

T1202



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

KOLOREKTAL ADENOKARSİNOMLARDA TÜMÖR HÜCRELERİNİN NM23, CATHEPSİN D VE B-HCG İLE BOYANMA ÖZELLİKLERİNİN TÜMÖR STAGE, GRADE VE HASTA YAŞAM SÜRELERİ İLE OLAN İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

(Uzmanlık Tezi)

T1202/1-1

Dr. Gülgün ERDOĞAN

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
Merkezi Kütüphanesi

Tez Danışmanı : Doç.Dr. Tekinalp GELEN

'Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonunca 99.02.0103.02 Proje No ile Desteklenmiştir'

"Tezimden Kaynakça Gösterilerek Yararlanılabilir"

Antalya, 2001

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sırasında bilgi ve becerilerinden faydalandığım saygıdeğer hocalarıma, tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Tekinalp Gelen'e, klinik verilerinin elde edilmesinde katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Okan Erdoğan ve Yrd. Doç. Dr. Taner Çolak'a immünohistokimyasal boyalarda büyük emek harcayan Uz. Biol.Nuran Keleş ve Serpil Ergün'e, diğer laboratuvar çalışanlarına ve birlikte çalışmaktan zevk aldığım asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Dr. Gülgün Erdoğan
Antalya,2001

İÇİNDEKİLER

Sayfa No :

Giriş ve Amaç	1 - 3
Genel Bilgiler	4 - 26
Materyal ve Metod	27 - 34
Bulgular	35 - 63
Tartışma	64 - 76
Sonuçlar	77 - 83
Özet	84 - 85
Kaynaklar	86 - 99

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kolorektal karsinomlar, tüm dünyada 3. sıklıkla izlenen ve kansere bağlı ölüm nedenleri arasında akciğer karsinomlarından sonra 2 sırada yer alan tümörlerdir (1,2,3,4). Görülme sıklığı ırksal ve bölgesel faktörlerle ilişkili olup endüstriyel toplumlarda daha sık izlenirler. Kolorektal karsinom insidansı genelde 40-60 yaş arasında pik yapar ve erkek kadın oranı yaklaşık birbirine eşittir (5).

Kolorektal karsinomların etiyopatogenezinde çevresel faktörler özellikle diyet alışkanlıkları, genetik faktörler, inflamatuvar barsak hastalıkları, familyal sendromlar yanı sıra tümör baskılayıcı gen ve onkogenlerin rolü olduğunu bildiren çalışmalar vardır (1,5,6). Kolorektal karsinomlarda küratif cerrahi tedavi sonrası 5 yıllık yaşam şansı geniş serilerde ortalama %40-60 arasında sınırlı olup prognozu belirleyen klinik ve patolojik pek çok parametre üzerinde durulmaktadır (1,3). Yaş, cinsiyet, lokalizasyon, tümör çapı, histolojik tip, diferansiasyon derecesi, lenfatik, vasküler ve perinöral invazyon varlığı, lenf nodülü metastazı, inflamatuvar reaksiyon, vasküler ve perinöral invazyon yanısıra günümüzde DNA ploidy, proliferasyon belirteçleri, onkogen ekspresyonları ile immünohistokimyasal olarak belirlenen pek çok maddenin prognozla ilişkisi araştırılmaktadır (1,5,6).

Kansere bağlı morbidite ve mortalitenin en önemli sebebi malign transformasyon gösteren hücrenin invazyon ve metastaz yeteneğidir (6). Tümör metastazında en önemli basamak ekstrasellüler matriksin invazyonudur (6). Ekstrasellüler matriks invazyonu sadece pasif büyüme basıncından kaynaklanmaz, ekstrasellüler matriks komponentlerinin aktif enzimatik yıkımını gerektirir. Bu aşamada proteolitik enzimler rol oynar (6). Cathepsin D lizozomal aspartik proteaz olup ekstrasellüler matriksin

yıkımından sorumlu tutulan proteolitik enzimlerden birisidir (7). Literatürde meme, mide,oral kavitenin yassı epitel hücreli karsinomu ve endometrium karsinomlarında invaziv potansiyel ve kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir (8,9,10,11,12,13). Kolorektal karsinomlarda ise cathepsin D ile ilgili küçük serilerde yapılan az sayıda çalışmada çelişkili sonuçlar vardır (14,15,16,17).

Tümörögenezise katkıda bulunan onkogenler ve kanser süpresör genler gibi metastazın oluşumuna katkıda bulunan veya engelleyen genlerin olabileceği düşünülmektedir (6). Eğer metastatik fenotipi süprese eden veya destekleyen genler var ise bunların primer tümörde saptanmaları terapötik yaklaşımda yararlı olduğu kadar prognostik önemde sahip olacaktır. Araştırmalar bazı normal genlerin spesifik olarak metastazın bir yada daha çok özelliğini süprese ettiğini göstermektedir (6). Kromozom 17'nin uzun kolunda lokalize olan nm23 geni bunlardan birisidir ve pek çok kanser türünde metastaz potansiyelini belirlediği düşünülmektedir. Meme karsinomları, malign melanom, hepatosellüler karsinom, gastrik karsinom ve kolorektal karsinomlarda immünhistokimyasal olarak düşük nm23 ekspresyonu, metastaz yeteneğinde artış ve kötü prognozla ilişkili bulunmuş, bazı çalışmaların sonuçlarına göre ise ekspresyonda artış kötü prognozla ilişkili yada prognozla ilişkisiz bulunmuştur (18,19,20,21). Hasta yaşam süreleri ve metastaz potansiyeli üzerine etkileri konusunda belirsizlik bu konudaki araştırmaların devam etmesine neden olmaktadır.

Kanserli hastanın tedavi protokolünün belirlenmesi ve prognozun tahmininde etkili olabilecek belirteçlerin tesbitine yönelik yapılan çalışmaların verilerine göre bazı tümörler yüksek oranda human chorionic gonadotropin beta (β -HCG) üretirler ve bu durum tümörün davranışını belirleyebilir (22,23,24). HCG normalde plasental sinsisyotrofoblastlardan

salgılanan, trofoblastik tümörler tarafından üretilen, buna rağmen non-trofoblastik tümörlerde de varlığı tespit edilmiş glikoprotein yapısında bir hormondur (24,25). Gastrointestinal malignitelerde yüksek oranda β -HCG üretilir ve immünohistokimyasal olarak yapılan çalışmalarda kötü diferansiye karsinomlarda daha yüksek oranda boyanma olduğu bildirilmiştir, fakat tümör davranışı üzerine etkisi ve prognozla ilişkisi henüz netleşmemiştir (25,26,27,28).

Kolorektal karsinomlarda histopatolojik tanı ve evresi aynı olan olgularda prognoz tümörün biyolojik özellikleri nedeniyle farklı olabilmektedir (29). Bu nedenle prognozda etkili parametrelerin saptanması tedaviyi yönlendirme açısından önemlidir. Bu çalışmada kolorektal karsinom tanısı ile cerrahi tedavi uygulanan 61 hastanın geriye dönük olarak prognozları ile immünohistokimyasal olarak belirlenen nm23, cathepsin D ve β -HCG ekspresyonları ve yaş, histolojik tip, tümör evresi gibi konvansiyonel prognostik parametreler arasındaki ilişki değerlendirilerek bu parametrelerin prognoza etkisi incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.İnsidans ve Epidemiyoloji

Kolorektal karsinomlar endüstriyel toplumlarda sık izlenen malignitelerden birisi olup, tüm dünyada 3 sıklıkta tanı konulan ve yaklaşık tüm karsinomların %9'unu oluşturan tümörlerdir (1). Kansere bağlı ölüm nedenleri arasında akciğer karsinomlarından sonra ikinci sırada yer alırlar (1,2,3,4). Her yıl 130200 yeni kolorektal karsinom tanısı konulmakta ve bunlardan 56300'ü ölmektedir ve bu oran tüm kanser ölümlerinin %10'unu oluşturmaktadır (30). İnsidansı coğrafi farklılıklar göstermekte olan kolorektal karsinomlar Kuzeybatı Avrupa, Kuzey Amerika, Avusturalya, Kanada ve Yeni Zelanda'da yüksek insidans, Afrika, Asya ve Güney Amerika'da ise düşük insidans gösterirler (1,2). Düşük riskli ülkelere yüksek riskli ülkelere göç eden popülasyonda kolon karsinom insidansı hızla artmakta, rektal karsinom riski ise stabil kalmaktadır (1). Amerika'da en sık görülen ve cerrahi tedavi ile en iyi sonuç alınan gastrointestinal sistem malignitesidir (6).

Kolon karsinom insidansında 1950 yılından sonra özellikle erkeklerde ve siyah ırkta önemli artış olmuş fakat rektal karsinom insidansı stabil kalmıştır (31). Kolorektal karsinom insidansında 20. yüzyılın sonlarına doğru genel bir düşüş görülmekle birlikte ırklara özgü farklılıklar dikkati çekmektedir (1,31). Ayrıca lokalize ve regional kolorektal karsinom insidansı artmaya devam ederken yüksek evreli hastalık oranı düşüş göstermektedir (31). Bu durum yüksek riskli popülasyonlarda kanser tarama yöntemlerinin geliştirilmesi nedeniyle olguların erken evrelerde tesbiti ve medikal bakım kalitesindeki artış ile açıklanmaktadır. Yinede kolorektal karsinomların

prognozu oldukça kötüdür ve 5 yıllık yaşam şansı gelişmiş ülkelerde bile %50-60 düzeyinde kalmaktadır (1,3,32,33).

Kolorektal karsinomlar erkek ve kadınlarda yaklaşık eşit oranda görülürler. ABD’de tüm karsinomlar içinde kadınlarda %11.1, erkeklerde ise %10.2 oranında izlenir (6). Kolorektal karsinom insidansı 40 yaştan sonra erkek ve kadınlarda belirgin olarak artmakta ve 75 yaşa kadar her dekatta risk ikiye katlanmaktadır (5,6). Kolorektal karsinomdan ölüm 35-54 yaş arasında %7.6-8.5 iken, 55-74 yaş arasında ise %11-12 olmaktadır (1).

Kolon karsinom lokalizasyonu sex, ırk yaş, çevresel ve genetik faktörlere göre farklılık göstermektedir. Çekum ve çıkan kolon karsinomları %38, transvers kolon %18, inen kolon %8, rektosigmoid karsinomları ise %35 oranında izlenir (6). Yüksek riskli ülkelerde rektosigmoid karsinomlar, düşük riskli ülkelerde ise çekum ve çıkan kolon karsinomları daha fazladır (1,5). Yaşla birlikte özellikle kadınlarda sağ kolon karsinomlarında artış olmaktadır (1,34). Siyah ırkta sağ kolon beyaz ırkta ise sol kolon karsinomları daha fazladır ve bu sonuç her iki popülasyondaki kanser tarama stratejilerinin farklı olması gerektiğini düşündürmektedir (35). Proktosigmoidoskopi gibi girişimsel tanı yöntemlerinin beyaz ırkta daha sık uygulanabilir olması ve sol kolonun daha iyi incelenebilirliği bu sonuçları doğurmuştur (31,36).

2.2.Etyoloji ve Patogenezi

Kolorektal karsinomların etyoloji ve patogenezi hem çevresel hemde genetik faktörler rol oynamaktadır. Çevresel faktörler diyet alışkanlıkları ile ilgilidir. Emilemeyen bitkisel liflerden fakir içerik, rafine karbohidratların aşırı alımı, yüksek oranda hayvansal yağ tüketimi, A, C, E vitaminleri gibi koruyucu mikro besinlerin az tüketimi en çok dikkat çeken faktörlerdir (5,6).

Düşük lif içeriği dışkı hacminin az olmasına, dışkının barsakta kalma süresinin uzamasına neden olmaktadır (6). Yüksek oranda yağ tüketimi karaciğerde kolesterol ve safra asitlerinin üretimini arttırmaktadır ve bunlarda intestinal florayı değiştirerek potansiyel karsinojenlere dönüşebilirler (1). Bakterilerin parçaladığı karbohidratlar potansiyel toksik oksidatif yan ürünlere dönüşürler (1,37). Ayrıca oksijen radikalleri oluşumu ve lipid peroksidasyon ürünleri prokarsinojenlerin metabolik aktivasyonuna neden olurlar (1,38). Lifli gıdalar ise barsak geçiş zamanını kısaltarak koruyucu etki yaparlar, antioksidan maddeler ve mineraller luminal karsinojenik maddelerin inhibisyonunu sağlarlar (1,4,5,6,37,38).

Pek çok kolon kanser sendromunun varlığı patogeneizde herediter yatkınlığın önemli rol oynadığını göstermektedir. Genetik faktörler kolorektal karsinom olgularının %20'sinde etkilidir (1,5). Kolorektal karsinomlu olguların birinci derece akrabalarında risk 2-4 kat artmıştır (1,5). Familial adenomatöz polipozis (FAP) ve herediter nonpolipozis kolon kanser sendromları (HNPCC) genetik etkinin en açık izlendiği sendromlardır (1,5,6,39,40). Genetik test her iki grup içinde gereklidir. FAP'de hayat boyu kolorektal karsinom gelişme riski %100'dür (39,40). HNPCC mutasyonu taşıyanlarda ise hayat boyu % 70-80 oranında kolorektal karsinom gelişebilir (30). HNPCC sendromları;

Lynch sendromu 1; sadece kolorektal karsinom

Lynch sendromu 2'de ise ek olarak diğer parankimatöz organlara ait karsinomlar.

HNPCC ile ilişkili kolorektal karsinomlar toplamın küçük bir yüzdesini oluştururlar fakat FAP olgularından 5 kat daha fazla görülürler (1). Daha çok sağ kolonu tutar daha genç yaşta ve multiple olma eğilimindedirler (40,41,42,43).

İnflamatuvar barsak hastalıkları kolon kanser riskini arttıırırlar ve hayat boyu tümör görölme insidansı %3-5 oranındadır (44). İnflamatuvar barsak hastalıkları sonucu ortaya çıkan tümörler genelde sol kolonda, multiple ve düz olma eğilimindedirler (44,45).

Kolon ve rektumdaki tüm kanserlerin %98'ini oluşturan adenokarsinomların büyük kısmının daha önce varolan adenom üzerinden geliştiğı bilinmektedir (46). Normal epitelden karsinoma ilerleyiş sırasında bir dizi genetik değışikliğıin olduğı tespit edilmiş ve kolorektal karsinogenezis için genetik bir model oluşturulmuştur (6,47,48). Bu modele göre kolorektal karsinom gelişiminde meydana gelen olaylar dizisi aşağıdaki gibi özetlenebilir (1,6,47,48,49,50,51,52).

Kanser süpresör genlerin genetik yada somatik edinilmiş mutasyonları:

- .. APC geninde mutasyon
- .. DNA metilasyon anomalileri
- .. Protoonkogen mutasyonu:K-ras mutasyonu
- .. Diğer kanser süpresör genlerde homozigot kayıp:DCC geninde kayıp ve p53 geninde mutasyon
- .. Ek mutasyonlar ve gros kromozomal değışiklikler.

2.3. Klinik;

Kolorektal karsinomlar uzun bir zaman periyodunda ortaya çıkarlar ve bu sürede hiç bulgu izlenmeyebilir. Sağ kolon karsinomlarında en sık semptomlar anemi ve abdominal kitle, sol kolon karsinomlarında ise dışkılama alışkanlığında değışiklik ve kanamadır (1,5,6).

2.4. Makroskopik Özellikler;

Kolorektal karsinomlar polipoid, ülser, egzofitik, diffüz infiltratif görünümde olabilirler (1,5,6). Diffüz infiltratif tipin özel bir alt grubu vardır ki 'flat' olarak isimlendirilir ve bu tipteki karsinomların adenomdan değil de novo olarak geliştiği düşünülmektedir (1,5,6,53,54,55,56). Sol kolon tümörleri ülser/infiltratif sağ kolon tümörleri ise daha çok polipoid büyüme paterni gösterirler (55,57). Kolorektal karsinomların kesit yüzeyi grimsi beyaz renkte olup desmoplazi var ise sert kıvamda olur, müsinöz tümörlerde ayrıca jelatinöz bir görünüm dikkati çeker (5,6).

