vakadan 7'sinde SATB2 negatif ve 8'inde ise SATB2 düşük ekspresyonda izlendi. Ortalama sağkalım

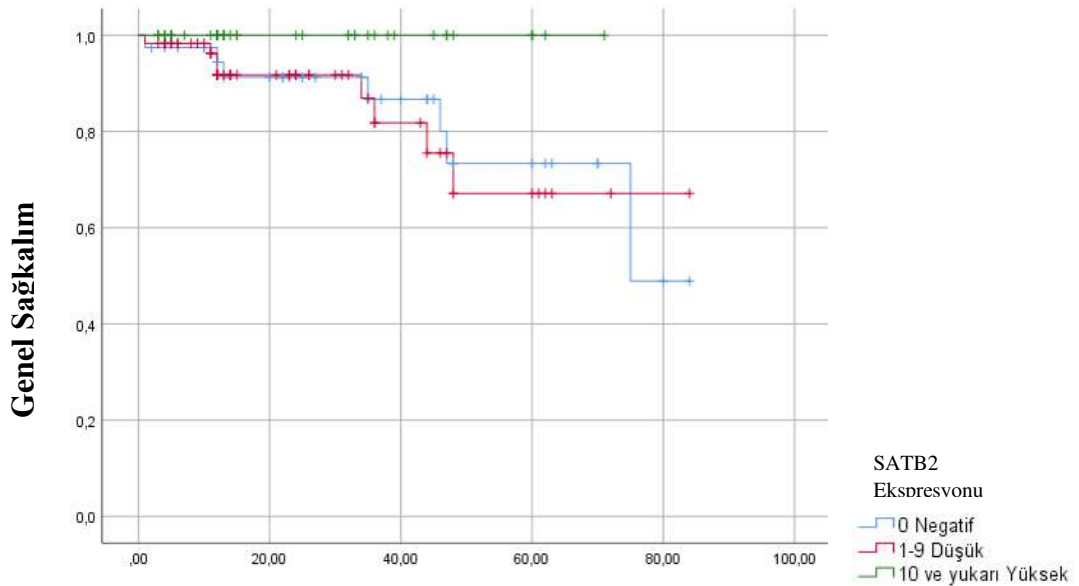
süresi SATB2 negatif vakalarda $24,94 \pm 3,17$ (%95 GA: $18,73 \pm 31,16$) ay, SATB2 düşük ekspresyon gösteren vakalarda $29,02 \pm 2,92$ (%95 GA: $23,28 \pm 34,75$) ay ve SATB2 yüksek ekspresyon gösteren vakalarda $39,70 \pm 4,11$ (%95 GA: $31,64 \pm 47,76$) ay olarak hesaplandı. Sağkalım süresi ile SATB2 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,008$).

Ölü olan 29 vakadan 20'si MMR sağlam, 9'u MMR hasarlı olarak tespit edildi. Sağkalım değerlendirmesine alınan 15 vakanın ise 5'i MMR hasarlı, 10'u MMR sağlam olarak tespit edildi. Sağkalım ile dMMR arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,823$).

Tablo 17: Kolon adenokarsinomlarda Kaplan-Meier metodu ile elde edilen sağkalım süreleri (ay) için Log Rank testi ile analiz sonuçları

	Sayı	Eksitus	Ortalama $\pm$ SH	P değeri
Genel sağkalım	121	29	$30,78 \pm 1,97$	N/A
SATB2				
Negatif	42	10	$24,94 \pm 3,17$	0,008
Düşük ekspresyon	69	18	$29,02 \pm 2,92$	
Yüksek ekspresyon	39	1	$39,70 \pm 4,11$	

SH: Standart hata, GA: Güven aralığı, N/A: Hesaplanamaz



Şekil 13: Kaplan-Meier eğrisi Kolon kanserlerinde SATB2 ekspresyon durumuna göre genel sağkalım

4.2. İmmünohistokimyasal bulgular

İmmünohistokimyasal çalışmada olgularımızda MSH-2, MSH-6, MLH-1, PMS-2 ve SATB2'nin ekspresyonu semikantitatif ve subjektif olarak değerlendirildi. Tüm olgularda MSH-2, MSH-6, MLH-1, PMS-2 ve SATB2 için nükleer boyanma pozitif kabul edildi. MSH-2, MSH-6, MLH-1 ve PMS-2 için fokal ya da diffüz nükleer boyanma pozitif kabul edildi. MLH-1, PMS-2, MSH-2 ve MSH-6 için protein ekspresyonu kaybı/değişikliği, tümör hücrelerinde nükleer boyamanın tamamen yokluğu olarak tanımlandı[17].

SATB2 değerlendirilirken tüm olgularda pozitif boyanan alanların yüzdesi (yaygınlığı) ve boyanma şiddeti (yoğunluğu) skorlandı ve nükleer skor elde edildi. Tümör hücrelerinin %0-1'inde boyanma skor 0, %2-25'inde boyanma skor 1, %25-50'sinde boyanma skor 2, %51-75'inde boyanma skor 3 ve %76-100'ünde boyanma skor 4 olarak belirlendi. Nükleer yoğunluk, kolon epitelindeki baskın yoğunluğa atıfta bulunarak boyanma yok, zayıf, orta veya güçlü olacak şekilde 0-3 arasında skorlandı. Nükleer skor (NS) tümör hücrelerinin yoğunluk ve yaygınlığının çarpımı ile elde edildi. Buna göre SATB2 negatif tümörler (NS=0), SATB2 ekspresyonu düşük tümörler (NS=1-9), SATB2 ekspresyonu yüksek tümörler (NS>9) olmak üzere 3 ayrı kategori oluşturuldu[34].

4.2.1. Mikrosatellit instabilite

Çalışmamızda 150 olgunun 44'ünde(%29,3) en az 1 MMR proteininde ekspresyon kaybı görülmüş ve bu dMMR lehine yorumlandı. 10 olguda MSH-2(%6,7), 12 olguda MSH-6(%8), 28 olguda PMS-2(%18,7), 29 olguda MLH-1(%19,3), ekspresyon kaybı mevcut idi(Tablo 18).

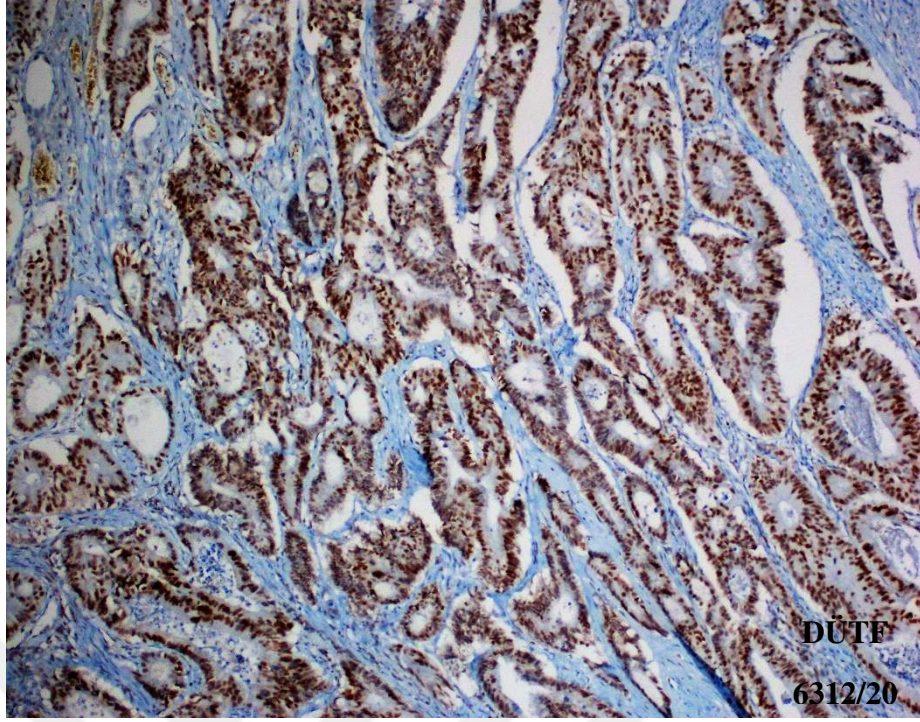
MMR hasarlı lehine yorumlanan olgularda MMR proteinlerinin ekspresyon kayıplarının dağılımı;