2.5. Mikroskopik Özellikler;

Kolorektal karsinomlar heterojen tümörler olup diferansiye enterositler, goblet hücreleri panet hücreleri, endokrin hücreler, squamöz hücreler melanosit ve trofoblastik hücreler içerirler (1). Çok sayıda hücre tipinin varlığı multipotansiyel kript epitel hücrelerinden köken aldıklarını düşündürmektedir (1). Tümör çevresinde önceki adenoma ait kalıntılar saptanabilir. Daha sık olarak bezlerde hiperplazik değişiklikler vardır ve goblet hücrelerinde artış ile karakterize transisyonel mukoza görülür (5). Kolorektal adenokarsinomların çoğunda histokimyasal olarak gösterilen müsin bulunur (57). Stroma genellikle yoğun desmoplazi gösterir ve peritümöral yangısal infiltrasyon dikkati çeker (5). Nadiren tümör stromasında metaplastik kemik dokusu izlenir (1). Yangı hücrelerinin büyük kısmı T lenfositlerden oluşmakta olup B lenfositler, mast hücreleri, eozinofiller, makrofajlar, plazma hücreleri ve S-100 protein pozitif dendritik hücrelerde görülür. Bazen Crohn benzeri yangısal reaksiyonda görülebilir (1,5).

2.6.Sınıflandırma;

Kolon karsinomları Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) göre sınıflandırılırlar (1,5,58):

- Adenokarsinom
- Müsinöz adenokarsinom (kolloid tip): Müsinöz komponent %50 üzerinde
- Taşlı yüzük hücreli karsinom: %50'den fazlası taşlı yüzük hücreleri
- Yassıepitel hücreli karsinom
- Adeno squamöz karsinom
- Küçük hücreli karsinom
- Undiferansiye karsinom

Müsinöz adenokarsinomlar tüm kolorektal karsinomların %10-15'ini oluştururlar, rektal karsinomların ise %35'i müsinöz alt tiptedir (1). Müsinöz adenokarsinomlar daha genç yaşta görülüp daha kötü prognoza sahiptirler ve çevre dokulara invazyon, yaygın lenf nodu tutulumu nonmüsinöz adenokarsinoma göre daha sık görülmektedir (1). Kolloid karsinomda müsin ekstrasellüler taşlı yüzük hücreli tipte ise intra sellülerdir ve her iki tipteki salgı asit mukopolisakkarit özelliktedir (1,5,57). Taşlı yüzük hücreli tip tüm kolorektal karsinomların %1.1'ini oluşturur (1,5). Diğer mikroskopik alt tipler ise oldukça nadir görülürler. Ayrıca kolorektal karsinomlarda koriokarsinomatöz diferansiasyon ve nöroendokrin diferansiasyon görülebilir (5,57).

2.7. Kolorektal Karsinomlarda Grade;

Kolorektal karsinomlarda grade ve prognoz arasında ilişki olmakla beraber değerlendirmenin subjektif olması nedeniyle sorunlar

yaşanmaktadır. Nadiren iyi ve kötü diferansiye alanlar aynı tümör içerisinde görülebilir. Bu durumda histolojik grade miktar olarak az bile olsa en az diferansiye olan alan göz önünde bulundurularak verilir (1,5). Adenokarsinomların diferansiasyonu tümör hücrelerinin tübüler (asiner) yapılanma derecesine göre belirlenmektedir ;

Grade I: İyi derecede diferansiye adenokarsinom. Tümörün %75'den fazlası basit ve daha az olmak üzere kompleks tübüllerden oluşur. Tübülleri döşeyen epitelde polarite korunmuştur ve çekirdekler uniform boyuttadır. (Resim 1).

Grade II: Orta derecede diferansiye adenokarsinom. Basit, kompleks ve düzensiz tübüller tümörün %25-%75'ini oluşturur. Polarite kaybolmuştur. (Resim 2).

Grade III: Kötü derecede diferansiye adenokarsinom. İleri derecede düzensiz bez yapıları veya tümüyle diferansiasyon kaybı vardır. Tümör en az %50 alanda solid adalardan oluşur. (Resim 3)

Kötü diferansiye adenokarsinomlar klinikopatolojik özelliklerine göre pleomorfik ve daha uniform izlenen iki formu tanımlanmıştır (59).

2.8. Kolorektal karsinomlarda evre;

Kolorektal karsinomlarda günümüze kadar değişik evreleme sistemleri geliştirilmiştir. Tüm evreleme sistemlerinde barsak duvarına invazyon seviyesi ve lenf nodu tutulumu olup olmaması esas alınmıştır (1,5,60). Duke tarafından 1932 yılında önerilen evreleme sistemi yakın zamana kadar basit olması ve prognozla olan yakın ilişkisi nedeniyle kullanılmaya devam etmiştir (1,5,57,61).

Duke A: Tümör sadece barsak duvarındadır.

Duke B: Tümör barsak duvarını aşmıştır ancak bölgesel lenf nodüllerinde metastaz yoktur.

Duke C: Bölgesel lenf nodüllerinde metastaz vardır.

Duke evreleme sisteminin orijinal 3 yıllık yaşam oranları sırasıyla %80, %73, %7'dir.

1949 yılında yine Duke tarafından bu evreleme sistemi modifiye edilmiş ve evre C iki alt birime ayrılmıştır. Bu yeni sınıflamada bölgesel lenf nodülü metastazı için C1, mezenter apeksi veya damar bağlanma bölgesindeki lenf nodülü metastazları için C2 alt grupları oluşturulmuştur (1). Yine 1949 yılında bu sisteme 4. bir evre dahil edilmiş ve uzak metastazlar için D grubu eklenmiştir (5,62).

1954 yılında Astler-Coller tarafından invazyon derinliğini daha ayrıntılı beliten yeni bir sınıflama sistemi daha oluşturulmuştur (60,61). Parantez içerisinde Fisher ve arkadaşlarının 750 olgu içeren çalışmalarının sonuçlarına göre bu evreleme sistemindeki 5 yıllık yaşam beklentileri verilmiştir (61).

Evre A: Tümör mukozada sınırlı (%100).

Evre B1: Tümör muskularis propriayı tutmuş fakat aşmamıştır (%67).

Evre B2: Tümör muskularis propriayı geçmiştir (%54).

Evre C1: Lenf nodüllerinde metastaz vardır, ancak tümör barsak duvarında sınırlıdır (%43).

Evre C2: Lenf nodüllerinde metastaz vardır ve tümör barsak duvarını aşmıştır (%22).

Günümüzde daha ayrıntılı planlanmış, tümör invazyon derinliği, lenf nodülü tutulumuna ek olarak uzak metastazında evrelemeye dahil edildiği American Joint Committee on Cancer (AJCC) ve Union Internationale

Contre le Cancer (UICC)'in oluşturduğu TNM sistemi kullanılmaktadır (1,5,60,61,62). Buna göre:

1- Primer tümör (T): Temel prensip tümörün barsak duvarına penetrasyon derecesidir.

Tx: Saptanamayan primer tümör

To: Primer tümör yok

Tis:Karsinoma insitu. Tümör intraepiteliyaldır, lamina propriyaya invazyon yoktur.

T1: Lamina propriya ya da submukozaya invazyon

T2: Muskularis propriya invazyon.

T3:Subserozaya kadar muskularis propria invazyonu yada nonperitonealize perikolik ve perirektal dokuya invazyon.

T4:Komşu organ ve yapılara invazyon veya visseral periton perforasyonu.

2- Nodal tutulum (N):

Nx: Saptanamayan lenf nodülü metastazı.

No: Bölgesel lenf nodülü metastazı yok.

N1: 1-3 perirektal veya perikolik lenf nodülü metastazı.

N2: 4 veya 4'den fazla sayıda perirektal veya perikolik lenf nodülü metastazı.

3- Uzak metastaz (M):

Mx: Saptanamayan uzak metastaz.

Mo: Uzak metastaz yok.

M1: Uzak metastaz var

Perikolik ve perirektal yağ doku içerisinde 3mm'den büyük histolojik olarak residual lenf nodülü kalıntısı taşımayan tümör nodülleri bölgesel lenf nodülü metastazı, 3mm'den küçük olanlar ise T3 tümör invazyonu olarak

kabul edilmektedir. Eksternal iliak veya common iliak lenf nodülleri metastazi M1 kategorisine alınmıştır (Tablo 1) (1).

Tablo 1: Kolorektal karsinomların AJCC/UICC'nin TNM sistemine göre evrelendirme.

Evre 0:	Tis	N0	M0
Evre I:	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
Evre II:	T3	N0	M0
	T4	N0	M0
Evre III:	Herhangi bir T	N1	M0
	Herhangi bir T	N2	M0
Evre IV:	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

En son olarak Jass tarafından önerilen evreleme sisteminde peritümöral lenfositik infiltrasyon ve tümörün büyüme paternide prognostik belirteç olarak ele alınmıştır (1).

Sternberg ve arkadaşlarının bir çalışmasında da adjuvan sistemik tedavi uygulanacak hastaların daha rafine seçilmesi için tümör invazyonu, lenf nodülü tutulumu ve venöz invazyonun derecelendirilerek oluşturulan yeni skorlama sistemi oluşturulmuş ve bunun prognozu belirlemede Duke ve TNM evreleme sistemlerinden daha üstün olduğu öne sürülmüştür (63).

2.9.Prognostik Faktörler

Kolorektal karsinomlarda klinik ve patolojik çok sayıda parametre prognozu etkilemektedir (64,65,66,67). Yüksek riskli populasyonların takibi, erken tanı yöntemlerinde ve cerrahi tedavideki gelişmelere rağmen kolorektal karsinomların son 40-50 yılda prognozlarında çok az bir iyileşme

izlenmektedir (64). Bu durum bilinen prognostik parametrelerin yanısıra moleküler düzeyde yeni parametrelerin bulunması için çalışmaların devam etmesine neden olmuştur (64,67). Taminaga ve arkadaşlarının yaklaşık 600 kolorektal karsinom olgusunda 5 yıllık takip sonuçlarını bildirdikleri çalışmalarında kolon karsinomlarında 5 yıllık survi %76.3, rektal karsinomlarda ise bu oran %56.5 olarak belirtilmiştir (65). Küratif cerrahi rezeksiyonu takiben 2 yıl içinde olguların %71'inde 5 yıl içinde ise %91'inde rekürrens görülmüştür (5). Oldukça yüksek olan bu rekürrens oranı kolorektal karsinomlarda prognostik parametrelerin önemini bir kat daha arttırmaktadır. Prognozu belirleyen parametreler:

1) Tümörün evresi;

Kolorektal karsinomlarda en önemli prognostik parametredir. Duke evreleme sistemine göre 5 yıllık sağ kalım oranları evre A'da %90, evre B'de %50-65, evre C'de %15-25 olarak belirtilmiş ve uzak metastaz varlığında ise bu oran %10'a inmiştir (1,5,61,68). Metastatik lenf nodülü sayısı ve incelenen toplam lenf nodülü sayısında 5 yıllık sağ kalımı etkileyen bir parametre olarak belirtilmektedir (68,69,70). Ayrıca nodal mikrometastazların immünohistokimyasal olarak veya 'polymerase chain reaction' (PCR) yöntemi ile tespitinin kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir (71,72).

2) Tümörün diferansiyasyon ve histolojik tipi;

Kolorektal karsinomlarda tümörün diferansiyasyon derecesi invazyon derinliğinden ve dolayısıyla evreden bağımsız bir prognostik parametredir (5). Yapılan çalışmalara göre kötü diferansiye karsinomlarda %50'nin üzerinde lenf nodülü metastazı tespit edilmiştir, orta ve iyi diferansiye

tümörlerde ise daha az oranda lenf nodülü metastazı izlenmiştir (66,73,74). Bir çalışmanın sonucuna göre ise iyi ve kötü diferansiye tümörler arasında 5 yıllık yaşam oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (64).

Histolojik alt gruplar içerisinde ise müsinöz karsinom taşlı yüzük hücreli karsinom ve küçük hücreli karsinomun konvansiyonel tipe göre prognozları daha kötüdür (5,75).

3) Tümörün lokalizasyonu;

Genel olarak peritoneal refleksiyonun altındaki tümörlerde prognozun daha kötü olduğuna yönelik bilgiler olsa da bazı çalışmaların sonuçlarına göre tümörün yerleşimi ve prognozu arasındaki ilişki belirsizdir. Russel ve arkadaşlarının çalışmasında sol kolon tümörlerinin en iyi sigmoid ve rektum tümörlerinin ise kötü prognoza sahip olduğu bildirilmiştir (76). Başka bir çalışmada ise sağ, sol ve rektum tümörleri ile hastaliksız sağ kalım arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (64).

4) Tümörün büyüme paterni;

Ülsere ve egzofitik tümörler polipoid tümörlerden daha kötü prognoza sahiptir (5). Flat karsinomlarda ise daha derin invazyon ve lenfatik invazyon daha sıktır (1).

5) Tümörün cerrahi sınırları;

Rezeksiyon sınırı 5 cm'nin altında olan tümörlerde 5 cm'den fazla olan tümörlere göre oldukça yüksek oranda rekürrens görülmektedir (1).

6) Tümör radial sınırı;

Radial sınır kolorektal spesmenlerde nonperitonealize yüzeylerdeki yumuşak dokuyu tanımlar (1). Çıkan kolon inen kolon ve rektosigmoid parsiyel olarak periton ile kaplıdır ve bu alanlarda radial sınırın belirlenmesi önemlidir (1). Bir çalışmada rektal karsinomlarda lokal rekürrens tahmininde en kritik faktörün radial sınır olduğu belirtilmektedir (77,78).

7) Tümör lenfatik invazyonu;

Lenfatik invazyon tümör evresi arttıkça ve diferansiasyon düzeyi kötüleştikçe artar ve bu artış daha kısa yaşam ile birliktedir (1,5,79).

8) Tümörün vasküler ve nöral invazyonu;

Özellikle ektramural venlerde venöz invazyon varlığında 5 yıllık sağ kalımda belirgin düşüş olmaktadır (1,5). Ayrıca vasküler invazyonu olan olgularda %60 oranında metastaz görülürken; vasküler invazyon olmayanlarda metastaz oranı %17'dir (80). Perinöral invazyon ise ilerlemiş hastalığın göstergesidir ve varlığı daha kötü prognozla ilişkilidir (80).

9) Tümöre bağlı obstrüksiyon ve perforasyon;

Obstrüksiyon ve perforasyon hasta yaşam süresini kısaltmaktadır (1).

10) Peritümöral lenfositik infiltrasyon;

Tümörün çevresinde belirgin lenfositik infiltrasyon varlığı konağın immünolojik yanıtını gösterir ki prognozu olumlu yönde etkilemektedir (1,5,64). Crohn's hastalığındaki histopatolojik görüntüye benzer lenfoid reaksiyon varlığında daha iyi prognozdan bahsedilmektedir (1).

11) Peritoneal ve serozal tutulum;

Peritoneal ve serozal invazyon varlığı kötü prognozla ilişkilidir (65,81). Bir çalışmada T3 olgularda sitolojik olarak serozal tutulum %26 oranda tesbit edilmiş olup sitolojik incelemenin tümörün mezotelial yüzeye yayılımının tesbitinde basit ve etkili bir yöntem olduğu vurgulanmaktadır (82).

12) Tümör angiogenезisi;

Tümör içerisindeki mikrodamar dansitesinin bağımsız bir prognostik parametre olduğu pekçok araştırmacı tarafından vurgulanmaktadır (1).

13) Tümör hücre proliferasyonu;

İmmün histokimyasal olarak belirlenen PCNA ve ki-67 ile S faz fraksiyonu tarafından belirlenen tümör hücre proliferasyon artışı nodal ve uzak metastaz sıklığında artış ve daha kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (1).

14) DNA içeriği;

Tümör hücrelerinin DNA içeriği ile ilgili çalışmalarda aneuploid DNA'nın bağımsız prognostik parametre olduğunu söyleyen ve bu sonucun zıttı bulgu elde edilen çalışmalarda vardır (83,84,85)

15) Moleküler belirleyiciler;

Literatürde p53, bcl2, k-ras, p27, p21 gen ürünlerinin ekspresyonlarının prognostik önemini belirlemek için yapılan pek çok çalışma vardır. Bir çalışmada p53 overekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğu ve hasta yaşam süresinin tahmininde bağımsız bir parametre olduğu belirtilmektedir

(86). Diğer bir çalışmada k-ras mutasyonu daha kötü prognoz ve daha derin invazyon ile ilişkili bulunmuştur (87). Moleküler belirleyiciler ile yapılan çalışmalar günümüzde devam etmektedir.

16) Tümör çapı;

Pekçok çalışmada tümör çapının kolorektal karsinomlarda prognostik önemi olmadığı belirtilmiştir (66,67,69). Bunun yanısıra Takahiro ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tümör duvar kalınlığının metakron karaciğer metastazı, lenf nodülü metastazı ve hasta yaşam sürelerinin tahmininde Duke C olgularda yararlı bir parametre olduğu belirtilmiştir (85).

17) Tümör sayısı;

Tek bir tümör varlığı ile senkron, metakron tümörü olan olgular karşılaştırıldığında sağ kalım süreleri arasında fark bulunmamıştır (5).

18) Yaş;

Kolorektal karsinomlarda ileri yaş ve genç yaş grubundaki hastalarda prognoz kötüdür. Bu sonuca neden olarak genç yaşlarda tanıdaki gecikmeler, ileri yaş grubunda ise müsinöz adenokarsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom ve ülseratif kolit zemininde gelişen adenokarsinomların daha sık görülmesi gösterilmektedir (5,64,66). Bununla birlikte evre ile birlikte değerlendirildiğinde genç yaş grubunda belirgin fark bulunmamıştır (1,86).

19) Cinsiyet;

Bazı çalışmalarda kadınlarda 5 yıllık yaşam oranları daha iyi bulunmuş, bazılarında ise kadın erkek arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (64,69).

2.10. İnvazyon Ve Metastaz Mekanizması

Kansere bağlı morbidite ve mortalitenin en önemli sebebi malign transformasyon gösteren hücrenin invazyon ve metastaz yeteneğidir ve anjiogenik ve immünolojik mekanizmaların rol oynadığı tümör konak ilişkisini içeren çok basamaklı kompleks bir olaydır (88). Pek çok klinik ve deneysel çalışma göstermiştir ki büyümede hızlanma, invazivlik ve uzak metastaz yapma yeteneği sıklıkla kademeli bir şekilde oluşmaktadır ve bu durum fenotipik özellikleri farklı heterojen hücre subklonlarının görülmesi ile ilişkilidir (88). Metastaz iki ana basamağa ayrılır (6).

- 1) Ekstrasellüler matriks invazyonu
- 2) Tümör hücrelerinin vasküler yayılımı ve yerleşimi

Ekstrasellüler matriksi oluşturan elemanlar bazal membran ve interstisyel bağ dokudan oluşmaktadır. Ekstrasellüler matriks invazyonu 4 basamaktan oluşan aktif bir olaydır (89).

- 1) Tümör hücrelerinin birbirlerinden ayrılması
- 2) Tümör hücrelerinin matriks komponentlerine tutunması
- 3) Ekstrasellüler matriks parçalanması
- 4) Tümör hücrelerinin göçü

Normal hücreler birbirleriyle ve çevrelerindeki hücreler ile adezyon molekülleri aracılığı ile bağlıdırlar (88). Neoplastik hücreler tarafından adezyon molekül ekspresyonunda meydana getirilen değişiklikler sonucu

hücreler arası bağlantılar zayıflar (90). Bir sonraki adım tümör hücrelerinin ekstrasellüler matriks komponentlerine bağlanmalarıdır. Tümör hücrelerinin laminin ve fibronektine reseptör aracılı tutunması invazyonun önemli basamaklarından birisidir ve takiben migrasyon için pasaj yolları yaratılır (6). Konak hücrelerinin uyarılması sonucunda (stromal fibroblastlar ve makrofajlar) veya tümör hücrelerinin kendileri tarafından proteolitik enzimler salgılanarak ekstrasellüler matriks yıkımı başlatılır (88,89,90,91). Proteolitik enzimlerin aktiviteleri antiproteazlar tarafından regüle edilmektedir. Proteazlar ;

- 1) Metalloproteinazlar (Tip 4 kollojenaz,stromelizinler)
- 2) Serin proteazlar (ürokinaz tip plazminojen aktivatör)
- 3) Sistein proteazlar
- 4) Aspartil proteazlar olarak 4 alt gruba ayrılırlar (89).

Proteaz düzeyleri ile tümör agresifliği arasında pozitif korelasyon olduğu pek çok çalışmada belirtilmiştir. Cathepsin'ler lizozomal enzimlerin büyük bir sınıfı olup fonksiyonlarına ve aktif merkezlerinde taşıdıkları amino asite göre sınıflandırılırlar (8). Cathepsin D aspartik proteazlar gurubunda yer alan salınımı östrojen tarafından kontrol edilen asidik bir proteazdır. İlk olarak 1979 yılında Westley ve Rochefort tarafından tanımlanmıştır ve başlangıçta 52 Kd olan proenzim şeklinde salgılanır (8). Normalde lizozomlar içinde iken intrasellüler protein metabolizmasında ve proenzimlerin, prohormonların aktivasyonunda rol oynar. Sekrete edildiği zaman ise ekstrasellüler matriksin yıkımı, cathepsin B ve ürokinaz tip plazminojen aktivatörlerinin aktivasyonu ile tümör bağlantılı proteolizisten sorumludur (8). Ayrıca nonprolifere fibroblast kültürlerinde DNA sentezini yada hücre bölünmesini stimüle ederek mitojen etki de yapar (8). Bir çalışmada ise

oksidatif stresin oluşturduğu apopitoziste lizozomlardan sitozole geçerek etkili olduğu belirtilmiştir (92).

Cathepsin D pekçok tümör dokusunda immünhistokimyasal olarak araştırılmıştır. Endometrial karsinomlarda, oral mukozanın yassı hücreli karsinomunda ve laringeal epitelial tümörlerde yapılan çalışmalarda cathepsin D'nin önemli bir prognostik parametre olup ayrıca tümör diferansiasyon ve invazyon yeteneğinde artış ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (11,13,93). Gastrik karsinomlarda yapılan bir çalışmadada cathepsin D ekspresyonu arttıkça prognozun kötüleştiği ve diğer konvansional parametrelerden bağımsız bir prognostik faktör olduğu rapor edilmiştir (8). Ayrıca boyanma şiddetinin tümör invazyon sınırında arttığı ve tümör içerisindeki inflamatuvar ve stromal hücrelerde boyanma olduğu belirtilmiştir (8,10,94). Meme karsinomlarında yapılan çalışmalarda ise yüksek grade'li intraduktal karsinomlarda cathepsin D ekspresyonunda düşük grade'li olanlara göre artış olduğu ayrıca ileri evre invaziv karsinomlarda daha fazla cathepsin D eksprese edildiği bildirilmiştir (9,12,95). Ayrıca bir başka çalışmada tümör hücrelerindeki boyanmadan çok stromal hücrelerde boyanmanın agresif davranışla ilişkili olduğu söylenmektedir (96).

Kolorektal karsinomlarda cathepsin proteaz ailesi yelerinden Sistein proteazlar grubunda yer alan cathepsin B ve cathepsin L ekspresyonlarının immünhistokimyasal olarak araştırıldığı bir çalışmada erken evrelerde daha yüksek oranlarda boyanma grlmştir (97,98,99). Sistein ve serin proteazlar kullanılarak yapılan bir başka çalışmada ise yüksek evrelerde ekspresyonun daha fazla olduğu rapor edilmiştir (100). Cathepsin D ile geniş olmayan serilerde az sayıda çalışmada ise stromal hücrelerde ve yangı hücrelerinde izlenen boyanmanın prognozla ilişkili olduğu tümör

hücrelerinde izlenen immün reaktivitenin hasta yaşam süresinin tahmininde yararlı olmadığı sonucu çıkarılmıştır (14,15,16,17).

İnvazyon basamaklarında ekstrasellüler matriksin proteolizisinden sonraki aşama tümör hücrelerinin lokomasyonudur ve otokrin motilite faktörleri ile matriks komponentlerinin parçalanmış ürünlerinin kemotaksisi sonucu oluşur (88). Ayrıca eşzamanlı olarak anjiogenik faktörlerde devreye girer ve anjiogenezis sadece tümör büyümesi için değil invazyon ve metastaz içinde gerekli bir oluşumdur (88,89). Yani tümör içindeki damarların sayısında artış tümör hücrelerinin dolaşıma geçme şansını arttırmaktadır. Ayrıca yeni oluşan kapillerlerin bazal membranlarının parçalı ve zayıf olması tümör hücrelerinin bunlara matür damarlardan daha fazla penetre olmalarına neden olur (88,91).

İnvazyonun tüm basamaklarını tamamlayarak primer tümörden dolaşıma geçen hücreler metastaz potansiyelleri konusunda heterojendirler ve sadece bazı subklonlar uygun gen ürün kombinasyonlarına sahiptirler (6). Yalnızca az sayıda hücre hedef organlardaki vasküler yapıların bazal membranlarını geçerek metastaz yapma şansına sahiptirler, diğerleri konakçının immün mekanizmaları ile ortadan kaldırılır (6). Tümörögenezise katkıda bulunan onkogenler ve kanser süpresör genlerin yanısıra metastazın oluşumuna katkıda bulunan genlerin varlığı araştırılmaktadır (6,20). Eğer metastatik fenotipi suprese eden veya destekleyen genler var ise bunların primer tümörde saptanmaları terapotik yaklaşımda yararlı olabileceği gibi prognostik önemde sahip olacaktır (6). Metastatik hücrelerin multiple fenotipik özellikler kazanması nedeniyle sadece tek bir gen ürünü invazyon ve metastazdan sorumlu tutulamaz. Araştırmalar bazı normal genlerin spesifik olarak metastazın bir yada birçok özelliğini suprese ettiğini göstermiştir. Nm23 gen ailesi ilk kez Steeg ve arkadaşları tarafından

deneysel murin malign melanom hücre serilerinde kanıtlanmış ve düşük metastatik fenotipe sahip K-1735 melanom hücre serisinde yüksek metastatik fenotipe sahip olanlara göre 10 kat daha fazla oranda eksprese edilmeleri nedeniyle metastaz süprese eden bir gen olduğu sonucu çıkarılmıştır (33). Daha sonra %88 oranda homolog başka bir gen daha tanımlanmış ve ilk bulunan nm23-H1 diğeri ise nm23-H2 olarak isimlendirilmiştir (101). Her iki gende 17. kromozomun uzun kolunda 21.3 bölgesinde yer alır ve sırasıyla molekül ağırlıkları 18,5 kDa ve 17 kDa olan nükleosid difosfat (NDP) kinaz subünitleriyle özdeş iki proteinin sentezinden sorumludurlar (18,19,20,33,88). Nm23'ün biyolojik fonksiyonunun NDP kinaz aktivitesi ile ilgisi yoktur (20). Nm23-H1'in motilite süprese eden fonksiyonu histidin bağımlı fosfotransferaz aktivitesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (20).

Nm23 gen ürünü olan proteinlerin immünohistokimyasal olarak incelenmesi sonucunda bazı karsinom tiplerinde (hepatosellüler karsinom, gastrik karsinom, tiroid papiller karsinom) yapılan çalışmalarda nm23 ekspresyonunda azalma yüksek invazyon ve metastaz yeteneği ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (102,103,104). Bazı çalışmalarda ise prostat ve gastrik karsinom olgularında nm23 gen ekspresyonundaki artışın agresif tümör büyümesi ve kötü prognozla ilişkili olduğu söylenmektedir (18,19,105).

Kolorektal karsinomlarda yapılan pek çok çalışmada nm23 gen mutasyonunun ve gen ürününün ekspresyonundaki değişikliklerin metastaz potansiyeli ile olan ilişkisinin değerlendirmesinde birbirleriyle çelişen sonuçlar elde edilmiş ve nm23 geninin kolorektal tümörlerde hangi aşamada etkili olduğu henüz aydınlatılamamıştır (33,106). Berney ve arkadaşlarının bir çalışmasında nm23 ekspresyonunda artışın yüksek metastaz potansiyeli

ile ilişkili olduğunu bildirilmiştir (33). Yine bazı çalışmalarda nm23 genindeki mutasyonunun metastik potansiyelle ilişkisinin olmadığı rapor edilmiştir (106,107,108). Bunların yanısıra beklenildiği gibi kolorektal karsinomlarda nm23 overekspresyonunun metastaz süpresyonunda rol oynadığı sonucunun çıkarıldığı yayınlar ve nm23 alelik delesyonunun daha agresif tümör davranışına neden olduğunu bildiren yayınlarda vardır (20,109,110,111,112). Zeng ve arkadaşlarının bir çalışmasında ise nm23 gen overekspresyonunun metastazla değil lokal kolorektal karsinom yayılımı ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (113).

2.11.Kolorektal Karsinomlarda HCG İmmünreaktivitesi

Kolorektal karsinomlu hastalarda prognozu tahmin etmede evre, diferansiasyon düzeyi, invazyon derinliği gibi klinikopatolojik pek çok parametre kullanılmakla birlikte bazı olgularda tümör davranışını tanımlamaya ve tahmin etmeye yetmemektedir (29). Literatürde pekçok non-trofoblastik malign tümörde serolojik ve immünhistokimyasal yöntemlerle tespit edilen yüksek oranda HCG üretiminin olduğu belirtilmektedir (22,23,24,114,115,116). HCG glikoprotein yapısında bir hormon olup kovalent bağlı olmayan iki subünitin birleşiminden oluşur ve normalde plental trofoblastlardan ve fetal hayattaki hücrelerden salgılanır (22,26,117). Özellikle betta subünitinin tesbiti gestasyonel ve non-gestasyonel tümörlerde tanı tedavinin etkinliği ve prognoz tahmininde önemli bir parametredir (26). Ayrıca nontrofoblastik tümörlerde tesbitinin daha agresif tümör davranışının göstergesi olduğunu söyleyen otörlerde vardır (27,114,118). Yüksek gradeli üretelial tümörlerde HCG'nin serumda veya immünhistokimyasal yöntemlerle dokuda tesbitinin yüksek oranlarda olduğu ve agresif tümör davranışı ile tedaviye yanıtın tesbitinde önemli bir

parametre olabileceği söylenmektedir (116,119,120,121). Akciger karsinomlarında yapılan çalışmalarda ise HCG'nin potansiyel tümör belirleyicisi olabileceği hatta tanı ve takipte kullanılabileceği sonucu çıkarılmıştır (22,23,122). Gastrointestinal malignitelerden mide karsinomlarında yapılan bir çalışmada ileri evre ve kötü diferansiye olgularda immünhistokimyasal olarak HCG üreten hücrelerin daha sık izlendiği ayrıca aynı çalışmada kullanılan nonkanseroz mide mukozasında antrumda ve özellikle pilorik glandların boyun hücrelerinde pozitif boyanma olduğu izlenmiştir (25). Bu sonucu yazarlar HCG üretiminin aktif olarak proliferen hücrelerde oluşan fizyolojik bir olay olabileceği yönünde yorumlamışlardır (25). Kolorektal karsinomlarda bu güne kadar yapılan çalışmalarda ise hasta serumunda ve dokuda immünhistokimyasal olarak tesbit edilen HCG varlığı kötü prognoz göstergesi olup müsinöz tümörlerde, az diferansiye olgularda ve tüm barsak duvarını infiltre etmiş tümörlerde daha yüksek oranda görüldüğü ve diğer klinikopatolojik parametrelere ek olarak prognozun belirlenmesinde kullanılabileceği belirtilmektedir (26,27,28,123). Nontrofoblastik tümörlerde HCG üretiminin biyolojik önemi henüz netleşmemiştir. Mesane serviks ve endometrium hücre kültürlerine HCG eklenmesinin replikasyon hızını arttırmadan hücre popülasyonunda artışa neden olduğu tesbit edilmiştir (24). Batler ve arkadaşlarının mesane tümörü hücre kültüründe yaptıkları bir çalışmada doza bağımlı olarak HCG eklenmesinin apoptotik yapıları azalttığı belirtilmektedir (24). Sonuçta apoptozisin azalmasının tümörün daha agresif seyrine neden olabileceği düşünülmekle beraber HCG ekspresyonunun tümör gelişimi yayılımı ve prognozu üzerindeki etkisi henüz netleşmemiştir.

Günümüzde kansere bağlı ölüm nedenleri arasında 2. sırada yer alan kolorektal karsinomlarda morbidite ve mortaliteyi azaltmak hastalıksız sağ

kalım süresini arttırmak amaçlı cerrahi tedaviye ek olarak kemoterapi ve radyoterapi programları oluşturulmaya çalışılmaktadır. Yüksek riskli hasta popülasyonunun seçimini kolaylaştırmak ve daha homojen alt gruplar oluşturmak amacıyla tümör agresivitesinin tesbiti gerekmektedir. Bu amaca yönelik yapılan çalışmalar literatüre pek çok farklı yöntem ile tesbit edilen yeni belirteçlerin eklenmesine neden olmaktadır. Biz bu çalışmada kolorektal karsinom olgularında immünhistokimyasal olarak nm23, cathepsin D ve HCG ekspresyonunun tümör agresifliği invazyon ve metastaz kapasitesi üzerine etkilerini değerlendirmeyi amaçladık ve çalışmada kullanılan 61 olgunun klinik ve patolojik verileri ve takip sonuçlarının her üç madde ile olan ilişkisini değerlendirdik.