-8 olguda MSH-2 ve MSH-6 proteinlerinin ekspresyon kaybı

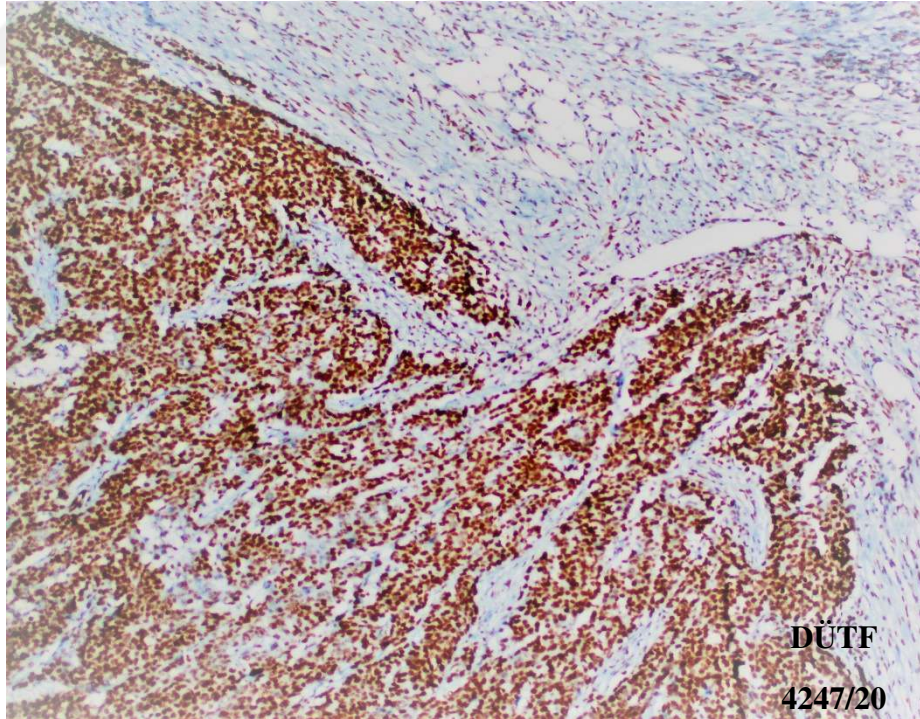
- 20 olguda PMS-2 ve MLH-1 proteinlerinin ekspresyon kaybı
- 6 olguda izole MLH-1 protein ekspresyonu kaybı
- 6 olguda izole PMS-2 protein ekspresyonu kaybı
- 1 olguda izole MSH-6 protein ekspresyonu kaybı
- 1 olguda MSH-2, MSH-6 ve MLH-1 proteinlerinin ekspresyon kaybı
- 1 olguda MSH-6,PMS-2 ve MLH-1 proteinlerinin ekspresyon kaybı
- 1 olguda MSH-2, MSH-6, PMS-2 ve MLH-1 proteinlerinin ekspresyon kaybı

Tablo 18: İmmünohistokimyasal olarak MMR proteinlerinin nükleer ekspresyonlarının değerlendirilmesi

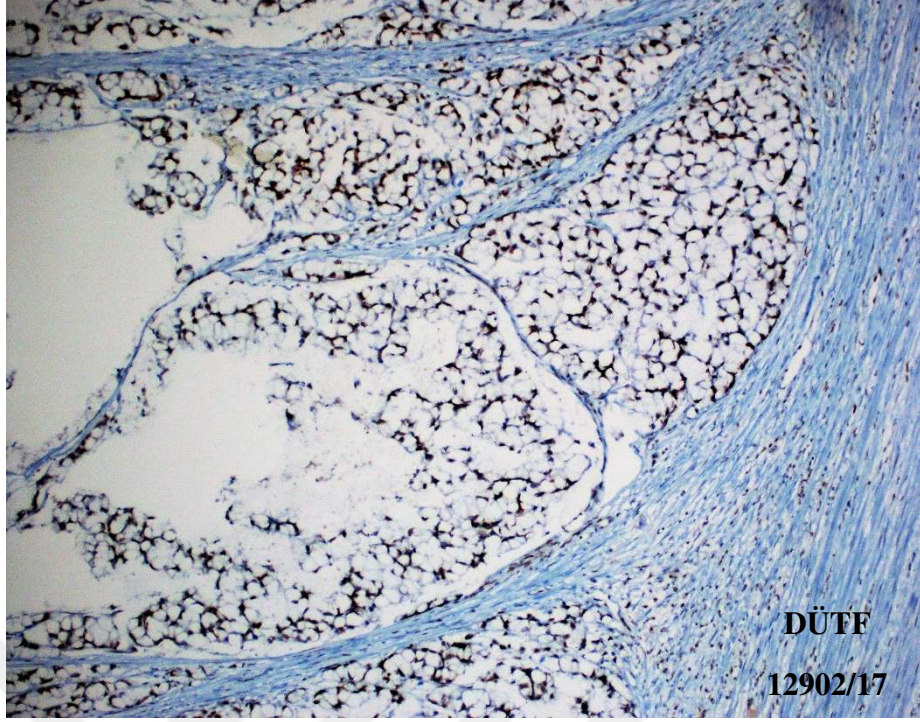
MSH-2	MSH-6	PMS-2	MLH-1	MMR durumu	Olgu sayısı	Yüzde
+	+	+	+	pMMR	106	70,7
-	-	+	+	dMMR	8	5,3
+	+	-	-	dMMR	20	13,4
+	+	+	-	dMMR	6	4
+	+	-	+	dMMR	6	4
-	-	+	-	dMMR	1	0,7
+	-	-	-	dMMR	1	0,7
+	-	+	+	dMMR	1	0,7
-	-	-	-	dMMR	1	0,7



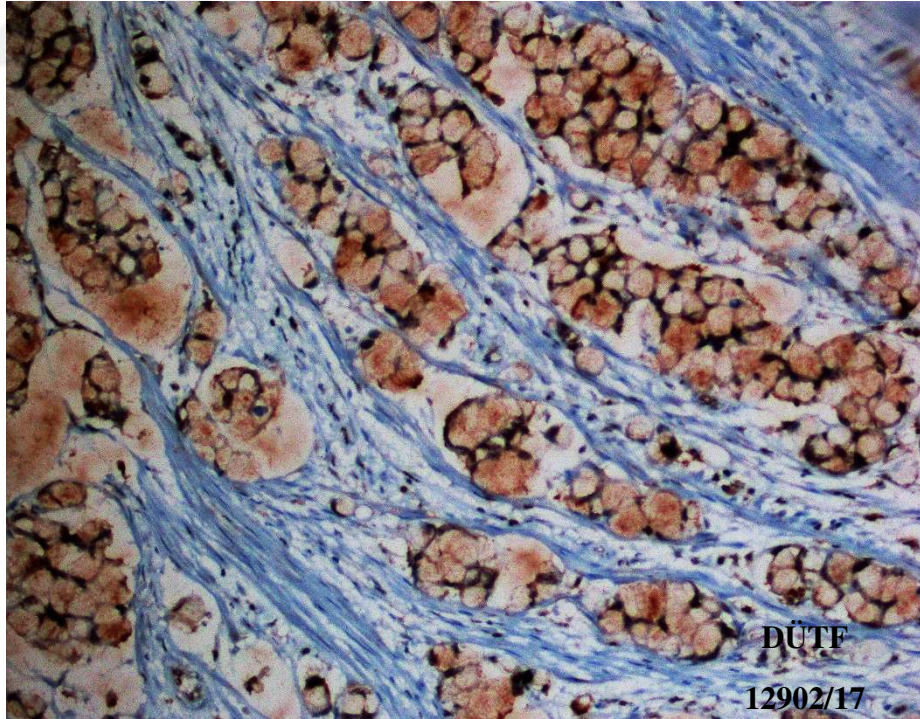
Şekil 14: İyi diferansiye adenokarsinom, MSH2 pozitifliği (İmmünperoksidaz; X100)



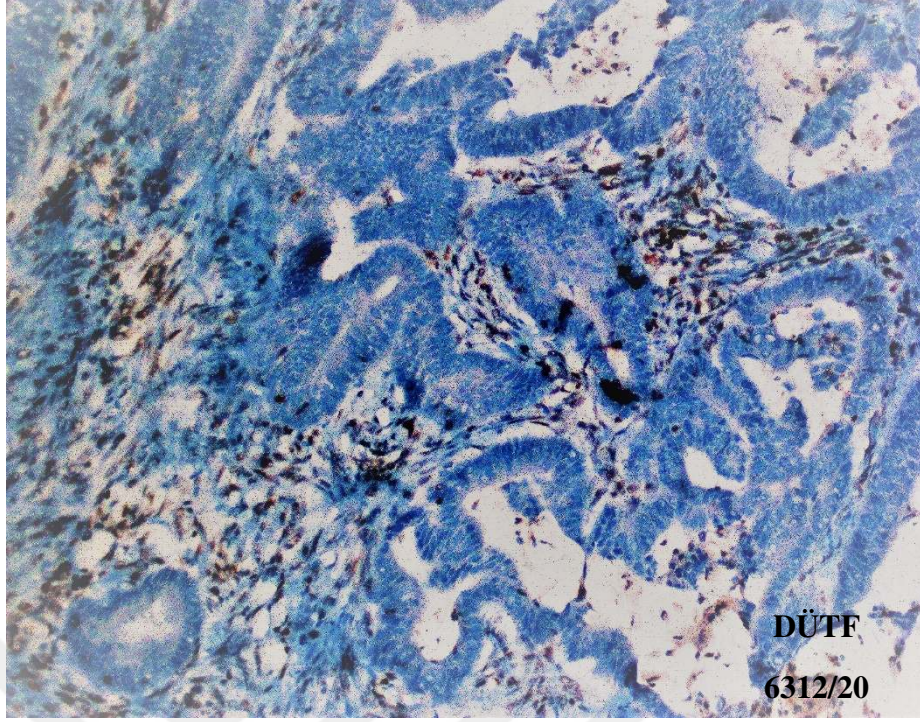
Şekil 15: Az diferansiye adenokarsinom, MSH6 pozitifliği (İmmünperoksidaz; X100)