3. MATERYAL METOD

3.1.Vaka Seçimi:

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Çalışmaya retrospektif olarak 1989-1998 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivine kayıtlı kolorektal karsinom nedeniyle cerrahi rezeksiyon uygulanan olgular içerisinde aşağıdaki kurallar göz önünde bulundurularak 61 olgu dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri;

- Biyopsi tanısı olması ve ilk defa radikal cerrahi tedavi uygulanması,
- Histopatolojik tanıları adenokarsinom ve müsinöz adenokarsinom (kolloid ve taşlı yüzük hücreli karsinom) olması,
- Ameliyat materyallerinde başka hastalıklara ait (inflamatuar barsak hastalığı gibi) patolojik bulgular olmaması,
- Tümör dokusunun immünohistokimyasal yöntemi uygulamaya izin verecek miktarda olması,
- Arşiv kayıtlarından ve raporlardan klinikopatolojik verilerin tamamına ulaşılabilir olması,
- Hastaların klinik takip sonuçlarının olması.

Çalışmadan çıkarılma kriterleri;

- Ameliyat materyalinde başka barsak hastalıklarına bağlı patolojik bulgular olması,
- Tümör dokusunun yoğun nekroz alanları taşıması,
- Tümörün barsağın diğer epitelyal tümörlerine ait elemanlar taşıması,
- Klinik takip sonuçlarına ulaşamamış olması.

3.2 Verilerin Kaydı:

Bahsedilen kriterler ışığında seçilen olguların arşiv kayıtları, patoloji raporları ve klinik takip sonuçları incelenerek demografik verileri, patolojik özellikleri ve sağ kalım sonuçları elde edildi. Buna göre olguların

- Cinsiyet (erkek, kadın)
- Yaş (50 yaş altı ve 50 yaş üstü)
- Tümör çapı (4 cm altı ve 4 üstü)
- Tümör lokalizasyonu (kolon, rektum)
- Histolojik tip (adenokarsinom ve müsinöz adenokarsinom)
- Grade (1,2,3),
- Çıkarılan lenf nodülü sayısı
- Lenf nodülü metastazı (var ve yok)
- Metastaz izlenen lenf nodülü sayısı (2 altı, 3 ve üstü)
- Ven, lenf ve perinöral invazyon (var, yok) (Resim 4,5,6)
- Tümör invazyon derinliği (T1,T2,T3,T4)
- Lokal rekürrens (var, yok)
- Uzak metastaz (var, yok)
- Hastalık tekrarı (var, yok)
- Hastalık nedeniyle ve diğer nedenlerle ölüm (var, yok)
- Hastalıksız sağ kalım (ay)
- Toplam sağ kalım (ay) sonuçları kaydedildi

Tüm olguların evresi TNM ve Modifiye Duke's sistemine göre belirlenmiştir. Ayrıca olgular WHO sınıflamasına göre sınıflandırılmışlardır.

3.3. İmmünohistokimyasal Yöntem:

Çalışmaya alınan olgulara ait parafin bloklardan hazırlanan 4-5 µm kalınlığındaki kesitlere Hemotoksilen-Eozin (H&E) histokimyasal boyası

uygulandı. Doku örneklerine immünohistokimyasal olarak "Streptoavidin-Biotin Kompleks" yöntemi ile Rabbit Anti-Cathepsin D (Poliklonal, Dako), Rabbit Anti-Human nm23 Protein (Dako) ve Rabbit Anti-HCG (Dako) antikorları uygulandı (Tablo 2). Nm23 immünohistokimyasal boyasında meme lobüler karsinomuna ait tümör hücreleri, cathepsin D için lenf nodülündeki histiosit ve makrofajlar, HCG için ise plasental sito ve sinsisyotrofoblastlar pozitif kontrol olarak kullanıldı.

Tablo 2: Kullanılan Antikorların Özellikleri.

	Kaynak	Kod no	Dilüsyon oranı	Pozitif kontrol
Cathepsin D	Dako	A0561	1:600	Lenf nodülü
Nm23	Dako	A0096	1:25	Meme karsinomu
HCG	Dako	A0231	1:250	Plasenta

İmmünohistokimyasal olarak boyanacak doku seri kesitleri Chromalium-Gelatin adhesiv ile kaplanan lamlara 4-5µm kalınlığında alındı ve 56°C'de etüvde 1 gece kurutulup ksilolde iki kere 5'er dakika bırakılarak deparafinize edildi. Daha sonra azalan derecelerde alkollerden geçirilip distile suya alınarak hidrate edildi. Bundan sonra nm23 antikoruna ile boyanacak doku kesitlerine antijenlerin yeniden kazanılması amacı ile mikrodalga fırında ısıtma yöntemi ile "Antigen Retrieval" işlemi uygulandı. Bu işlem için kesitler 0.01 molar ve pH6 olarak hazırlanan trisodyum sitrat solüsyonu içinde sıvı seviyesi lamaların üzerini kapatacak ve kesitler kurumayacak şekilde 90°C'de 20 dakika mikrodalga fırında bekletildi. Cathepsin D ve HCG boyaları için mikrodalga fırında bekletme işlemi uygulanmadı.

Streptoavidin-Biotin peroksidaz yöntemi ile immünohistokimyasal boyama sırasıyla aşağıdaki basamaklardan geçilerek gerçekleştirildi:

- 1- Endojen peroksidaz enzim blokasyonu için %3'lük H_2O_2 solüsyonu ile kesitler 5 dakika inkübe edildi. Daha sonra preparatlar tamponlanmış fosfat solüsyonunda yıkanarak 5 dakika bekletildi.
- 2- Her üç immünohistokimyasal boyada zemin boyanmasını önlemek amacı ile kesitler 20 dakika blocking solüsyonunda (Goat, Zymed) bekletildi. Daha sonra preparatlar kurulandı.
- 3- Primer antikor ile üstleri kaplanan doku kesitleri cathepsin D için 20 dk, nm23 ve HCG 60 için ise 30 dakika inkübe edildi. Kesitler tamponlanmış fosfat solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
- 4- Primer antikor ile enzim taşıyan antikor arası bağlayıcı görev yapan Linking Reagent (Dako, Glostrup, Denmark) ile doku kesitleri 15 dakika inkübe edildi.
- 5- Labelling Reagent (Dako, Glostrup, Denmark) streptoavidin ile konjüge edilmiş "horseradish peroksidaz" ile dokular 15 dakika inkübe edildi.
- 6- Kesitler tamponlanmış fosfat solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
- 7- Chromogenic substrate (DAB) (Dako, Glostrup, Denmark) ile 10 dakika inkübe edildi.
- 8- Preparatlara H&E (Dako, Glostrup, Denmark) ile zıt boyama yapıldı ve lamelle kapatıldı.

Her üç boya için tüm inkübasyon basamakları oda sıcaklığında ve nemli ortamda gerçekleştirildi. Renklendirici olarak Diaminobenzidine (DAB) kullanıldı, oluşan kahverengi renk reaksiyonu pozitif olarak kabul edildi.

3.4. Değerlendirme:

Her üç immünohistokimyasal boya ışık mikroskopunda semikantitatif olarak değerlendirildi. Cathepsin D ile sitoplazmik granüler boyanma, nm23 ve hCG için ise homojen sitoplazmik boyanma pozitif kabul edildi. Boyanan hücre miktarı yüzde alan olarak belirtildi, boyanma şiddeti ise hafif (+), orta (++), şiddetli (+++) olarak derecelendirildi. Her üç boya için skorlama sistemi oluşturmak amacı ile boyanan yüzde alan ve boyanma şiddeti şu şekilde puanlandı;

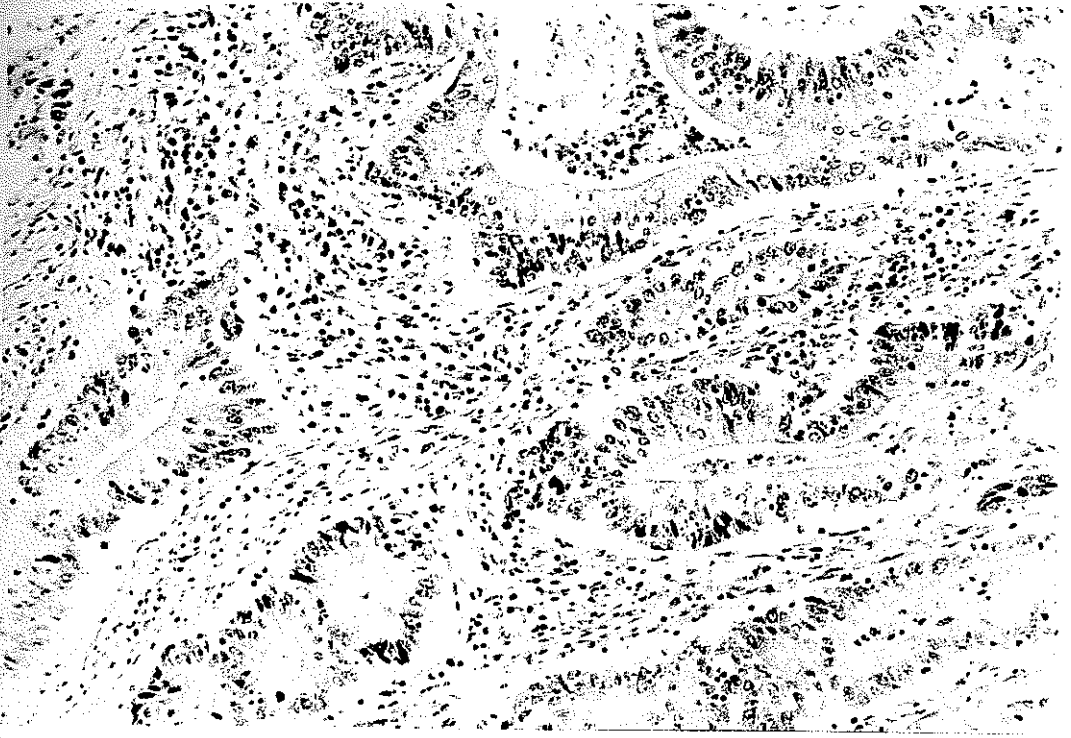
Boyanan yüzde alan: %0=0, %25 altı=1, %25-75=2, %75 üstü=3

Boyanma şiddeti: yok=0, hafif=1, orta=2, şiddetli=3

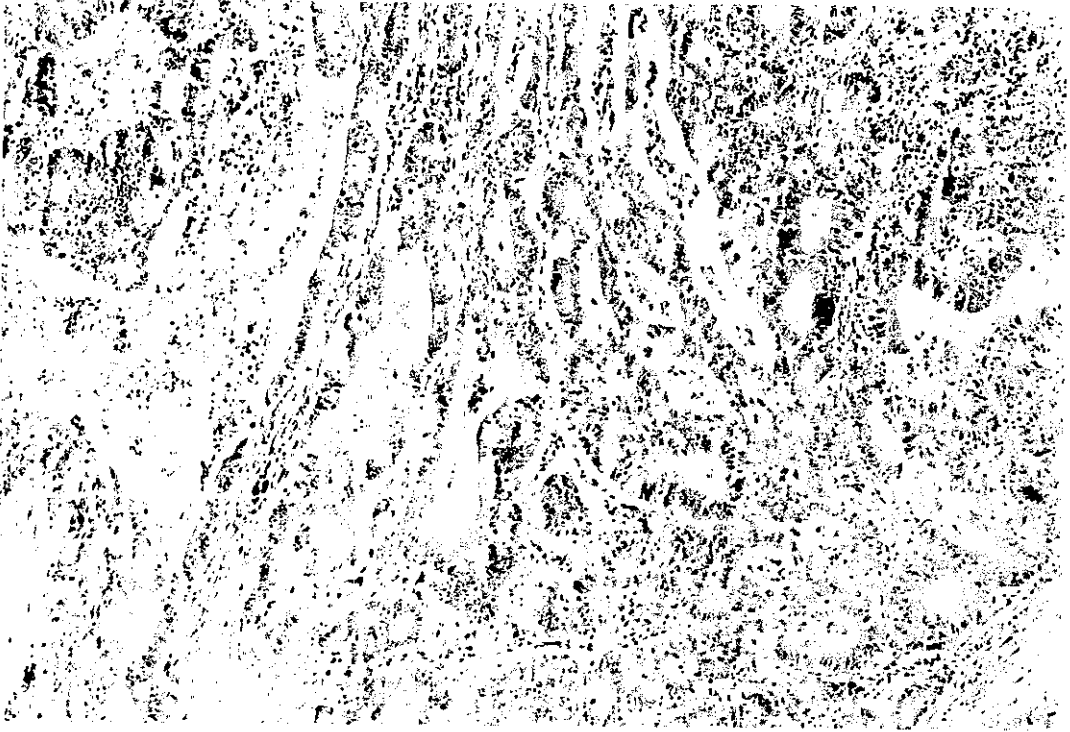
Puanlamayı takiben boyanma yüzdesi skoru ve boyanma şiddeti skoru toplanarak 2-6 arasında sayısal değerler elde edildi. Her üç immünohistokimyasal boya için 2-3 arasındaki değerler (-), 4-6 arası değerlerde (+) olarak skorlandı.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme:

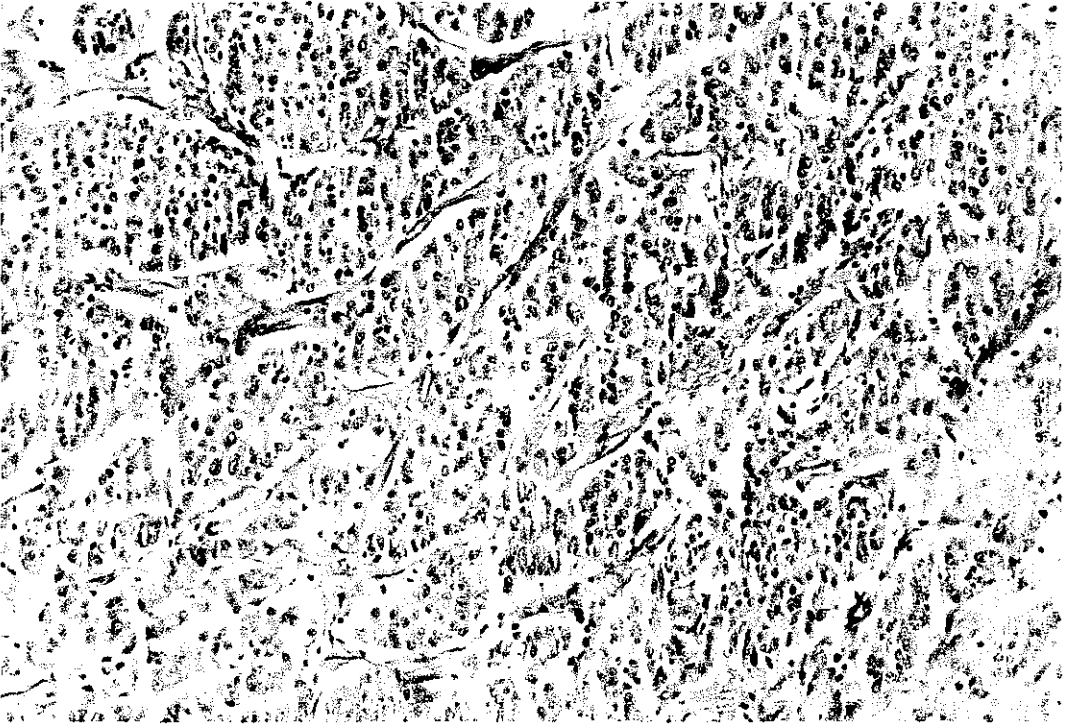
Elde edilen klinikopatolojik verilerin kendi aralarında, immünohistokimyasal sonuçlarla, hastalık tekrarı ve hastalıktan kayıp ile olan ilişkileri ve immünohistokimyasal sonuçların hastalık tekrarı ve hastalıktan kayıp bilgileri ile olan korelasyonları Spearman'ın korelasyon testi ile yapıldı. Lenf nodülü metastazı, histopatolojik tip, perinöral invazyon, nm23, cathepsin D ve HCG boyanma sonuçlarından oluşan altı parametrenin hastalık tekrarı ve hastalık nedeniyle ölüm üzerindeki etkisi lineer regresyon analizi ile, ayrıca aynı parametrelerin hastalıksız sağ kalım ve toplam sağ kalım üzerindeki etkileri de Cox regresyon analizi ile belirlendi. Yaşam analizleri Kaplan-Meiere göre hesaplandı. İmmünohistokimyasal sonuçların hastalıksız sağ kalım ve toplam sağ kalım süreleri ile olan ilişkisi log rank testi uygulanarak belirlendi.



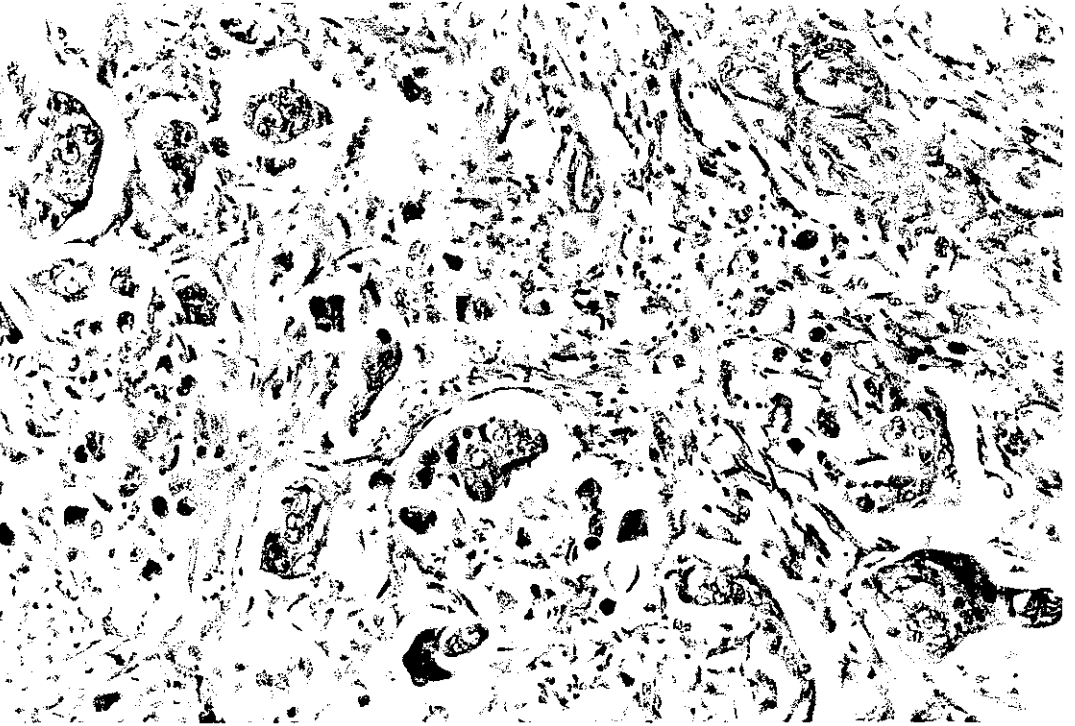
Resim 1: Tüm alanlarda tübüler yapılar oluşturan iyi derecede diferansiye adenokarsinom. H&E X 20.



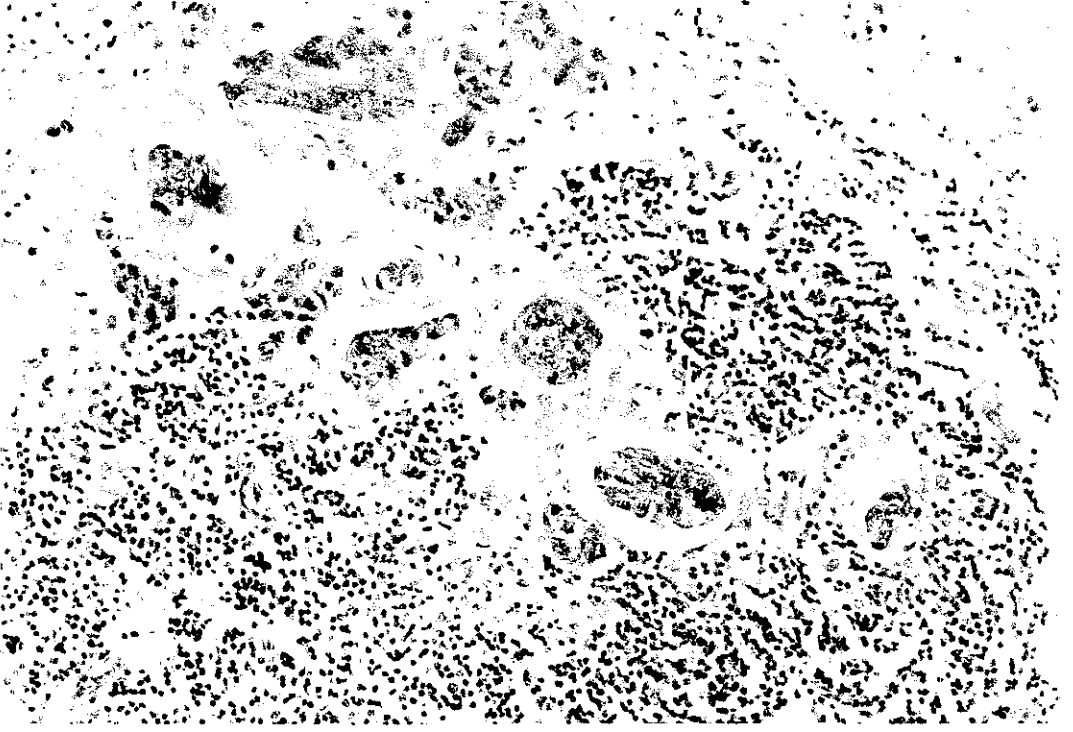
Resim 2: Tübüler yapılar ve solid alanlar izlenen, polaritenin bozulduğu, orta derecede diferansiye adenokarsinom. H&E X 10.



Resim 3: Geniş alanlarda solid görünümde olan ve bez yapıları oluşturmeyan kötü derecede diferansiye adenokarsinom. H&E X 20.



Resim 4: Venöz invazyon, adenokarsinom. H&E X 20.



Resim 5: Lenfatik duvarında ve lümeninde yer alan tümör, adenokarsinom H&E X 20.



Resim 6: Perinöral invazyon, adenokarsinom H&E X 20.

4. BULGULAR

Bu çalışmadaki hastaların demografik özellikleri, kolorektal karsinomlarda saptadığımız histopatolojik özellikler ve nm23, cathepsin D ve HCG ile immünohistokimyasal boyanma sonuçları Tablo 3’de verilmiştir.

4.1. Demografik Dağılım:

1.2.1989 ile 5.10.1998 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde kolorektal karsinom tanısı ile opere edilen 61 hastanın 35’i erkek (%57.3), 26’sı kadın (%42.7) olup erkeklerin yaş ortalaması 55.2 ± 14 yıl (28-83), kadınların yaş ortalama 60.6 ± 10.6 yılı (35-82). (Tablo 4). Değerlendirmeye alınan hastalardan 35 erkek hastanın 23’ünde kolon 12’sinde rektum karsinomu; 26 kadın hastanın 13’ünde kolon 13’ünde rektum karsinomu saptanmıştır. Hastaların yaşı ve cinsiyet dağılımları ile kolorektal karsinom oluşumu dikkate alındığında bu parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir çıkarım bulunmamıştır ($p=0.102$). Hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm, 50 yaş altı ve 50 yaş üstü gruplar arasında değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir.

Tablo 4: Hastaların yaş ve cinsiyet dağılımı

	Kadın	Erkek
En küçük yaş	35	28
En büyük yaş	82	83
Yaş ortalaması	60.6	55.2
Hasta sayısı	26	35

Tablo 3. Hastaların demografik ve histopatolojik özellikleri ile immünohistokimyasal boyanma sonuçları.

Olgu No	Yaş	Lokali- zasyon	Tm Çapı	Tip	Grade	Total Lenf Nodu	(+) Lenf Nodu	Venöz invaz	Lenf invaz.	Nöral İnvaz.	TNM	Nm23	CatD	BHCG	Metastaz	Lokal nüks	Metastaz Yeri
1	32	R	2	1	1	6	0	-	-	-	T4N0M0	%50+++	-	%50++	+	+	kc+kemik
2	46	SAK	10	2	3	12	0	+	-	-	T3N0M0	%20++	%60++	%20++	+	+	kc
3	66	R	5	1	3	8	0	-	-	-	T3N0M0	%80+++	%15++	%40+	-	-	
4	36	R	6	1	1	8	11	+	+	-	T4N2M0	-	%5+	%20+++	-	+	
5	50	S	11	2	1	4	0	-	-	-	T4N0M1	%70+++	%50++	%70++	-	+	
6	35	R	8	2	3	6	6	-	-	-	T3N2M0	%10++	%70++	%30+	-	-	
7	65	R	4	2	3	7	0	-	-	-	T3N0M0	%80+++	%40++	%80++	-	-	
8	61	R	2	2	2	20	15	-	-	-	T3N2M0	%90+++	%50++	%10+++	-	-	
9	37	S	5	1	2	5	0	-	-	-	T3N0M0	%60++	%10+	-	-	-	
10	44	R	5	1	3	12	0	-	-	-	T2N0M0	%50+	%50++	%10++	+	-	kc
11	68	R	7	1	3	0	1	-	-	-	T4N1M0	%80++	%5++	%60++	-	-	
12	55	S	2	2	3	5	1	-	-	-	T3N1M0	-	%20+++	%5+++	-	+	
13	58	SAK	7	2	2	4	0	-	+	-	T2N0M0	%50+	%20+	%30+++	+	-	kc
14	65	R	3	2	2	7	0	+	-	+	T3N0M0	%90+++	%20+	-	-	-	
15	49	S	7	1	2	18	0	-	-	-	T3N0M0	%80++	%80++	%50++	-	-	
16	45	S	1	1	3	9	0	+	+	-	T3N0M0	%10++	%5+	-	-	-	
17	28	SAK	3	1	2	34	0	-	+	+	T3N0M0	%5+	%30++	%10+	+	+	kc+kemik
18	54	S	5	1	2	0	1	+	+	+	T4N1M0	%10++	%50+++	%20++	+	-	kc
19	56	S	4	1	2	7	2	-	+	-	T4N1M0	%50++	%10+	-	-	-	
20	47	R	4	2	2	6	4	-	+	-	T3N2M0	%10+	-	%10++	-	-	
21	82	R	2	1	2	16	0	-	-	-	T3N0M0	-	-	-	-	-	

Olgu No	Yaş	Lokali- zasyon	Tm Çapı	Tip	Grade	Total Lenf Nodu	(+) Lenf Nodu	Venöz invaz	Lenf invaz.	Nöral İnvaz.	TNM	Nm23	CatD	BHCG	Metastaz	Lokal nüks	Metastaz Yeri
22	41	S	2	1	3	4	0	-	+	-	T3N0M0	%80++	%15+	-	-	-	
23	64	S	2	1	2	0	0	-	-	-	T3N0M0	%40+	%40+	%60+++	-	-	
24	61	S	2	1	2	0	0	-	+	-	T1N0M0	%20+	%40++	%10++	-	-	
25	77	T	10	1	2	5	5	-	-	-	T4N2M1	%50++	%20++	-	+	-	kc
26	83	SOK	11	2	1	3	3	-	-	-	T4N2M1	%60++	%10+	%10+	+	-	kc+beyin
27	65	SOK	5	1	2	3	1	-	-	-	T4N1M0	%30++	-	%50+++	-	-	
28	75	SAK	3	2	2	7	0	-	-	-	T3N0M0	%90+++	%20+	%30+	-	-	
29	75	R	6	1	2	5	2	+	+	-	T3N1M0	%20++	%20++	-	+	+	kc
30	56	SAK+SOK	11	1	2	19	4	-	-	-	T3N2M0	%90+++	%60++	%50++	+	-	kc
31	60	SAK	6	1	2	12	0	-	+	-	T3N0M0	%95+++	%80+++	-	-	-	
32	58	R	7	1	2	10	3	-	-	+	T3N1M0	%70++	%70++	%10++	+	+	kc+dalak+sürrenal
33	38	SAK	6	2	2	18	2	-	-	-	T3N1M0	%80+++	-	%40+	-	-	
34	61	R	3	1	2	9	8	-	-	-	T3N2M0	%40++	%60++	-	-	+	
35	70	SOK	10	2	2	22	0	-	-	-	T3N0M0	%30++	%10+	-	-	-	
36	59	R	2	1	2	8	4	-	-	+	T4N2M0	%50++	-	%20++	+	-	kc+kemik
37	47	SOK	5	1	2	15	0	-	-	-	T3N0M0	%70+++	-	-	-	-	
38	60	SAK	9	2	3	17	0	-	-	-	T3N0M1	-	%60+++	%20++	+	-	kc+ac
39	58	R	3	1	2	6	0	-	-	-	T2N0M0	%80+++	%20+	%40+	+	-	kc+kemik
40	65	S	5	1	2	12	2	-	+	-	T3N1M0	%95+++	%80+++	%50+	-	-	
41	49	S	2	1	2	15	6	-	-	-	T3N2M0	%95+++	%70+++	-	-	-	
42	60	R	3	1	3	6	1	-	+	+	T3N1M0	%30+	%80+++	%10+++	+	+	kc
43	67	S	5	1	2	6	0	-	-	-	T2N0M0	%50+++	%60+++	%30++	+	+	kc

Olgu No	Yaş	Lokali- zasyon	Tm Çapı	Tip	Grade	Total Lenf Nodu	(+) Lenf Nodu	Venöz invaz	Lenf invaz.	Nöral İnvaz.	TNM	Nm23	CatD	BHCG	Metastaz	Lokal nüks	Metastaz Yeri
44	75	R	5	1	2	8	0	+	+	+	T3N0M0	%90+++	%30+	%70++	+	+	kc+beyin
45	49	SAK+SOK	5	1+2	1	34	0	-	-	-	T3N0M0	%40+++	-	-	-	-	
46	53	R	4	1	2	12	2	-	-	-	T4N1M0	%30++	-	%20+++	-	-	
47	65	SAK	10	1	2	11	0	-	-	-	T3N0M0	%80+++	%50+	%40+	-	-	
48	55	SOK	4	1	2	9	9	-	-	+	T4N2M0	%60++	%20++	%10+++	-	-	
49	74	SOK+SAK	5	1+2	1	33	20	+	+	-	T3N3M0	%10++	%10+++	-	+	-	kc
50	70	SAK	7	2	2	11	4	-	-	+	T4N2M0	%30+	%80+++	%80++	+	+	kc+ac
51	47	S	7	1	2	7	3	-	-	+	T4N1M0	%90++	%50+++	-	+	-	kemik+ac
52	44	SAK	5	2	2	26	0	-	-	-	T2N0M0	%95+++	%20+	%90++	-	-	
53	74	R	8	1	2	7	0	-	-	-	T3N0M0	%70+++	-	-	-	-	
54	36	R	7	1	2	36	0	-	-	-	T2N0M0	%60++	%50+++	-	-	-	
55	71	SOK	14	2	2	10	0	-	-	-	T3N0M0	%5+	-	-	-	-	
56	65	S	2	1	2	4	0	-	-	-	T1N0M0	%90+++	-	-	-	-	
57	73	R	3	1	2	9	0	-	-	-	T2N0M0	%20+	%30+++	%50++	-	-	
58	61	R	4	1	2	2	0	-	-	-	T3N0M0	%80+++	-	-	-	+	
59	64	R	7	1	2	5	1	-	-	-	T3N1M0	%60++	%70+++	-	-	-	
60	65	R	4	2	2	10	0	-	-	-	T2N0M0	%90+++	-	-	+	+	kc+m. spinalis
61	58	S	4	2	2	22	0	-	-	-	T2N0M0	%50++	%30+	%40++	-	-	

R : Rektum, T : Transvers kolon, SAK: Sağ kolon, SOK: Sol kolon, S : Sigmoid,
Histolojik tip; 1 : Adenokarsinom, 2 : Müsinöz adenokarsinom.

4.2. Histopatolojik Tip Dağılımı:

Olgular WHO sınıflamasına göre değerlendirildiğinde; 40 olgu adenokarsinom (25'i erkek, 15'i kadın), 19 olgu müsinöz karsinom (9'u erkek, 10'u kadın), 2 olgu ise senkron tümörlere sahip olup hem müsinöz adenokarsinom hem de adenokarsinom tanısı almıştır. Histopatolojik tip ile hiçbir klinikopatolojik parametre arasında anlamlı bir ilişkili bulunmamıştır ($p>0.05$). Ayrıca hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm değerlendirildiğinde adenokarsinom ve müsinöz adenokarsinomlar arasında fark bulunmamıştır.

4.3. Tümör Çapı:

İncelenen 61 kolorektal karsinom olgusunda en küçük tümör çapı 1 cm, en büyük tümör çapı 14 cm bulunmuştur (ortalama $\pm$ SD:5.34 $\pm$ 2.87, aralık 13). Tümör çapı ile hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi görülmemiştir. Ayrıca tümör çapı hiçbir klinikopatolojik parametre ile ilişkili bulunmamıştır.