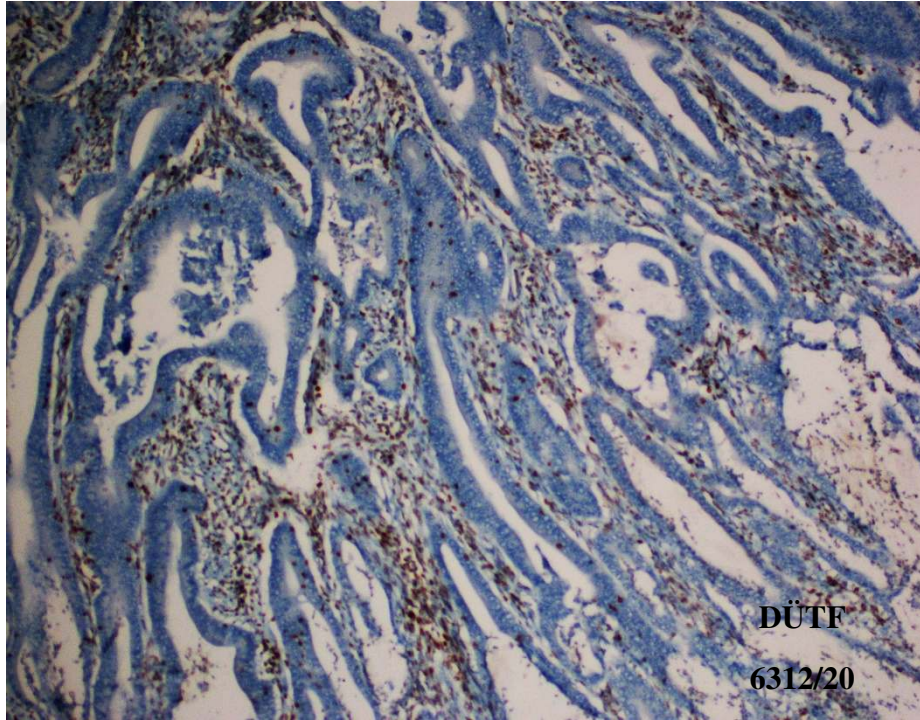
Şekil 16: Taşlı yüzük hücreli karsinom, MLH1 pozitifliği (İmmünperoksidaz; X100)



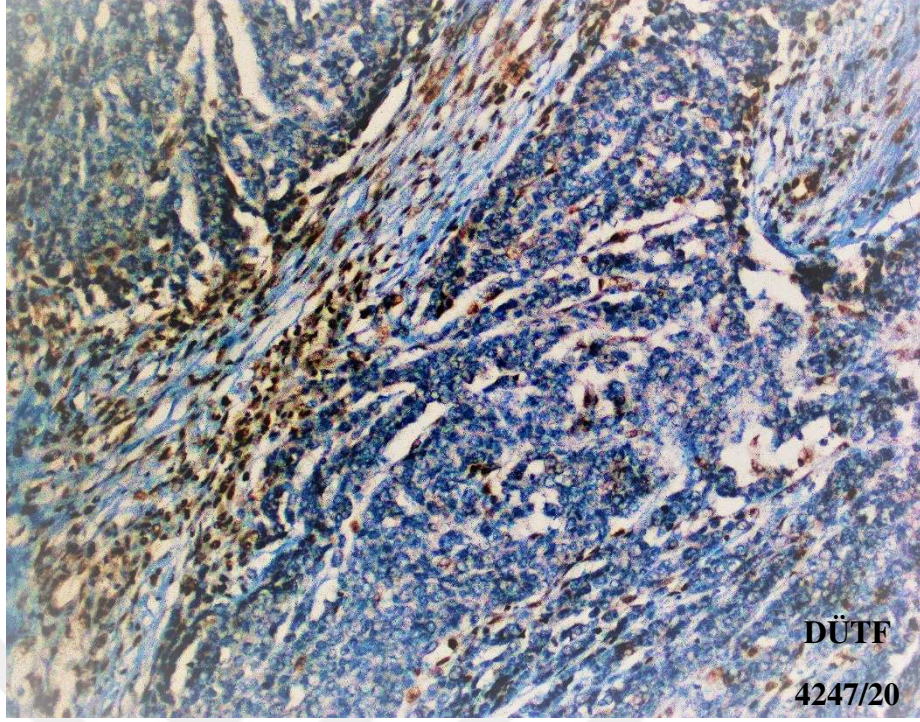
Şekil 17: Taşlı yüzük hücreli karsinom, PMS2 pozitifliği (İmmünperoksidaz; X200)



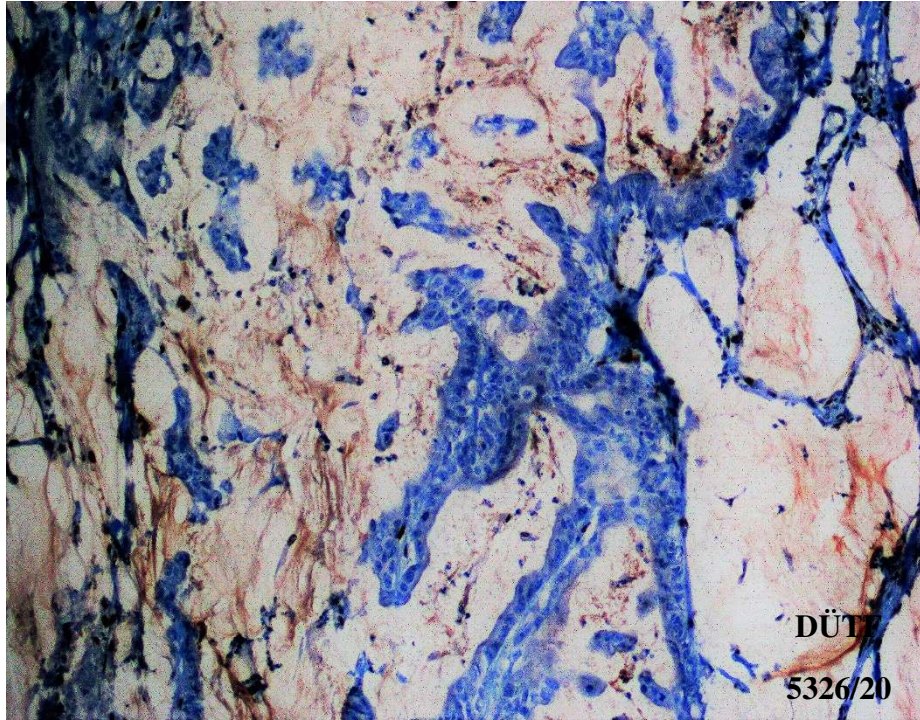
Şekil 18: İyi diferansiye adenokarsinom, MSH2 negatifliği (İmmünperoksidaz; X200)



Şekil 19: İyi diferansiye adenokarsinom, MSH6 negatifliği (İmmünperoksidaz; X100)



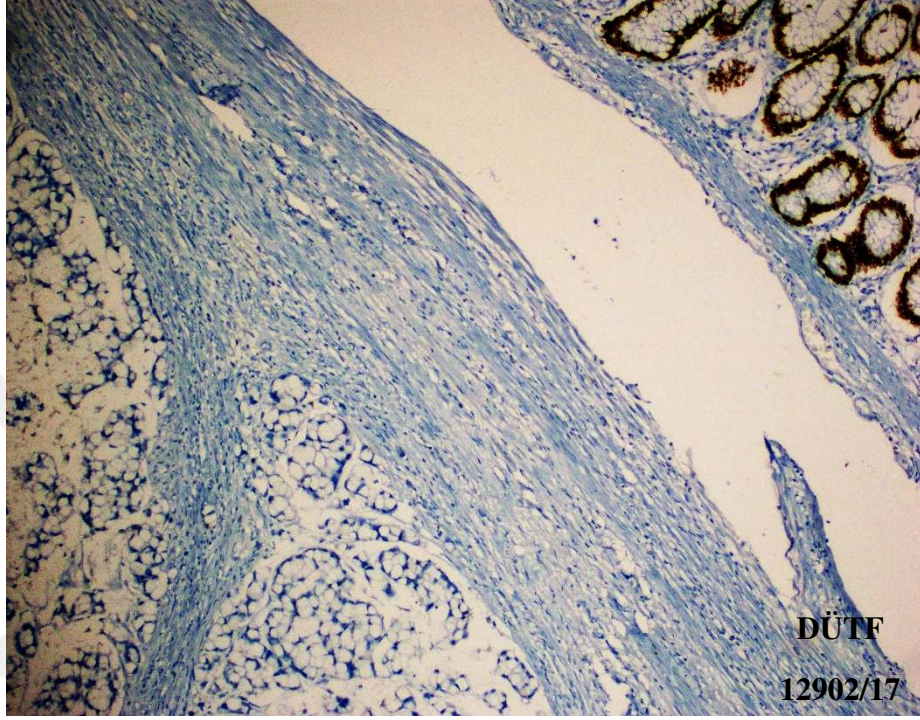
Şekil 20: Az diferansiye adenokarsinom, MLH1 negatifliği (İmmünperoksidaz; X200)