4.4. Çıkarılan ve Metastaz İzlenen Lenf Nodülü Sayısı:

Olguların 57'sinde lenf nodülü diseke edilirken 4 olguda lenf nodülü bulunamamıştır. Çıkarılan lenf nodülü sayısı ortalama 11.44 $\pm$ 8.29 (en az 2, en çok 36)'dır. Toplam 28 olguda metastatik lenf nodülü saptanmıştır. Tümör pozitif saptanan lenf nodülü sayısı ortalama 4.46 $\pm$ 4.53 (en az 1, en fazla 20)'dir. Lenf nodülü metastazi varlığı hastalık tekrarı ile doğru orantılı olup ($p=0.006$), metastatik lenf nodülü sayısı hastalıktan ölüm ve hastalık tekrarı ile istatistiksel olarak ilişkili bulunmamıştır.

4.5. Tümör Lokalizasyonu:

İncelenen 61 adet kolorektal karsinom olgusunda tümör lokalizasyonları; 25 rektum (%39.3), 16 sigmoid (%27.9), 10 sağ kolon (%16.4), 6 sol kolon (%9.8), 1 transvers kolon (%1.6), 3 multisentrik lokalizasyonlu olup sağ ve sol kolonda tanı anında tümör bulunmuştur (%5). Tümör lokalizasyonu ile diğer parametreler kıyaslandığında anlamlı kabul edilebilecek bir ilişki saptanmamıştır. Ayrıca lokalizasyonun hastalıksız sağ kalım ve toplam sağ kalım oranları ile anlamlı bir ilişkisi bulunmamıştır (Tablo 5).

Tablo 5: Tümör lokalizasyonunun hastalara göre dağılımı

Tümör lokalizasyonu	Hasta sayısı
Rektum	25
Sigmoid	16
Sağ kolon	10
Sol kolon	6
Sol+sağ kolon	3
Transvers kolon	1

4.6. Grade, Lenfatik, Venöz ve Perinöral İnvazyon:

61 olgunun 6'sı grade 1 (%9.9), 44'ü grade 2 (%72.1), 11'u grade 3 (%18) olarak tesbit edildi. Grade ile hiçbir klinikopatolojik parametre anlamlı ilişki göstermemiş, ayrıca nüks ve hastalık nedeniyle kayıp ile de ilişkili bulunmamıştır. Venöz invazyon 8 olguda (%13.3), lenfatik invazyon 16 (%26.6), perinöral invazyonda 10 (%16.7) olguda görülmüştür. Korelasyon testlerinde venöz invazyon, lenfatik invazyon ile doğru orantılı bulunmuştur ($p=0.000$). Nöral invazyon ile lenf nodülü metastazı, uzak metastaz, lokal rekürrens, hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm arasında

pozitif korelasyon izlenmiştir ($p=0.038$, $p=0.003$, $p=0.046$, $p=0.02$, $p=0.004$).

4.7. Evre:

AJCC/UICC'nin TNM sistemine göre evrelenen olguların 11'i (%18.3) evre I, 22'si (%36.7) evre II, 24'ü (%40) evre III ve 4'ü (%5) evre IV idi. Astler Coller evreleme sistemine göre ise 3 olgu evre A (%5), 8 olgu evre B1 (%13.3), 22 olgu evre B2 (%36.7), 24 olgu evre C2 (%40), 4 olgu evre D (%5) idi (evre C1'de olgu yoktu) (Tablo 6). Evre hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm ile anlamlı ilişki göstermemektedir.

Tablo 6: TNM klasifikasyonuna göre tümör evrelerinin dağılımı

Tümör Evresi	Hasta Sayısı
Evre 1	11
Evre 2	22
Evre 3	24
Evre 4	4

4.8.Sağ kalım ve uzak metastaz:

İncelenen 61 hastanın takip sırasında 24'ü (%39.3) kaybedilmiş, 28 (%45.9) hastada ise hastalık tekrarı görülmüştür. Takip süresi ortalama 50.27 ± 30.6 (1-132) ay idi. Hastalıktan ölüm nöral invazyon, uzak metastaz, lokal rekürrens ve hastalık tekrarı ile doğru orantılıdır ($p=0.004$, $p=0.000$, $p=0.014$, $p=0.000$). Diğer klinikopatolojik parametreler ile ilişkili bulunmamıştır.

Takip süresince 24 hastada uzak organ metastazı gelişirken 16 hastada lokal rekürrens saptanmıştır. Metastaz ve lokal rekürrens birbirleriyle ve nöral invazyon ile doğru orantılı bulunmuştur ($p=0.009$, $p=0.03$, $p=0.046$).

Prognoz değerlendirmesine alınan 61 hastanın 3'ünde cerrahi tedavi sırasında uzak metastaz saptandı. Tutulan organ bunlardan ikisinde karaciğer, birinde ise omentumdur. Hastalardan bir tanesi postoperatif erken dönemde anastomoz kaçağına bağlı gelişen abdominal sepsis ve multiorgan yetmezliği nedeniyle kaybedildi. Takip sırasında gelişen uzak organ metastazları değerlendirildiğinde;

10 hastada izole karaciğer

4 hastada karaciğer+kemik

2 hastada karaciğer+akciğer

2 hastada karaciğer+beyin

1 hastada karaciğer+dalak+sürrenal

1 hastada kemik+akciğer

1 hastada ise karaciğer+medulla spinalis metastazı

saptandı. Genellikle cerrahi tedavi sonrası uzak organ metastazı ve lenfatik metastaz saptanan hastalarda adjuvan kemoterapi uygulanırken rektuma lokalize tümörlerde T3 ve T4 olarak değerlendirilen hastalara radyoterapi ve kemoterapi uygulandı. Hastalardan birisi ulaşılamaması nedeniyle takipten çıkarıldı. 60 hasta için hastalıksız sağ kalım süresi ortalama 75 ± 8 , toplam sağ kalım süresi ise 85 ± 7 ay bulunmuştur. Hastalıksız sağ kalım ve toplam sağ kalım süreleri kadın ve erkek olgularda farklı bulunmamıştır ($p=0.201$, $p=0.057$). Tüm olgularda hastalıksız sağ kalım 5 yıllık takip sonuçlarına göre %51, toplam sağ kalım ise %54 hesaplanmıştır. (Grafik 1,2)

Kolorektal karsinomlarda bilinen klinikopatolojik parametrelerin hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm üzerine etkileri tablo 7 ve 8'de özetlenmiştir

Tablo 7: Klinikopatolojik prognostik parametrelerin hastalık nüksü ile ilişkisi.

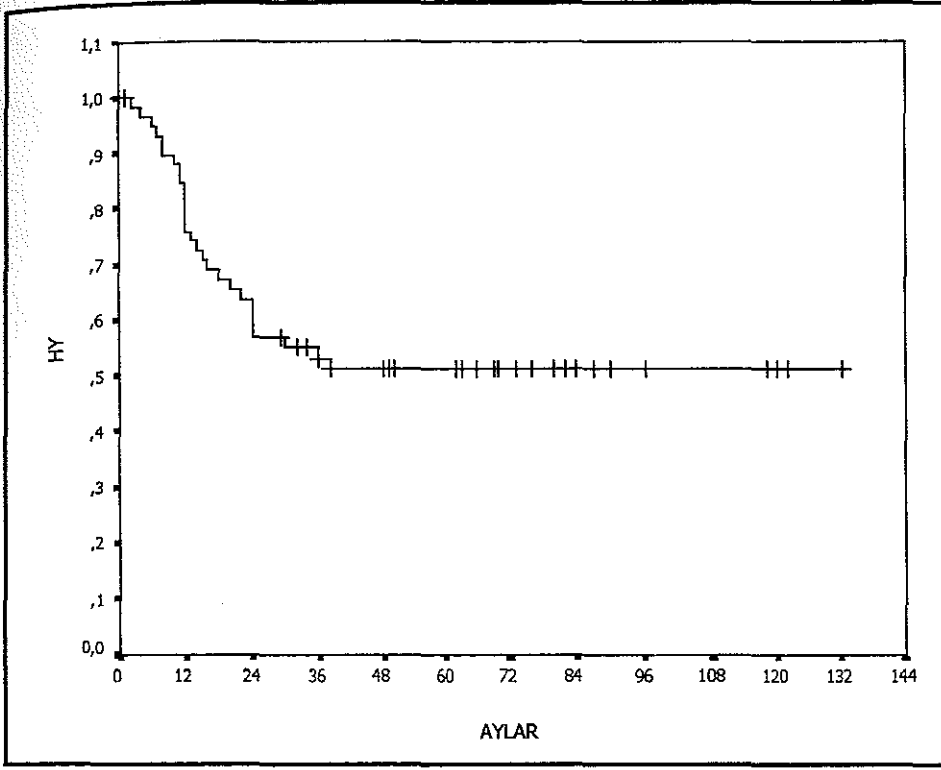
		Hastalık tekrarı var		Hastalık tekrarı yok			
		n	%	n	%	Toplam	p
Histopatolojik tip							
	Adenokarsinom	19	48,7	20	51,3	39	0,671
	Musinöz karsinom	9	42,8	12	57,2	21	
Grade							
	1	5	83,3	1	16,7	6	0,285
	2	18	41,8	25	58,2	43	
	3	5	45,4	6	54,6	11	
Evre							
	1	5	45,4	6	54,6	11	0,161
	2	5	23,8	16	76,2	21	
	3	14	58,3	10	41,7	24	
Lenfatik metastaz							
	Var	18	64,2	10	35,8	28	0,01 *
	Yok	10	31,2	22	68,8	32	
Venöz invazyon							
	Var	6	75	2	25	8	0,087
	Yok	22	42,3	30	57,7	52	
Lenfatik invazyon							
	Var	8	53,3	7	46,7	15	0,558
	Yok	20	44,4	25	55,6	45	
Nöral invazyon							
	Var	8	80	2	20	10	0,02 *
	Yok	20	40	30	60	50	
Çap							
	<4 cm	8	44,4	10	55,6	18	0,825
	≥4cm	20	47,6	22	52,4	42	
Yaş							
	< 50 yaş	7	41,1	10	58,9	17	0,599
	≥ 50 yaş	21	48,8	22	51,2	43	
Cins							
	Erkek	18	52,9	16	47,1	34	0,273
	Kadın	10	38,4	16	61,6	26	
Yer							
	Kolon	15	42,8	20	57,2	35	0,492
	Rektum	13	52	12	48	25	

* : İstatistiksel olarak anlamlı

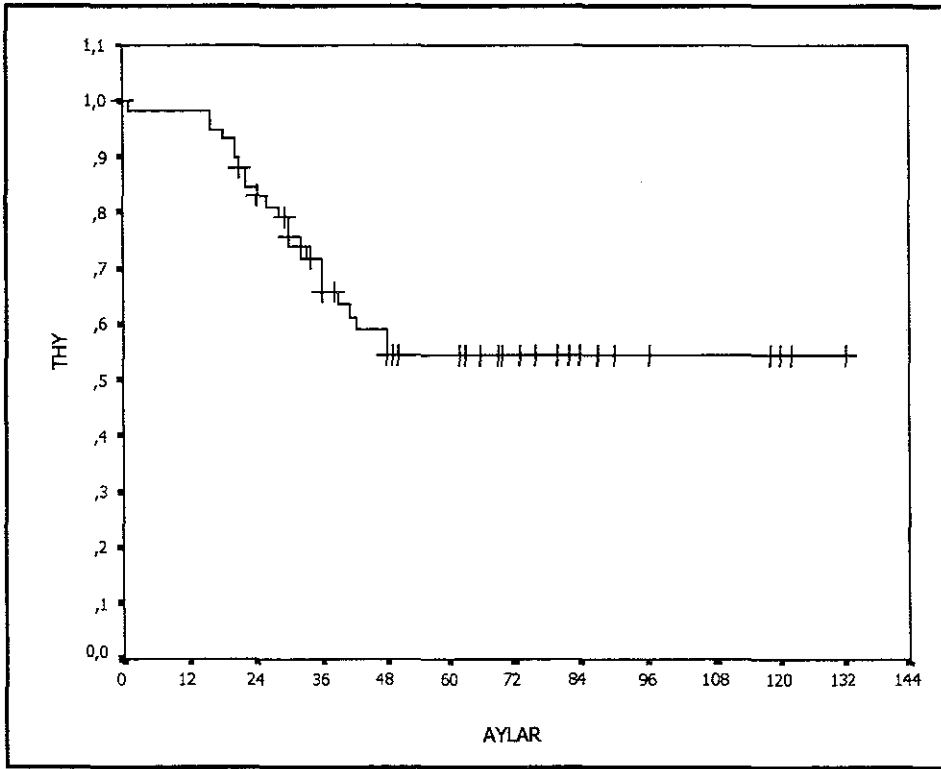
Tablo 8: Klinikopatolojik prognostik parametrelerin hastalık nedeniyle ölüm ile ilişkisi.

		Yaşayan Hastalar		Ölen Hastalar			
		n	%	n	%	Toplam	p
Histopatolojik tip							
Adenokarsinom		23	58,9	16	41,1	39	0,829
Musinöz karsinom		13	61,9	8	38,1	21	
Grade							
1		3	50	3	50	6	0,631
2		26	60,4	17	39,6	43	
3		7	63,6	4	36,4	11	
Evre							
1		6	54,5	5	45,5	11	0,577
2		16	76,1	5	23,9	21	
3		13	54,1	11	45,9	24	
Lenfatik metastaz							
Var		14	50	14	50	28	0,144
Yok		22	68,7	10	31,3	32	
Venöz invazyon							
Var		3	37,5	5	62,5	8	0,168
Yok		33	63,4	19	36,6	52	
Lenfatik invazyon							
Var		8	53,3	7	46,7	15	0,551
Yok		28	62,2	17	37,8	45	
Nöral invazyon							
Var		2	20	8	80	10	0,004 *
Yok		34	68	16	32	50	
Çap							
<4 cm		12	66,6	6	33,4	18	0,498
>=4cm		24	57,1	18	42,9	42	
Yaş							
< 50 yaş		11	64,7	6	35,3	17	0,647
>= 50 yaş		25	58,1	18	41,9	43	
Cins							
Erkek		17	50	17	50	34	0,073
Kadın		19	73	7	27	26	
Yer							
Kolon		21	60	14	40	35	1
Rektum		15	60	10	40	25	

* : İstatistiksel olarak anlamlı.



Grafik 1. Hastaliksız sağ kalım analizi (HY: Hasta yaşamı)



Grafik 2. Toplam sağ kalım analizi (THY: Toplam hasta yaşamı).

4.9. Nm23 İmmünreaktivitesi ile Klinikopatolojik Parametrelerin Karşılaştırılması:

İmmünhistokimyasal olarak incelenen 61 olgunun 4'ünde (%6.5) nm23 ile boyanma görülmedi. Yapılan skorelama sistemine göre ise 41 (%67.2) olgu pozitif 20 (%32.8) olgu negatif olarak kabul edildi (Resim 7,8,9).

Nm23 pozitifliğinin klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi değerlendirildiğinde hasta yaşı, tümör lokalizasyonu, tümör çapı, histolojik tip, metastaz varlığı, lenf nodülü metastazı, lokal rekürrens, tümör evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır. Nm23 pozitif 41 olgudan 19 tanesinde (%46.3) lenf nodülü metastazı saptanmış, 22 (%53.7) olguda ise lenf nodülü metastazı saptanmamıştır. Uzak metastaz ile nm23 pozitifliği değerlendirildiğinde ise 41 nm23 pozitif olgudan 14 (%34.1) tanesinde uzak metastaz görülmüş, 27 (%65.9) tanesinde görülmemiştir. Nm23 negatif 20 olgunun ise 10 tanesinde (%50) uzak metastaz izlenmiş, kalan 10 (%50) vakada ise uzak metastaz görülmemiştir. Evre 1 ve 2 ile evre 3 ve 4 olgu sayıları kendi aralarında toplanarak yapılan değerlendirmede, nm23 pozitif 41 olgunun 23 (%56.1) tanesi evre 1+2, 18 (%43.9) tanesi ise evre 3+4'tür. Sonuçta pozitif olguların %56.1'i erken evrelerde bulunmuştur. (Tablo 9).

Tablo 9: Nm23 immünreaktivitesine göre olguların lenf nodülü metastazı (LNM), uzak metastaz, tümör evresi ve histolojik tip dağılımı.

NM23	LNM		Uzak metastaz		Evre		Histolojik tip	
	+	-	+	-	1+2	3+4	Adeno	müsinöz
+ (n)	19	22	14	27	23	18	29	12
- (n)	9	11	10	10	10	10	11	9
Toplam (n)	28	33	24	37	33	28	40	21

Venöz invazyon ve lenfatik invazyon ile nm23 pozitifliği arasında ise ters korelasyon izlenmiştir ($p=0.006$, $p=0.001$). Venöz invazyon görülen 8 olgunun sadece 2 (%25) tanesinde, venöz invazyon olmayan 53 olgunun ise 39 (%73.5) tanesinde nm23 pozitifliği, lenfatik invazyon izlenen 15 olgudan 5'inde (%33.3), invazyon görülmeyen 46 olgudan ise 36'sında (%78.2) nm23 pozitifliği görülmüştür. Ayrıca her üç grade arasında nm23 pozitifliği ile anlamlı korelasyon izlenmezken, grade2 ve grade3 ile nm23 pozitifliği arasında ters korelasyon görülmüştür ($p=0.014$). Grade 2 olan 44 hastanın 33'ünde (%75), grade3 olan 11 hastanın ise 4 (%36.3) tanesinde nm23 pozitifliği tesbit edildi (Tablo10).

Tablo 10: Nm23 immünreaktivitesine göre olguların venöz invazyon (Vİ), lenfatik invazyon (Lİ), nöral invazyon (Nİ), grade dağılımı.

NM23	Vİ		Lİ		Nİ		Grade		
	+	-	+	-	+	-	1	2	3
+ (n)	2	39	5	36	6	35	4	33	4
- (n)	6	14	10	10	4	16	2	11	7
Toplam (n)	8	53	15	46	10	51	6	44	11

Nm23 pozitifliği ile diğer immünohistokimyasal boyaların pozitifliği arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamakla birlikte muhtemel hasta sayısının yetersizliği nedeniyle nm23 ile cathepsin D pozitifliği arasında izlenen ters korelasyon istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.057$).

4.10. Cathepsin D İmmünreaktivitesi ile Klinikopatolojik Parametrelerin Karşılaştırılması

Cathepsin D immünreaktivitesi tümör hücrelerinde sitoplazmada, granüler tarzda izlendi (Resim 10,11). Ayrıca tüm vakalarda tümör stromasında fibroblastlarda ve histiositlerde yoğun boyanma görüldü ve tümör içi pozitif kontrol olarak kullanıldı (Resim 12,13). Çalışmamızda kullanılan 61 olgudan 14'ünde cathepsin D ile boyanma görülmedi. Uygulanan skorlama sistemine göre ise 35 (%57.3) olgu negatif, 26 (%42.7) olgu pozitif kabul edildi. Cathepsin D pozitifliğinin klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi değerlendirildiğinde hasta yaşı, tümör çapı, tümör lokalizasyonu, tümör diferansiasyonu, histolojik tip, tümör evresi ile korelasyon göstermediği bulunmuştur. Cathepsin D pozitif 26 olgunun 10 (%38.5) tanesi de evre 1+2, 16 (%61.5) tanesi evre 3+4 idi. Bu sonuca göre ileri evrelerde daha fazla sayıda cathepsin D pozitifliği izlendiği söylenebilir. Ayrıca tümörün invazyon derinliği, venöz, lenfatik ve perinöral invazyon, lenf nodu metastazı ve metastaz sayısı, uzak metastaz ve lokal rekürrens ile cathepsin D pozitifliği arasında ilişki görülmemiştir. Cathepsin D pozitif 26 hastadan 15'inde (%57.6) lenfatik metastaz görülmüş, negatif olan grupta ise 35 hastadan 13'ünde (%37) lenf nodülü metastazı izlenmiştir (Tablo 11)

Tablo 11: Cathepsin D immünreaktivitesine göre olguların lenf nodülü metastazı (LNM), lokal rekürrens, tümör evresi ve histolojik tip dağılımı.

Cathepsin D	LNM		Lokal rekürrens		Evre		Histolojik tip	
	+	-	+	-	1+2	3+4	Adeno	müsinöz
+	15	11	12	14	10	16	17	9
-	11	22	4	31	23	12	23	12
Toplam	28	33	16	45	33	28	40	21

Lenfatik invazyon değerlendirildiğinde ise cathepsin D pozitif gruptan 7 (%26.9) olguda invazyon görülürken negatif grupta 8 (%22.8) olguda invazyon tesbit edilmiştir. Aynı şekilde perinöral invazyon cathepsin D pozitif olgulardan 6 (%23.1) tanesinde negatif grupta ise 4 (%11.4) olguda bulunmuştur. İnvazyon derinliğine göre ise cathepsin D pozitif 26 olgunun 1 tanesi T1, 4 tanesi T2, 17 tanesi T3, 4 tanesinde T4 bulunmuştur. Lokal rekürrens saptanan 16 olgudan 12 (%75) tanesi cathepsin D pozitif bulunmuştur (Tablo 12).

Tablo 12: Cathepsin D immünreaktivitesine göre olguların venöz invazyon (Vİ), lenfatik invazyon (Lİ), nöral invazyon (Nİ), invazyon derinliği dağılımı.

Cathepsin D	Vİ		Lİ		Nİ		İnvazyon derinliği			
	+	-	+	-	+	-	T1	T2	T3	T4
+ (n)	3	23	7	19	6	20	1	4	17	4
- (n)	5	30	8	27	4	31	1	5	19	10
Toplam (n)	8	53	15	46	10	51	2	9	36	14

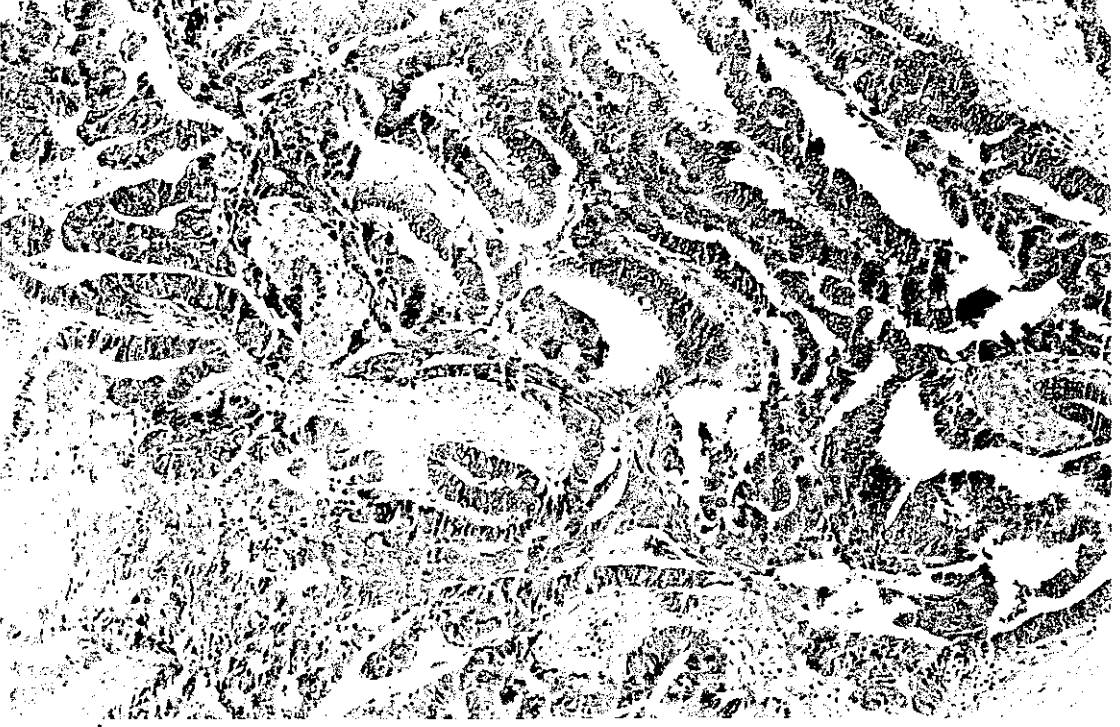
4.11. HCG İmmünreaktivitesi ile Klinikopatolojik Parametrelerin Karşılaştırılması

Oluşturulan skora göre HCG ile 21 (%35) hasta pozitif, 39 (%65) hasta negatif izlenmiştir (Resim 14,15,16). 61 olgudan bir tanesi parafin bloklarda yeterli tümör dokusu izlenmediği için immünohistokimyasal değerlendirme yapılamadı. HCG immünreaktivitesi klinikopatolojik parametreler ve uygulanan diğer immünohistokimyasal boyalar ile korelasyon göstermemektedir. Müsinöz adenokarsinom tanısı olan 21 olgunun 8 (%38) tanesinde HCG pozitif izlenmiştir. Ayrıca lenfatik, perinöral ve venöz

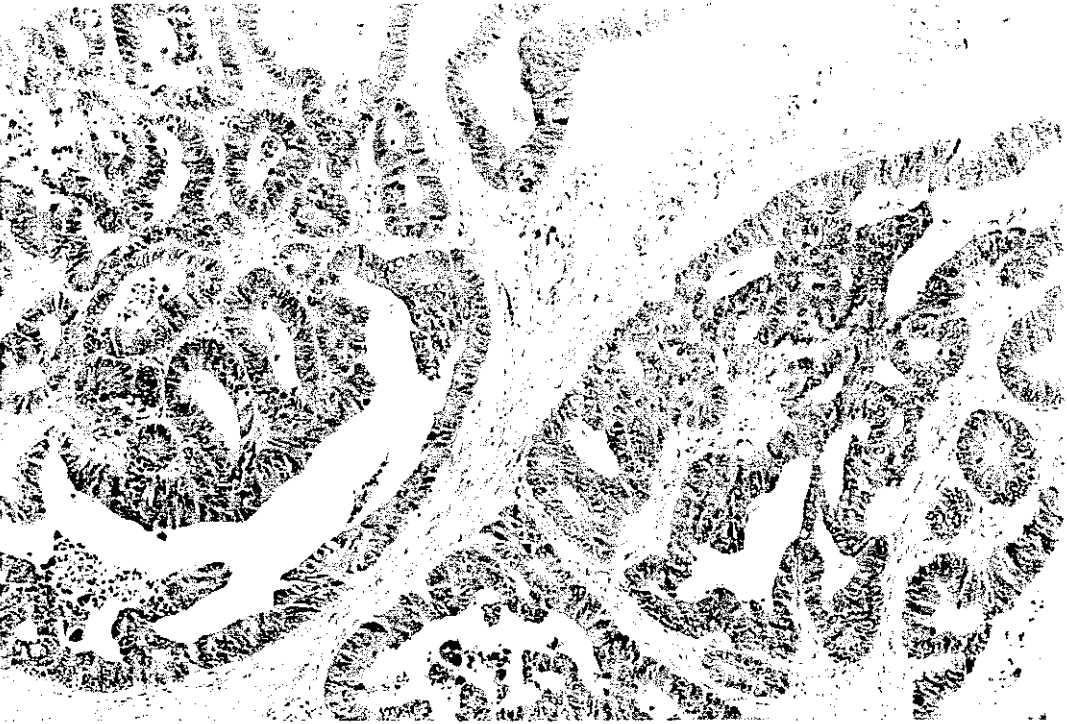
invazyon, tümör evresi ve tümör diferansiasyonu ile HCG pozitifliği arasında anlamlı ilişkisi görülmemiştir (Tablo 13).

Tablo 13: HCG immünreaktivitesine göre olguların lenf nodülü metastazı (LNM), grade, tümör evresi ve histolojik tip dağılımı.

HCG	LNM		Grade			Evre		Histolojik tip	
	+	-	1	2	3	1+2	3+4	Adeno	müsinöz
+ (n)	12	9	3	14	4	10	11	13	8
- (n)	16	23	3	29	7	22	17	26	13
Toplam (n)	28	32	6	43	11	32	28	39	21



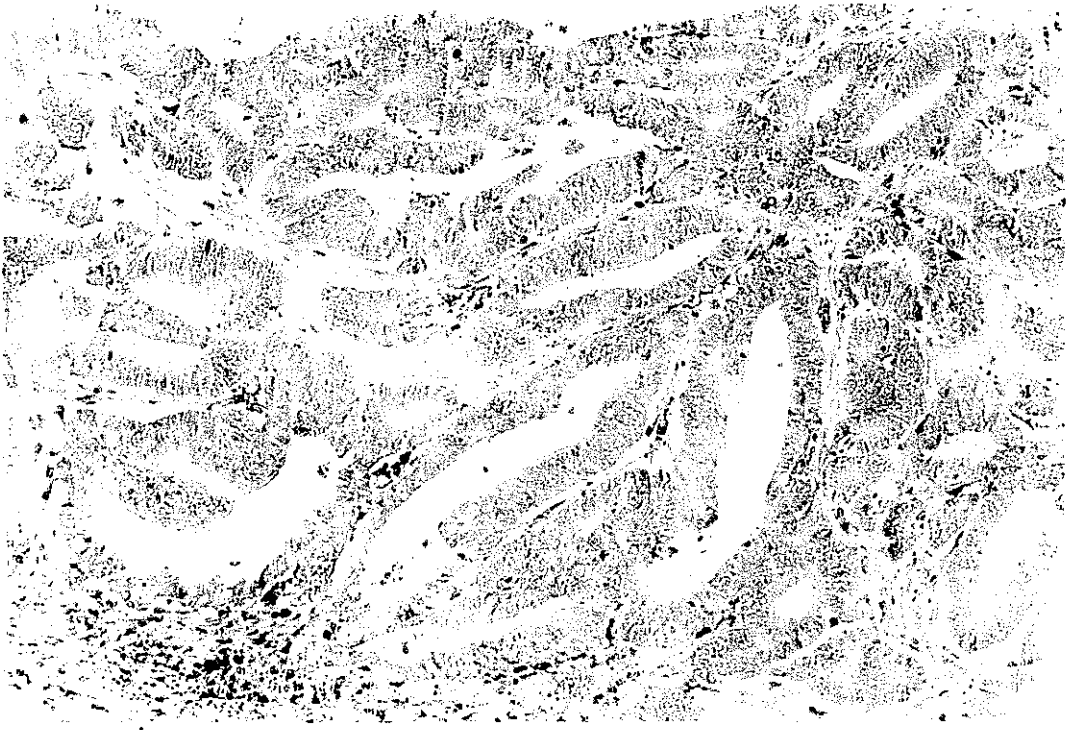
Resim 7: İyi diferansiye adenokarsinom olgusunda nm23 ile tümör hücrelerinde sitoplazmik boyanma. X 10.



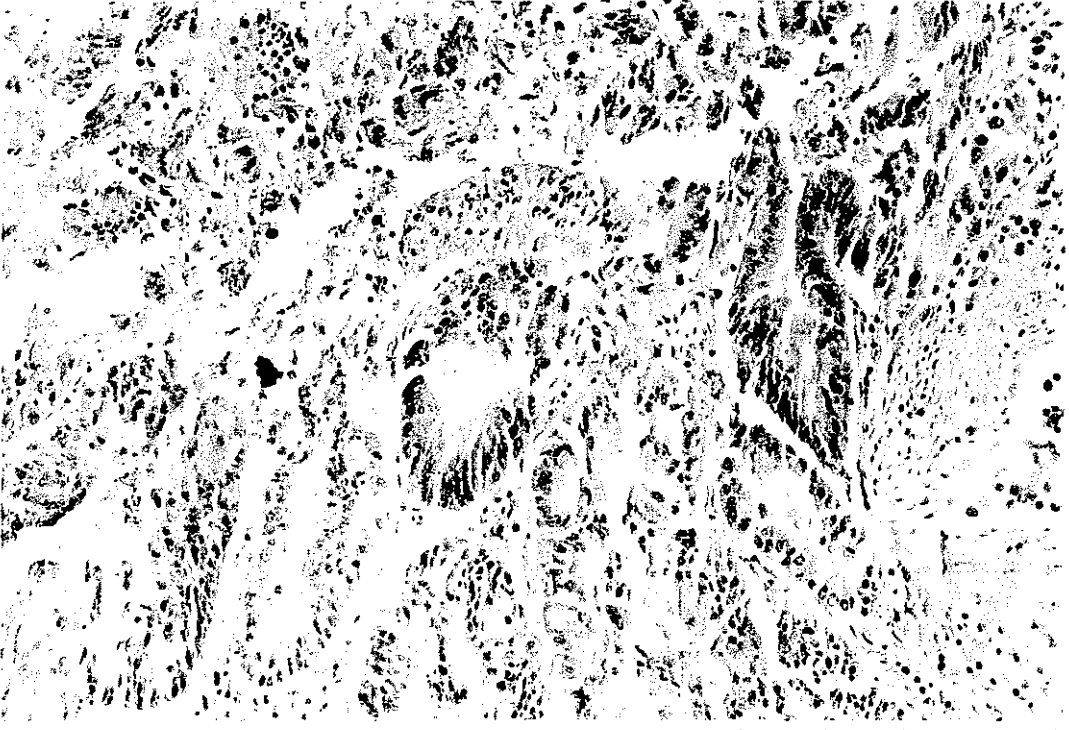
Resim 8: Adenokarsinom olgusunda nm23 ile yaygın ve şiddetli sitoplazmik boyanma. X 10.