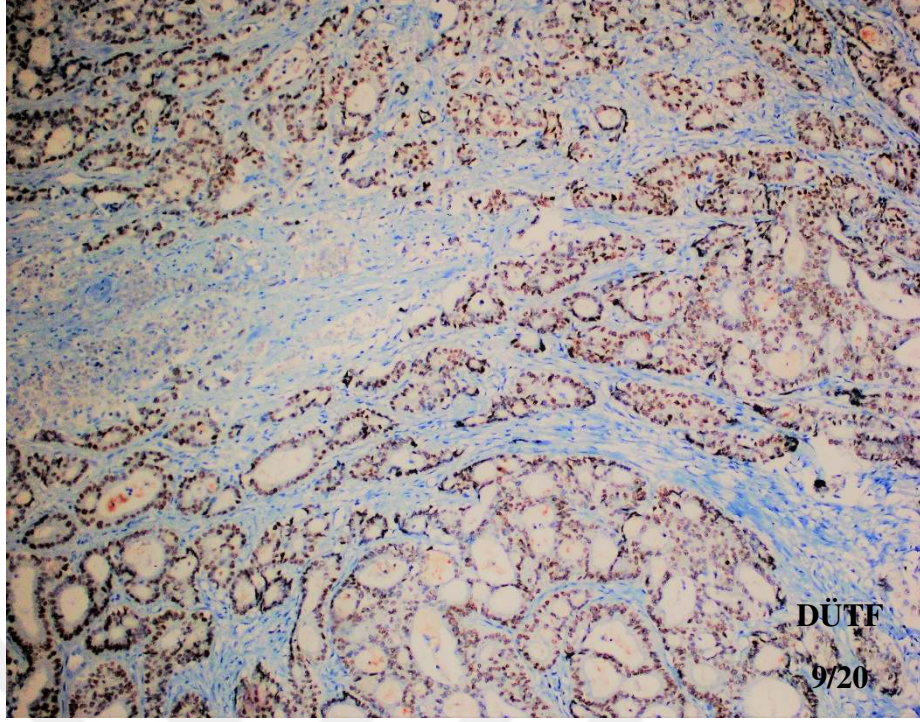
Şekil 21: Müsinöz adenokarsinom, PMS2 negatifliği (İmmünperoksidaz; X200)

4.2.2. SATB2 ekspresyonu

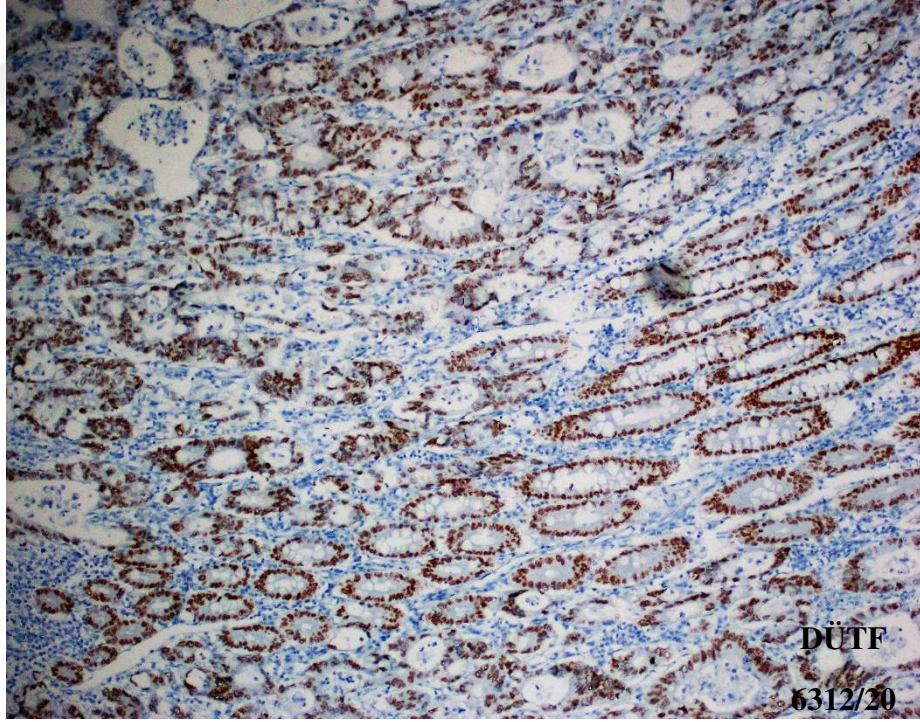
Olgularımızda SATB-2 ekspresyonu incelendiğinde 150 olgunun 42'si negatif (%28) izlendi. 69 olguda SATB2 ekspresyonu düşük (%46), 39 olguda ise SATB2 ekspresyonu yüksek (%26) izlendi.



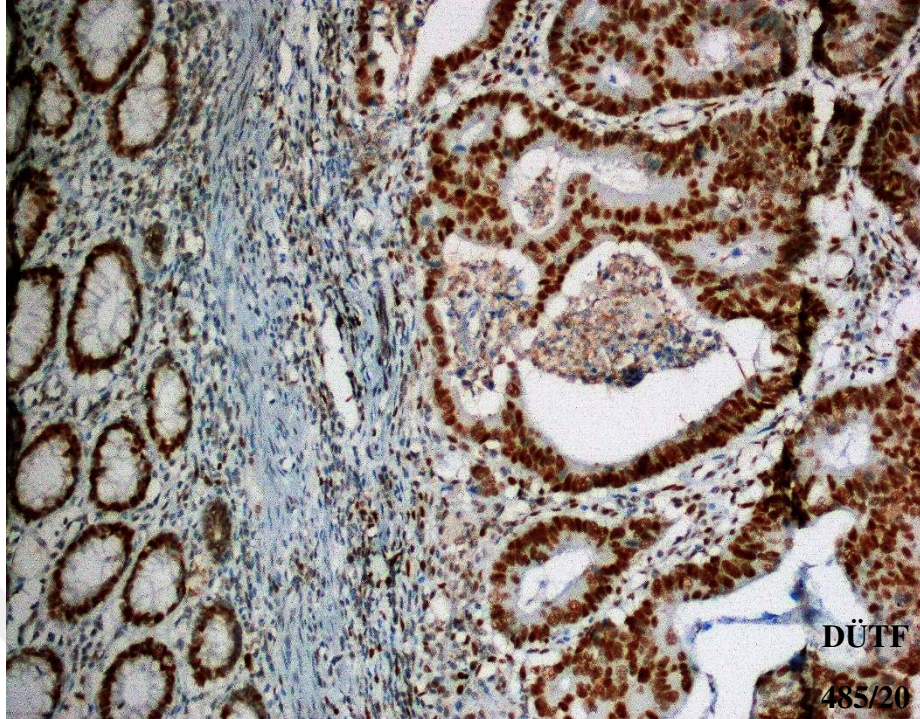
Şekil 22: Taşlı yüzük hücreli karsinom, SATB2 negatifliği (İmmünperoksidaz; X100)



Şekil 23: Orta derece diferansiye adenokarsinom, SATB2 zayıf şiddette pozitifliği (İmmünperoksidaz; X100)



Şekil 24: İyi diferansiye adenokarsinom, SATB2 orta şiddette pozitifliği (İmmünperoksidaz; X100)



Şekil 25: İyi diferansiye adenokarsinom, SATB2 güçlü şiddette pozitifliği (İmmünperoksidaz; X100)

4.2.3. İmmünohistokimyasal olarak MSI ile SATB2 arasındaki ilişki

Çalışmamızda SATB2 negatif olarak tespit edilen 42 olgunun 17'sinde(%40,5) ve SATB2 düşük ekspresyon gösteren 69 olgunun 22'sinde(%31,9) MMR hasarlı tespit edildi. İstatistiksel olarak dMMR ve SATB2 immünohistokimyasal ekspresyonları arasında anlamlı ilişki bulundu ($p=0,002$). İmmünohistokimyasal pMMR, dMMR ve SATB2 ekspresyonları arasındaki ilişki Tablo 19'da verilmiştir.

Tablo 19: MMR durumu ile SATB2 ekspresyon durumunun karşılaştırılması

MMR durumu				P değeri
pMMR		dMMR		
Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	

SATB2	Negatif	25	59,5	17	40,5	
	Düşük ekspresyon	47	68,1	22	31,9	0,002
	Yüksek ekspresyon	34	87,2	5	12,8	



5. TARTIŞMA

Kolon kanserleri gastrointestinal kanserler arasında en sık görülen tiptir[2]. Dünyada akciğer ve meme kanserlerinden sonra gelir ve kansere bağlı ölüm nedenleri arasında kadınlarda ikinci sırada, erkeklerde üçüncü sırada yer alır. Kolon kanserleri yüksek gelirli ülkelerde daha yüksek oranda görülmektedir ve görülme sıklığı büyük farklılıklar göstermektedir. Birçok düşük ve orta gelirli ülkede kolon kanserleri insidansı hızla artmaktadır ve genç erişkinlerde görülme insidansında artış eğilimleri bildirilmiştir. Kolon kanserlerinin %90'ını adenokanserler oluşturmaktadır[17]. Kolon kanserleri etyolojisinde çevresel ve genetik faktörler yer alır. Kolon kanserlerine yol açan 3 moleküler yolak vardır. Bunlar kromozomal instabilite (CIN), mikrosatellit instabilite (MSİ) ve CpG Adası Metilatör Fenotipi (CIMP) yolağıdır[35]. Sporadik kolon kanserlerinin %65-70'ini CIN yolağı oluşturur. Kromozom kayıpları ya da kazanımları ile seyreder. Buradaki mutasyonlar en sık APC, KRAS, PİK3A ve TP53 genlerinde olur[35]. Mikrosatellit instabilite DNA tamir genlerindeki defektlerden kaynaklanır ve kolon kanserlerinin %15'inden sorumludur. Bunların %12'si sporodik, %3'ü kalıtsaldır ve Lynch sendromuyla ilişkilidir[36]. MSİ ile karakterize tümörler daha çok kadın cinsiyet, proksimal kolon yerleşimi, kötü diferansiasyon, müsinöz özellikler, Crohn benzeri lenfositik yanıt, tümörü infiltre eden lenfosit varlığı, Evre 2 tümör ve az metastaz varlığı ile ilişkilidir. Kolon kanserli hastalarda mikrosatellit instabilite varlığını belirlemek Lynch sendromunu saptamada bir tarama aracı, prognostik bir belirteç ve kemoterapi/immünoterapiye yanıtta öngörücü bir belirteç olabileceğinden önemlidir[5]. MSİ kolon kanserleri dışında yaygın olarak endometriyal ve gastrik adenokarsinomlar olmak üzere diğer birçok kanser türünde de mevcuttur[26]. PCR'ye dayalı MSİ analizi, DNA mismatch repair genlerindeki germline mutasyonları saptamada altın standarttır[36]. Ancak birçok çalışmada MMR genlerinin mutasyon analizinden önce immünohistokimyasal yöntemin kullanımının basitlik, hazır bulunabilirlik, tekrarlanabilir özelliklerinden dolayı tarama yöntemi olarak kullanılabileceği gösterilmiştir[26, 37]. İHK'sal yöntem yüksek duyarlılık (>%90) ve özgüllük (%100) ile moleküler testlerle neredeyse eş değer bir öngörücülüğe sahiptir[27].

SATB2 transkripsiyonun düzenlenmesi ve kromatinin yeniden şekillenmesinde görev alır ve gen ekspresyonunu düzenler. SATB2 alt gastrointestinal

sistem epitel hücrelerinde eksprese edilir. Dolayısıyla alt gastrointestinal tümörlerde belirteç olarak kullanılabilir[9, 29-31].

Yapılan son çalışmalarda SATB2 tümör büyümesi veya baskılanması ile ilişkilendirilmiştir[9, 38]. SATB2'nin yüksek ekspresyonu kolon kanserlerinde olumlu prognoz göstergesidir ve kemoterapi ile radyasyona duyarlılık ile ilişkilidir[38].

Kolon kanserleri her 2 cinsiyette de en sık görülen kanserler arasında yer almaktadır (kadınlarda 2.sırada, erkeklerde 3.sırada)[2]. Çalışmamızda yer alan 150 olgunun 69'u kadın (%46), 81'i erkek(%54) olmak üzere erkek cinsiyet baskınlığı gözlenmektedir.

Kolon kanserleri çoğunlukla ileri yaş grubunu (>50 yaş) etkilemektedir. özellikle 65-79 yaş aralığında en yüksek seviyeye ulaşmaktadır. Çalışmamızda yer alan olguların en genci 22, en yaşlısı 94 yaşında olup yaş ortalaması $60,70 \pm 6.65$ olarak değerlendirilmiş ve literatürde belirtilen verilerle uyumlu görünmektedir. Ancak Vuik ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada özellikle 20-39 yaş arası denekler arasında daha belirgin olmak üzere 50 yaş altındaki popülasyonda kolorektal kanser insidansında artış görüldüğü tespit edilmiştir[39].

Kolon kanserleri sıklıkla sol taraf (splenik fleksuradan sigmoid kolona kadar herhangi bir yerde) ve rektum yerleşimli olarak görülmektedir[2]. Çalışmamızdaki olguların %56'sı sol kolon yerleşimli olup literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Kolon kanserlerinin gelişiminden birçok farklı yolak sorumlu olup bunlardan biri de MSİ yolağıdır. Bu yolak kanserlerin %15'inden sorumludur[5]. Literatürde yapılan bazı çalışmalarda, MSİ varlığı değişik ülkelerde %7,75-24,3 bir aralıkta tespit edilmiştir. Farklı MSİ insidanslarının tespiti farklı genetik geçmişlere ve test tekniklerine dayandırılmıştır[21]. Bizim çalışmamızda ise olguların %29.3'ünde dMMR tespit edilmiş olup; genel ortalamanın üstünde izlenmiştir.

MMR proteinleri hücre içinde heterodimer kompleksleri halinde bulunur. Kolorektal karsinogenezde en yaygın görülen heterodimerler MLH-1/PMS-2 ve MSH-2/MSH-6'dır. MLH-1 ve MSH-2 heterodimerlerin ana, zorunlu ortaklarıdır. İlgili gen mutasyona uğradığında MLH-1'de kayıp gerçekleşir ise PMS-2'nin, MSH-2'de kayıp

gerçekleşir ise MSH-6'nın ekspresyonlarında da kayıplar görülecektir. Fakat bunun tersi durum doğru değildir[36]. PMS-2 ve MSH-6 gen mutasyonları çoğu zaman sadece kodlanmış proteinlerin kaybına neden olur, çünkü işlevleri MSH-3, MLH-3 veya PMS-1 gibi diğer MMR proteinleri ile telafi edilebilir[27]. Literatürde immünohistokimyasal yöntemle MMR proteinlerinin ekspresyon kaybını gösteren çoğu çalışmada en sık MLH-1 ve PMS-2'nin birlikte kaybı gözlenir. Bunu sırasıyla MSH-2 ve MSH-6'nın birlikte kaybı, ardından tek başına MSH-6 ve tek başına PMS-2 kaybı izler[36]. Bizim çalışmamızda en az 1 proteinde ekspresyon kaybı gösteren 44 vakanın 20'sinde (%45,5) MLH-1 ve PMS-2 birlikte kaybı en sık patern olarak tespit edildi. 8 olguda (18,2) MSH-2 ve MSH-6 proteinlerinin ekspresyon kaybı izlenmiş olup 2.sırada yer aldı ve bu sıralama literatür ile uyumlu bulundu. 3.sırada 6'şar olgu (%13,7) ile izole MLH-1 ve PMS-2 ekspresyon kayıpları gözlemlendi. İzole MSH-6 kaybı yalnızca 1 olguda görüldü. Bu sık görülen paternler haricinde nadir olarak beklenmedik anormal ekspresyon kaybı paterni izlenen çalışmalar da mevcuttur[36, 40]. Çalışmamızda da nadir paternler izlendi, ancak sayılarının azlığı nedeniyle tek başlarına klinik önemleri değerlendirilemedi.

Literatürde MSI varlığı kadın cinsiyet ve sağ kolon yerleşimi ile ilişkilendirilmiştir[5]. Batur ve ark. tarafından 145 olgu üzerinde yapılan bir çalışmada MSI tespit edilen vakaların baskın olarak kadın cinsiyette gözlemlendiği ve sağ kolonda daha sık yerleşim gösterdiği tespit edilmiştir[41]. Lin ve ark.'nın çalışmasında ise MSI/MSS grupları arasında cinsiyet açısından anlamlı fark olmadığı saptanırken[42], Shapochka ve ark. MSI'yi erkek cinsiyette anlamlı oranda daha yüksek saptamışlardır[43]. Çalışmamızda MMR protein ekspresyon kaybı tespit edilen 44 olgunun 16'sını(%23,2) kadın cinsiyet, 28'ini erkek cinsiyet(%34,6) oluşturmaktadır. Erkek cinsiyet baskınlığı mevcut olsa da, dMMR ile erkek cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Taieb ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada 1869 vakanın %20'si proksimal kolon yerleşimli, %3,4'ü distal kolon yerleşimli tespit edilmiş ve MSI ile proksimal kolon yerleşimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır[44]. Niu ve ark. ise sağ kolon tümörlerinde %8,86, sol kolon tümörlerinde %6,67 oranlarıyla MSI'yi sağ kolonda daha sık yerleşimli olarak tespit etmişlerdir [45]. Bizim çalışmamızda MMR protein ekspresyon kaybı tespit edilen 44 olgunun 30'u(%68) sağ kolon yerleşimli olup, literatür ile uyumlu bulunmuştur.

MSİ genellikle genç yaşlarda ortaya çıkar (<50 yaş) [5]. Goldstein ve ark. 'nın yaptığı bir çalışmada metastatik MSI-H tanılı 55 vakanın yaş ortalamasını 67 olarak tespit etmiştir[46]. Çalışmamızda MSİ tespit edilen 44 olgudan en genci 27, en yaşlısı 94 yaşında olup yaş ortalaması 58,68 olarak değerlendirildi. Çalışmamızda MMR protein ekspresyon kaybı tespit edilen vakaların yaş ortalaması literatüre yakın değerlerde izlenmiştir.

Müsinöz diferansiasyon ve kötü diferansiasyon MSİ ile ilişkili bir histomorfolojik özelliktir[5, 36, 47]. Greenson ve ark.'ları tarafından yürütülen bir çalışmada ise sadece müsinöz adenokarsinomların değil, aynı zamanda %50'den az müsinöz bileşene sahip tümörlerin de MSİ ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir[48]. Karahan ve ark. 'nın yaptığı bir çalışmada MMR proteinlerinden en az biri ile negatiflik saptanan olgularda kötü diferansiye karsinom morfolojisi ve müsinöz morfoloji saptanmıştır[47].

Çalışmamızda MMR protein ekspresyon kaybı tespit edilen 44 olgudan 13'ü 1.derece, 17'si 2.derece, 6'sı 3.derece adenokarsinom idi. 8 vaka ise müsinöz adenokarsinomdu. Çalışmamızda tümörün histolojik derecesi ve tümör tipi ile dMMR arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi bu da müsinöz adenokarsinom/müsinöz diferansiasyon içeren adenokarsinomların ve az diferansiye adenokarsinomların sayısının az olması ile ilişkilendirildi.

Literatürde MSİ, evre 2 tümörlerde daha sık oranda gözlenmiştir. Dubey, A.P. ve ark.'ları tarafından yapılan çalışmada MSİ, yaklaşık %20 oranında evre 2, yaklaşık %12 oranında da evre 3 vakalarda tespit edilmiştir[49]. Angelis ve arkadaşları da MSİ'nin evre 2 tümörlerde daha sık tespit edildiğini belirtmiştir[5]. Çalışmamızda MMR protein ekspresyon kaybı tespit edilen 44 olgudan 24'ü Evre 2(%54,6) olarak izlenmiş bunu 13 vaka (%29,5) ile Evre 3 takip etti ve literatür ile uyumlu bulundu fakat istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi.

Kolon kanserli hastalarda LVİ önemli prognostik parametrelerden biridir. Lenfatik invazyon hem lenf nodu metastazı hem de uzak organ metastazı varlığı ile ilişkilidir. Lim ve ark.'nın yaptığı 2417 kolorektal kanser vakasından oluşan bir çalışmada, olguların %25.2'sinde LVİ tespit edilmiş, LVİ varlığının ileri evre ve sistemik metastaz varlığı ile ilişkili olduğu sonucu ortaya çıkmıştır. Yine aynı

çalışmada LVI varlığının sağkalım açısından kötü prognostik faktör olduğu gösterilmiştir [50]. Hu ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada 551 kolorektal kanserli vakada, MSI olgularda %23,3, MSS olgularda %50,6 oranında lenf nodu metastazı tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak MSS ile lenf nodu metastazı arasında anlamlı ilişki saptanmıştır[51]. Çalışmamızda MMR protein ekspresyon kaybı tespit edilen 44 olgunun 12'sinde(%27,3) LVI, MSS tespit edilen 106 olgunun ise 32'sinde LVI saptandı (%30,2). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte LVI, MSS olgularda literatür ile uyumlu olarak daha yüksek bulundu. Çalışmamızdaki lenf nodu metastazı yapan 60 olgu incelendiğinde 17'sinde(%28,3) dMMR, 43'ünde(%71,7) MSS durumu mevcuttu. Lenf nodu metastazı ile dMMR arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi fakat literatür ile uyumlu olarak lenf nodu metastazı MMR sağlam olan olgularda yüksek oranda izlendi.

PNİ kolon kanserlerinde kötü bir prognostik faktörlerden biridir. Alotaibi ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada PNİ insidansı %14,8 olarak bulunmuş ve artmış rekürrens ile azalmış 5 yıllık sağkalım ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir[52]. Hu ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise PNİ, MSI olgularda %40, MSS olgularda %46,3 oranlarında tespit edilmiştir[51]. Çalışmamızda MMR protein ekspresyon kaybı tespit edilen 44 olgunun 7'sinde(%15,9), MMR sağlam tespit edilen 106 olgunun 34'ünde(%32,1) PNİ saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamasına rağmen literatüre uygun olarak PNİ, MMR sağlam olgularda daha yüksek oranda görüldü.

Literatürde kolorektal karsinomlarda mikrosatellit durumu ile histomorfolojik özelliklerin araştırıldığı çoğu çalışmada tümörü infiltre eden lenfositler ile Crohn benzeri lenfositik yanıtın MSI ile ilişkili olduğu gösterilmiştir[5]. Rozek ve ark.'nın yaptığı çalışmada MSI olguların %58,7'sinde CBLR, %56,3'ünde TİEL, MSS olguların %45,3'ünde CBLR ve %22,6 'sında TİEL izlenm saptanmıştır[53]. Bizim çalışmamızda MMR protein ekspresyon kaybı tespit edilen 44 olgudan 25'inde(%42,4) tümörü infiltre eden lenfosit varlığı, 32'sinde(%50) crohn benzeri lenfoid reaksiyon varlığı izlenmiş olup literatür ile uyumlu bulundu.

İlk olarak Magnusson ve ark. tarafından 2011 yılında yapılan çalışmada SATB2, alt gastrointestinal kanalın hem normal hem de malign hücrelerinde nükleer ekspresyon gösteren bir protein olduğu tanımlanmıştır. Yine bu çalışmada SATB2,

incelenen kolorektal mukozanın esasen tüm normal glandüler hücrelerinde ve tüm primer KRK'lerin %85'inden fazlasında ve tüm KRK metastazlarının %81'inde eksprese edilmiştir. Böylece, SATB2'nin KRK için tanısal bir biyobelirteç olarak işlev görebileceği ortaya konmuştur[54]. Bizim çalışmamızda 150 olgunun 108'inde (%72) SATB2 ekspresyonu izlenmiş olup, 42 olguda(%28) SATB2 ekspresyonu izlenmedi.

Çalışmamızda SATB2 ekspresyonu gösteren 108 olgunun 39'u(%36,1) sağ kolon, 69'u(%63,9) sol kolon yerleşimli olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ve literatür ile uyumlu bulundu. Mezheyeuski ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada SATB2 pozitif vakalar sıklıkla sol kolon yerleşimli olup, SATB2 düşük ekspresyon gösteren tümörler sağ kolonda daha yüksek, SATB2 yüksek ekspresyon gösteren tümörler sol kolonda daha yüksek oranda yerleşim göstermiştir[55]. Çalışmamızda ise hem düşük hem de yüksek SATB2 ekspresyon gösteren vakalar ağırlıklı olarak sol kolon yerleşimli olarak saptandı.

Magnusson ve ark.'ları tarafından yapılan çalışmada SATB2, iyi diferansiye tümörlerde daha yüksek ve az diferansiye tümörlerde daha düşük eksprese olmak üzere farklılık göstermiştir. Yine aynı çalışmada primer tümörün cerrahi evresine bakıldığında SATB2, %92.4 evre I, %91.4 evre II ve %83.7 evre III/IV olmak üzere pozitiflik saptanmıştır. Özellikle ileri hastalık evrelerinde SATB2 ekspresyonunun kaybı dikkat çekicidir. Ayrıca az diferansiye tümörler yanı sıra metastatik tümörlerde de SATB2 ekspresyonu düşük bulunmuştur. Burdan yola çıkarak SATB2'nin downregülasyonunun, kolon kanserlerinin büyümesinde ve yayılmasında rol oynayabileceğine dikkat çekmişlerdir[54]. Çalışmamızda az diferansiye tümör sayısı 12 olup, 7'sinde(%58,3) SATB2 negatif izlendi ve literatür ile uyumlu bulundu. Çalışmamızda yer alan 17 adet müsinöz adenokarsinomdan 9'unda (%52,9), 1 adet taşlı yüzük hücreli karsinom vakasında da SATB2 negatif izlendi. Çalışmamızda SATB2 negatif olarak değerlendirilen 42 olgunun %9,5'u Evre 1, %31'i Evre 2, %67,5'i Evre 3/4 olarak izlendi ve literatür ile uyumlu bulundu. SATB2 pozitif vakalara bakıldığında ise %14,8'i Evre 1, %49,1'i Evre 2, %36,1'i Evre 3/4 olarak izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmasına rağmen Evre 1 vakalarda düşük oranda pozitiflik izlendi. Bu da Evre 1 vaka sayısının az olması ile ilişkilendirildi.

Ma ve ark.'ları tarafından yapılan çalışmada SATB2-pozitif tümörler ile karşılaştırıldığında, SATB2-negatif tümörler daha sıklıkla yüksek tümör derecesi, lenfatik invazyon, venöz invazyon ve perinöral invazyon dahil olmak üzere olumsuz histolojik özellikler sergilemiştir[28]. Eberhard ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise SATB2 ekspresyonu ile T, N evreleri, tümörün diferansiyasyon derecesi ve vasküler invazyon arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır[34]. Çalışmamızda SATB2 negatif 42 olgunun 8'sinde(%19,1) LVİ, 11'inde(%26,2) PNİ , SATB2 pozitif saptanan 108 olgunun 36'sında (%33,3) LVİ ve 30'unda (%27,8) PNİ tespit edildi ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Ayrıca çalışmamızda yüksek SATB2 ekspresyonuna sahip olan vakaların lenf nodu metastazı ve uzak organ metastazı SATB2 negatif olan vakalara göre daha az oranda izlendi ve literatür ile uyumlu bulundu.

Eberhard ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada kolorektal tümörlerde adjuvan kemoterapi ve/veya neoadjuvan tedavi alan hastalar değerlendirilmiş ve SATB2 yüksek tümörleri olan hastaların önemli ölçüde iyileştirilmiş 5 yıllık bir genel sağkalıma sahip olduğu tespit edilmiştir. Tümörler SATB2 negatif (NS = 0) ve SATB2 pozitif (NS>0) olarak sınıflandırıldığında, sağkalım üzerindeki etki, adjuvan ve/veya neoadjuvan tedaviye göre farklılık göstermediği de ortaya konmuş olup neticede kolorektal kanserlerde yüksek SATB2 ekspresyonunun iyi prognostik faktör olabileceğini tespit etmişlerdir[34]. Mezheyeuski ve ark.'ları tarafından yapılan çalışmada 760 hastadan oluşan grupta SATB2 düşük ve yüksek ekspresyona sahip tümörler karşılaştırıldığında, düşük SATB2 ekspresyonunun önemli ölçüde zayıf sağkalım ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada birinci basamak kemoterapi alan hasta grubunda, tedavi grubuna bakılmaksızın yüksek SATB2 ekspresyonuna sahip hastalarda düşük SATB2 ekspresyonu gösteren hastalara kıyasla medyan sağkalım daha uzun olarak tespit edilmiştir[55]. Çalışmamızda genel sağkalım değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen MSS grubunda ölüm oranı daha yüksek izlendi. Yine SATB2 ekspresyonuna bakıldığında SATB2 negatif tümörlerde ölüm oranı daha yüksek oranda, SATB2 yüksek ekspresyonu saptanan vakalarda ölüm oranı daha düşük oranda gözlendi ve literatür ile uyumlu bulundu.

Kolon kanserlerinde mikrosatellit instabilite varlığı genellikle iyi sağkalım ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, MMR proteini eksik tümörleri olan bir hasta alt

grubu, nüks geliştirebilir ve hastalıktan ölebilir. Bu, MMR proteini eksik tümörleri olan hastaları prognostik gruplara ayırmak için ek biyobelirteçlere ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Ma ve ark.'larının yaptığı 514 kolon kanserinden oluşan bir çalışmada SATB2 ekspresyon durumu ile MMR proteinlerinin durumu karşılaştırılmış ve negatif SATB2 ekspresyonuna sahip adenokarsinomlar ile MMR protein durumu karşılaştırıldığında arada hiçbir fark izlenmemiştir (MMR proteini eksik %15 ve MMR proteini yeterli, %13, $p=0.5$). Bununla birlikte, MMR proteini eksik adenokarsinomlar, MMR proteini yeterli adenokarsinoma kıyasla önemli ölçüde daha düşük bir SATB2 ekspresyonu göstermiştir[28]. Çalışmamızda MMR protein ekspresyon kaybı tespit edilen 44 olgunun 17'sinde(%38,6) SATB2 negatif, 22'sinde(%50) SATB2 düşük ekspresyon, 5'inde (%11,4) ise SATB2 yüksek ekspresyon gösterdi. MMR sağlam tespit edilen grupta ise 106 olgudan 25'inde (%23,6) SATB2 negatif, 47'sinde (%44,3) SATB2 düşük ekspresyon, 34'ünde (%32,1) SATB2 yüksek ekspresyon gösterdi. dMMR grubunda, MMR sağlam gruba göre SATB2 negatif ve SATB2 düşük ekspresyon gösteren vakalar daha yüksek oranda izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çalışmamızda; MMR protein ekspresyon kaybı tespitinde histopatolojik parametrelerin önemini ve dMMR tespitinin, prognozu, hasta sağkalımını öngörme ve tedaviyi yönlendirmede önem arz ettiği sonucuna vardık. Chen ve ark.'nın yaptığı çalışmada MSI tespitinde kullanılan immünohistokimya ve PCR yöntemleri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmaya göre 500 vakanın sadece 7'sinde immünohistokimyasal olarak MMR protein ekspresyon kaybı izlenmemesine rağmen PCR ile MSI-H olarak tespit edilmiştir ve eğer immünohistokimyasal olarak MMR protein kaybı yoksa ileri incelemeye gerek olmadığını, immünohistokimyasal çalışmanın yeterli olacağını öne sürmüşlerdir[21].

Çalışmamızda SATB2 ekspresyonunun sağkalım ve MMR protein ekspresyon kaybı ile olan ilişkisi değerlendirildi. SATB2 yüksek ekspresyonun literatür ile uyumlu olarak sağkalım üzerine olumlu etkisi tespit edildi. Ayrıca dMMR grubunda SATB2 ekspresyonu negatif ve düşük vakalar daha sık oranda izlendi.

6. SONUÇLAR

- Çalışmamızda Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2010-2020 yılları arasında kolon adenokarsinomu tanısı alan ve rezeksiyon uygulanan 150 hasta incelendi.
- Çalışmada mevcut olan 150 hastanın yaş ortalaması $63,00 \pm 16,31$ (en düşük 22, en yüksek 94) olarak saptandı.
- Hastaların %46'sı kadın (n=69) ve %54'ü erkekti (n=81).
- Olguların 17'si müsinöz adenokarsinom(%11,3), 1'i taşlı yüzük hücreli karsinom(%0,7) ve 132'si Adenokarsinom, NOS (%88) olarak değerlendirildi.
- Adenokarsinom, NOS tanılı vakalardan 50'si 1.derece(%33,3), 70'i 2.derece(%46,7), 12'si 3. Derece(%8) olarak belirlendi.
- Tümörlerin 66'sı sağ kolon (%44), 84'ü sol kolon (%56) yerleşimliydi.
- Olguların 60'ında (%40) bölgesel lenf nodu, 37'sinde(%24,6) uzak metastaz mevcut idi.
- Olguların 20'si Evre 1(%13,3), 66'sı Evre 2(%44), 57'si Evre 3(%38), 7'si evre 4(%4,7) olarak saptandı.
- Olguların 59'unda (%39,3) tümörü infiltrate eden lenfosit varlığı izlenmiş olup, 91'inde (%60,7) tümörü infiltrate eden lenfosit varlığı izlenmedi.
- Olguların 64'ünde (%42,7) crohn benzeri lenfoid reaksiyon izlenmiş olup, 86'sında (%57,3) crohn benzeri lenfoid reaksiyon izlenmedi.
- Olguların 44'ünde(%29,3) lenfovasküler invazyon saptandı, 106'sında(%70,7) ise LVI saptanmadı.
- Olguların 41'inde(%27,3) perinöral invazyon saptandı. 109 (%72,7) olguda ise PNI saptanmadı.
- 150 olgunun 29'u(%19,39) mevcut çalışma sırasında ölü olarak tespit edildi.
- 150 olgudan 44'ünde dMMR(%29,3) tespit edildi ve literatüre göre yüksek bulundu.
- Çalışmamızda en az 1 MMR proteininde ekspresyon kaybı gösteren 44 vakanın 20'sinde (%45,5) MLH1 ve PMS2 birlikte kaybı en sık patern olarak tespit edildi. 8 olguda (%18,2) MSH-2 ve MSH-6 proteinlerinin ekspresyon kaybı izlenmiş olup 2.sırada yer aldı ve bu sıralama literatür ile uyumlu bulundu.

- dMMR saptanan olguların yaş ortalaması $58,68 \pm 16,503$ olarak tespit edildi.
- dMMR saptanan olguların %63,6'sı erkek, %36,4'ü kadındı, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.
- dMMR saptanan olguların %68'i sağ kolon yerleşimliydi ve literatür ile uyumlu bulundu.
- Müsinöz diferansiasyon MSS grubunda daha sık izlendi fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi.
- dMMR sıklıkla Evre 2 tümörlerde daha sık gözlemlendi fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi.
- Crohn benzeri lenfositik reaksiyon ve tümörü infiltre eden lenfosit varlığı ile dMMR arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcuttu ve literatür ile uyumlu izlendi.
- dMMR varlığı ile LVİ ve PNI arasında anlamlı ilişki saptanmadı.
- dMMR varlığı ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı fakat dMMR grubunda ölüm oranı, MSS grubuna göre daha az oranda izlendi.
- Çalışmamızda SATB2 ekspresyonu 150 olgunun 42'sinde (%28) negatif, 69 olguda (%46) düşük, 39 olguda (%26) ise yüksek izlendi.
- SATB2 ekspresyonu ile yaş ve cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi.
- SATB2 ekspresyonu negatif vakaların çoğunluğu sağ kolon, pozitif vakaların çoğunluğu ise sol kolon yerleşimli olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlendi.
- Çalışmamızda SATB2 negatif tümörler ile yüksek histolojik derece arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlendi.
- SATB2 negatif olarak değerlendirilen 42 olgunun %67,5'i Evre 3/4 olarak izlendi ve istatistiksel olarak anlamlı saptandı.
- SATB2 negatif olan tümörlerde daha sık lenf nodu metastazı izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı izlendi. Ancak SATB2 ekspresyonu ile uzak organ metastazı arasında anlamlı ilişki saptanmadı.
- SATB2 ekspresyonu ile LVİ ve PNI arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

- Çalışmamızda SATB2 negatif tümörlerde ölüm oranı daha yüksek oranda, SATB2 yüksek ekspresyonu pozitif saptanan vakalarda ölüm oranı daha düşük oranda gözlendi ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu.
- Çalışmamızda dMMR grubunda, MSS grubuna göre SATB2 negatif ve SATB2 düşük ekspresyon gösteren vakalar daha yüksek oranda izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu.



7. KAYNAKÇA

1. Vinay Kumar, A.K.A., Jon C. Aster,, *The Gastrointestinal Tract*, in *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease*. 2020.
2. Nagtegaal ID, A.M., Odze RD, Lam AK, *Tumours of the colon and rectum*, in *Who Classification of Tumours* 2019.
3. oncology, A.s.o.c. *Colorectal Cancer: Types of Treatment*. 2021.
4. Sagaert, X., A. Vanstapel, and S. Verbeek, *Tumor Heterogeneity in Colorectal Cancer: What Do We Know So Far?* Pathobiology, 2018. **85**(1-2): p. 72-84.
5. De' Angelis, G.L., et al., *Microsatellite instability in colorectal cancer*. Acta Biomed, 2018. **89**(9-s): p. 97-101.
6. Schmitt, M., et al., *Loss of SATB2 Occurs More Frequently Than CDX2 Loss in Colorectal Carcinoma and Identifies Particularly Aggressive Cancers in High-Risk Subgroups*. Cancers (Basel), 2021. **13**(24).
7. Taieb, J., et al., *Prognosis of microsatellite instability and/or mismatch repair deficiency stage III colon cancer patients after disease recurrence following adjuvant treatment: results of an ACCENT pooled analysis of seven studies*. Ann Oncol, 2019. **30**(9): p. 1466-1471.
8. Chang, L., et al., *Microsatellite Instability: A Predictive Biomarker for Cancer Immunotherapy*. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2018. **26**(2): p. e15-e21.
9. Tao, W., et al., *SATB2 drives glioblastoma growth by recruiting CBP to promote FOXM1 expression in glioma stem cells*. EMBO Mol Med, 2020. **12**(12): p. e12291.
10. Dumlu, E.G., M. Tokac, and D. Karakoc, *Colorectal Embryology and Anatomy*, in *Colon Polyps and the Prevention of Colorectal Cancer*, O. Engin, Editor. 2015, Springer International Publishing: Cham. p. 1-12.
11. Malone, J.C. and A.B. Shah, *Embryology, Midgut*, in *StatPearls*. 2021, StatPearls Publishing Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).
12. Goldblum, J.R., *Large Bowel*, in *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. 2018.
13. Uzunköy, D.A., *Kolorektal Anatomisi*. Türkiye Klinikleri J Gen Surg-Special Topics. 2009;2(3):1-7, 2009.
14. Kuipers, E.J., et al., *Colorectal cancer*. Nature Reviews Disease Primers, 2015. **1**(1): p. 15065.
15. Testa, U., E. Pelosi, and G. Castelli, *Colorectal cancer: genetic abnormalities, tumor progression, tumor heterogeneity, clonal evolution and tumor-initiating cells*. Med Sci (Basel), 2018. **6**(2).
16. *Kalın Barsak Hastalıkları*, in *Gastrointestinal Patoloji* 2015.
17. *Genetic tumour syndromes of the digestive system*, in *Who Classification of Tumours Digestive System Tumours*, C.F. Arends MJ, Lax SF, Lazar AJ, Editor. 2019.
18. *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*. 6th ed. Vol. Vol II. 2015.
19. Elizabeth A. Montgomery, L.V., *Gastrointestinal Traktüs Mukozası Biyopsilerinin Yorumu*. Vol. vol 2. 2018.
20. Odze RD, H.N., *Inflammatory bowel disease-associated dysplasia of the colorectum*, in *WHO Classification of Tumours Digestive System Tumours*. 2019.
21. Chen, M.L., et al., *Comparison of microsatellite status detection methods in colorectal carcinoma*. Int J Clin Exp Pathol, 2018. **11**(3): p. 1431-1438.

22. Kakar S, S.C., Berho ME, Driman DK, Fitzgibbons P, Frankel WL, et al. , *Protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum*. College of American pathologists. 2017.
23. Kim, J.H., et al., *Comparative validation of assessment criteria for Crohn-like lymphoid reaction in colorectal carcinoma*. J Clin Pathol, 2015. **68**(1): p. 22-8.
24. Jakubowska, K., et al., *Stromal and intraepithelial tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal carcinoma*. Oncol Lett, 2017. **14**(6): p. 6421-6432.
25. Chen, W., B.J. Swanson, and W.L. Frankel, *Molecular genetics of microsatellite-unstable colorectal cancer for pathologists*. Diagn Pathol, 2017. **12**(1): p. 24.
26. McCarthy, A.J., et al., *Heterogenous loss of mismatch repair (MMR) protein expression: a challenge for immunohistochemical interpretation and microsatellite instability (MSI) evaluation*. J Pathol Clin Res, 2019. **5**(2): p. 115-129.
27. Cionca, F.L., et al., *Mutational status of KRAS and MMR genes in a series of colorectal carcinoma cases*. Rom J Morphol Embryol, 2018. **59**(1): p. 121-129.
28. Ma, C., et al., *SATB2 and CDX2 are prognostic biomarkers in DNA mismatch repair protein deficient colon cancer*. Mod Pathol, 2019. **32**(8): p. 1217-1231.
29. Berg, K.B. and D.F. Schaeffer, *SATB2 as an Immunohistochemical Marker for Colorectal Adenocarcinoma: A Concise Review of Benefits and Pitfalls*. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, 2016. **141**(10): p. 1428-1433.
30. Yu, W., et al., *SATB2/ β -catenin/TCF-LEF pathway induces cellular transformation by generating cancer stem cells in colorectal cancer*. Scientific Reports, 2017. **7**(1): p. 10939.
31. Meagher, N.S., et al., *A combination of the immunohistochemical markers CK7 and SATB2 is highly sensitive and specific for distinguishing primary ovarian mucinous tumors from colorectal and appendiceal metastases*. Mod Pathol, 2019. **32**(12): p. 1834-1846.
32. Kreso, A. and J.E. Dick, *Evolution of the cancer stem cell model*. Cell Stem Cell, 2014. **14**(3): p. 275-91.
33. Liu, T.R., et al., *Decreased expression of SATB2: a novel independent prognostic marker of worse outcome in laryngeal carcinoma patients*. PLoS One, 2012. **7**(7): p. e40704.
34. Eberhard, J., et al., *A cohort study of the prognostic and treatment predictive value of SATB2 expression in colorectal cancer*. Br J Cancer, 2012. **106**(5): p. 931-8.
35. Al-Sohaily, S., et al., *Molecular pathways in colorectal cancer*. J Gastroenterol Hepatol, 2012. **27**(9): p. 1423-31.
36. Yuan, L., et al., *Immunohistochemistry and microsatellite instability analysis in molecular subtyping of colorectal carcinoma based on mismatch repair competency*. Int J Clin Exp Med, 2015. **8**(11): p. 20988-1000.
37. Beamer, L.C., et al., *Reflex immunohistochemistry and microsatellite instability testing of colorectal tumors for Lynch syndrome among US cancer programs and follow-up of abnormal results*. J Clin Oncol, 2012. **30**(10): p. 1058-63.
38. Mansour, M.A., et al., *SATB2 suppresses the progression of colorectal cancer cells via inactivation of MEK5/ERK5 signaling*. Febs j, 2015. **282**(8): p. 1394-405.
39. Vuik, F.E., et al., *Increasing incidence of colorectal cancer in young adults in Europe over the last 25 years*. Gut, 2019. **68**(10): p. 1820-1826.
40. Watson, N., et al., *Heterogeneous Staining for Mismatch Repair Proteins during Population-Based Prescreening for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer*. The Journal of Molecular Diagnostics, 2007. **9**(4): p. 472-478.

41. Batur, S., et al., *Microsatellite instability and B-type Raf proto-oncogene mutation in colorectal cancer: Clinicopathological characteristics and effects on survival*. Bosn J Basic Med Sci, 2016. **16**(4): p. 254-260.
42. Lin, E.I., et al., *Mutational profiling of colorectal cancers with microsatellite instability*. Oncotarget, 2015. **6**(39): p. 42334-44.
43. Shapochka, D., O. Селезньов, and O. Sulaieva, *Microsatellite Instability in Colorectal Carcinoma: Does Sex Matter?* Archives of pathology & laboratory medicine, 2018. **142**: p. e192.
44. Taieb, J., et al., *Association of Prognostic Value of Primary Tumor Location in Stage III Colon Cancer With RAS and BRAF Mutational Status*. JAMA Oncol, 2018. **4**(7): p. e173695.
45. Niu, W., et al., *Correlation between microsatellite instability and RAS gene mutation and stage III colorectal cancer*. Oncol Lett, 2019. **17**(1): p. 332-338.
46. Goldstein, J., et al., *Multicenter retrospective analysis of metastatic colorectal cancer (CRC) with high-level microsatellite instability (MSI-H)*. Ann Oncol, 2014. **25**(5): p. 1032-8.
47. Karahan, B., et al., *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): p. 4044-53.
48. Greenson, J.K., et al., *Phenotype of microsatellite unstable colorectal carcinomas: Well-differentiated and focally mucinous tumors and the absence of dirty necrosis correlate with microsatellite instability*. Am J Surg Pathol, 2003. **27**(5): p. 563-70.
49. Dubey, A.P., et al., *Microsatellite instability in stage II colorectal cancer: An Indian perspective*. Indian J Cancer, 2016. **53**(4): p. 513-517.
50. Lim, S.B., et al., *Prognostic significance of lymphovascular invasion in sporadic colorectal cancer*. Dis Colon Rectum, 2010. **53**(4): p. 377-84.
51. Hu, J., et al., *Coexistence of MSI with KRAS mutation is associated with worse prognosis in colorectal cancer*. Medicine (Baltimore), 2016. **95**(50): p. e5649.
52. Alotaibi, A.M., et al., *Prognostic and Oncologic Significance of Perineural Invasion in Sporadic Colorectal Cancer*. Ann Surg Oncol, 2017. **24**(6): p. 1626-1634.
53. Rozek, L.S., et al., *Tumor-Infiltrating Lymphocytes, Crohn's-Like Lymphoid Reaction, and Survival From Colorectal Cancer*. J Natl Cancer Inst, 2016. **108**(8).
54. Magnusson, K., et al., *SATB2 in combination with cytokeratin 20 identifies over 95% of all colorectal carcinomas*. Am J Surg Pathol, 2011. **35**(7): p. 937-48.
55. Mezheyeuski, A., et al., *Metastatic colorectal carcinomas with high SATB2 expression are associated with better prognosis and response to chemotherapy: a population-based Scandinavian study*. Acta Oncol, 2020. **59**(3): p. 284-290.