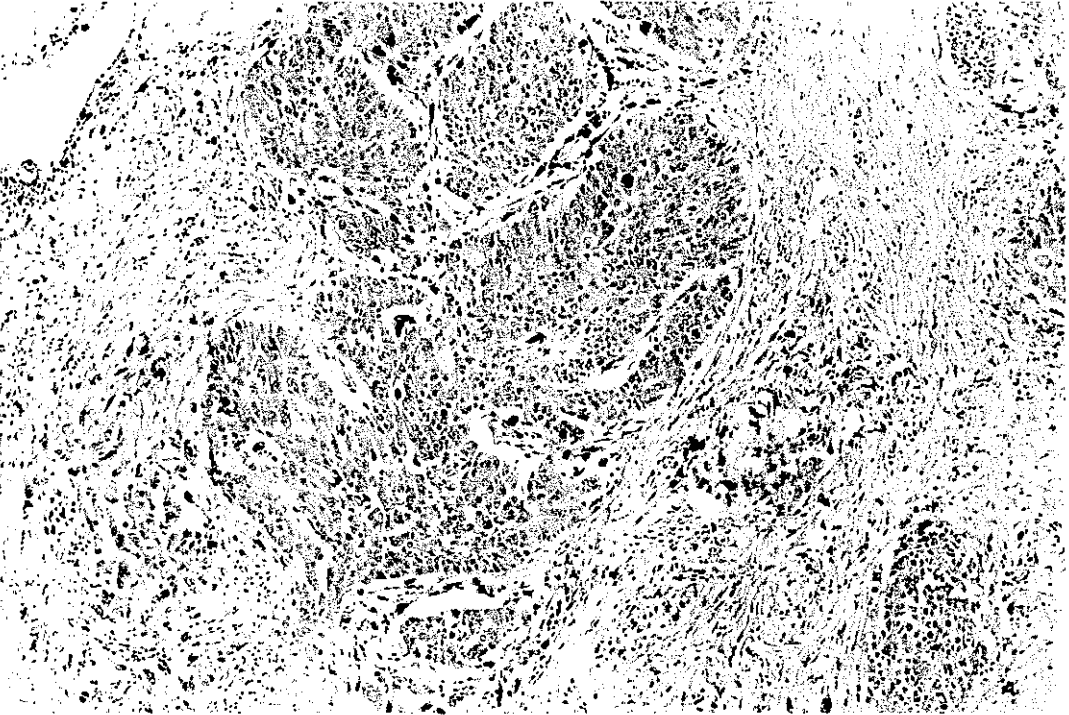
Resim 9: Kötü diferansiye adenokarsinom olgusunda sitoplazmik nm23 boyanması. X 20.



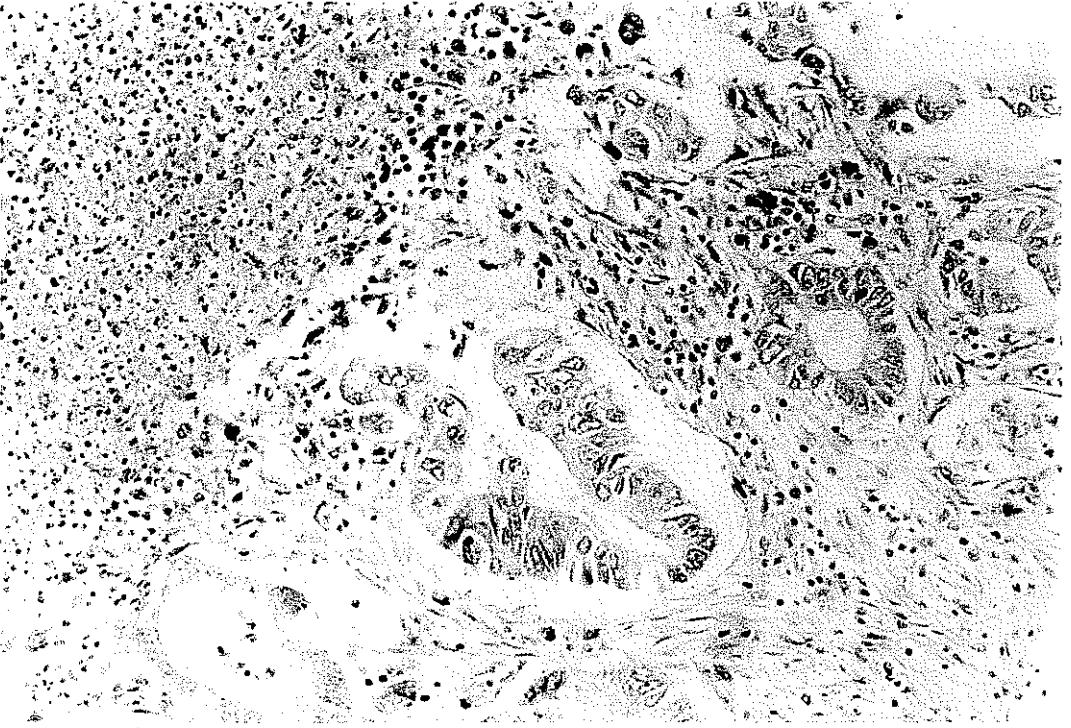
Resim 10: İyi diferansiye adenokarsinom olgusunda sitoplazmik granüler cathepsin D pozitifliği. X 10.



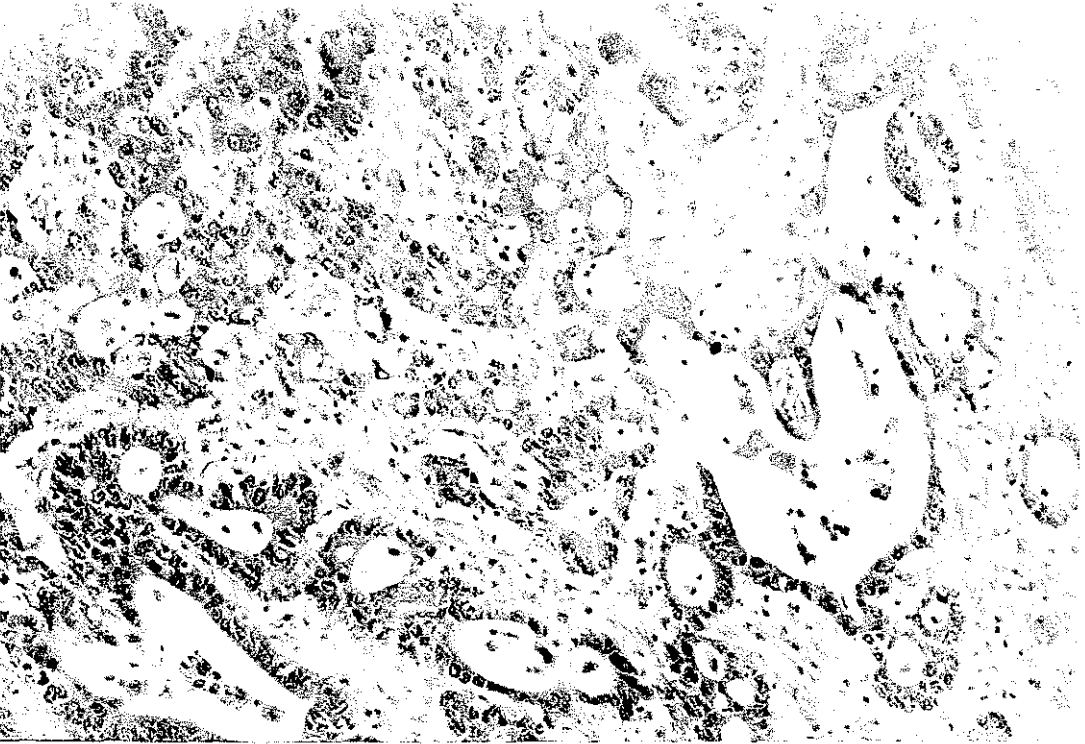
Resim 11: Adenokarsinom olgusunda bazı tümör hücrelerinde cathepsin D ile şiddetli sitoplazmik boyanma. X 20.



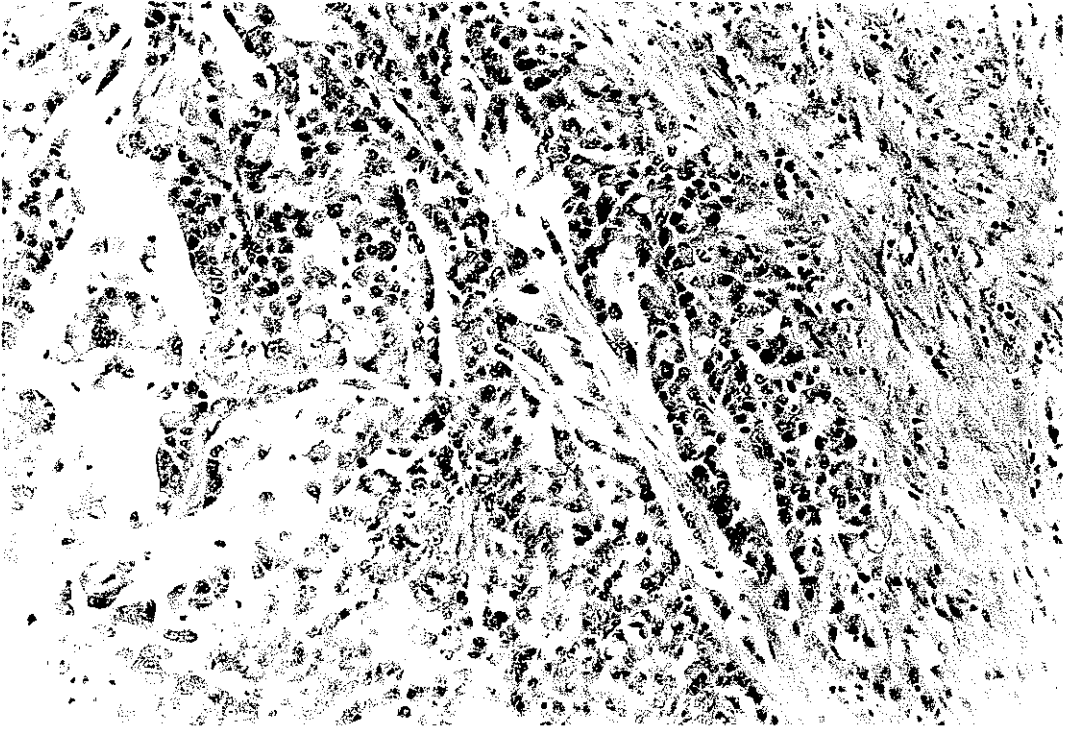
Resim 12: Kötü diferansiye adenokarsinom olgusunda tümör hücrelerinde ve stromal yangı hücrelerinde yoğun cathepsin D boyanması. X 10.



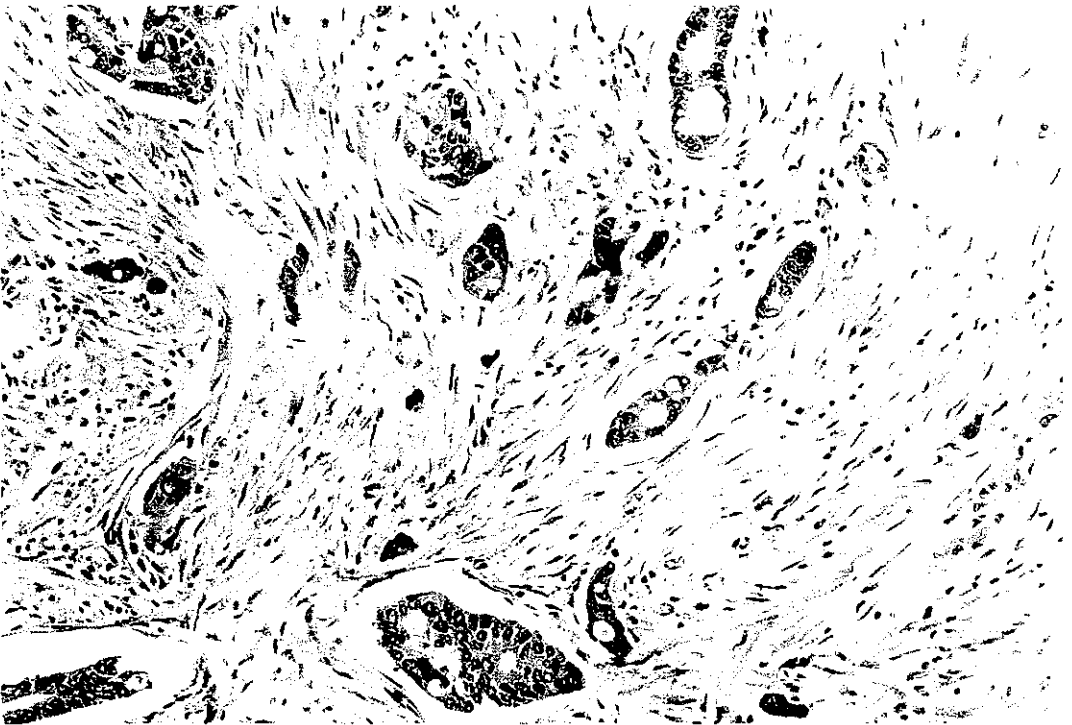
Resim 13: İyi diferansiye adenokarsinomda tümör hücrelerinde hafif, yangı hücrelerinde yoğun cathepsin D pozitifliği. X 20.



Resim 14: Adenokarsinom olgusunda yaygın, şiddetli sitoplazmik HCG pozitifliği. X 20.



Resim 15: Müsinöz adenokarsinom olgusunda HCG pozitifliği. X 20.



Resim 16: Adenokarsinom olgusunda tümör hücrelerinde tek tek ve gruplar halinde HCG pozitifliği. X 20.

4.12.Nm23, Cathepsin D, HCG İmmünreaktivitesinin Hastalık Tekrarı ve Hastalık Nedeniyle Ölüm ile İlişkisi

Nm23 pozitifliğinin hastalık tekrarı üzerine olan etkisi değerlendirildiğinde 41 nm23 pozitif olgudan 16 (%39) tanesinde hastalık tekrarı izlenmiş 24 (%61) tanesinde ise hastalık tekrarı görülmemiştir. Nm23 negatif 20 olguda ise 12 (%60) tanesinde hastalık tekrar etmiş, 8 (%40) tanesinde de hastalık tekrarı görülmemiştir. Bununla birlikte hastalık tekrarı ile nm23 immünreaktivitesi arasında istatistiksel anlamlı sonuç bulunmamıştır ($p=0.143$). (Tablo 14, grafik 3) Hastalıktan ölüm değerlendirildiğinde ise nm23 pozitif 41 hastadan 13'ü (%31.7) ölmüş 28'i (%68.3) ise yaşamakta, 20 nm23 negatif olgudan ise 11'i (%55) ölmüş, 9'u (%45) ise yaşamaktadır. Fakat nm23 pozitif ve negatif grup arasında hastalıktan ölüm değerlendirmesinde istatistiksel anlamlı sonuç görülmemiştir ($p=0.094$) (Tablo 15, grafik 4).

Cathepsin D pozitifliğinin hastalık tekrarı üzerine olan etkisi değerlendirildiğinde doğru orantı tesbit edilmiş hastalık tekrarı olmayan grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç çıkarılmıştır ($p=0.042$). Cathepsin D pozitif grup içinde 16 (%61.5) olguda hastalık tekrarı görülürken, 10 (%38.5) tanesinde nüks görülmemiştir. Buna göre cathepsin D pozitif grupta daha fazla oranda nüks tesbit edildiği sonucu çıkarılmıştır. Cathepsin D negatif grupta ise 22 (%64.7) olguda hastalık tekrarı görülmemiş, 12 (%35.3) olguda hastalık tekrarı izlenmiştir. (Tablo 14, grafik 3) Hastalık nedeniyle ölüm üzerinde cathepsin D pozitifliğinin etkisi değerlendirildiğinde ise 13 (%50) hasta kaybedilmiş, 13 (%50) hasta yaşamakta, negatif grupta ise 11 (%31.5) hasta kaybedilmiş 24 (%68.5) hasta yaşamakta olup takip süresince yaşayan ve kaybedilen grup arasında

cathepsin D pozitifliği yönünden anlamlı korelasyon izlenmemiştir ($p=0.167$) (Tablo 15, grafik 4).

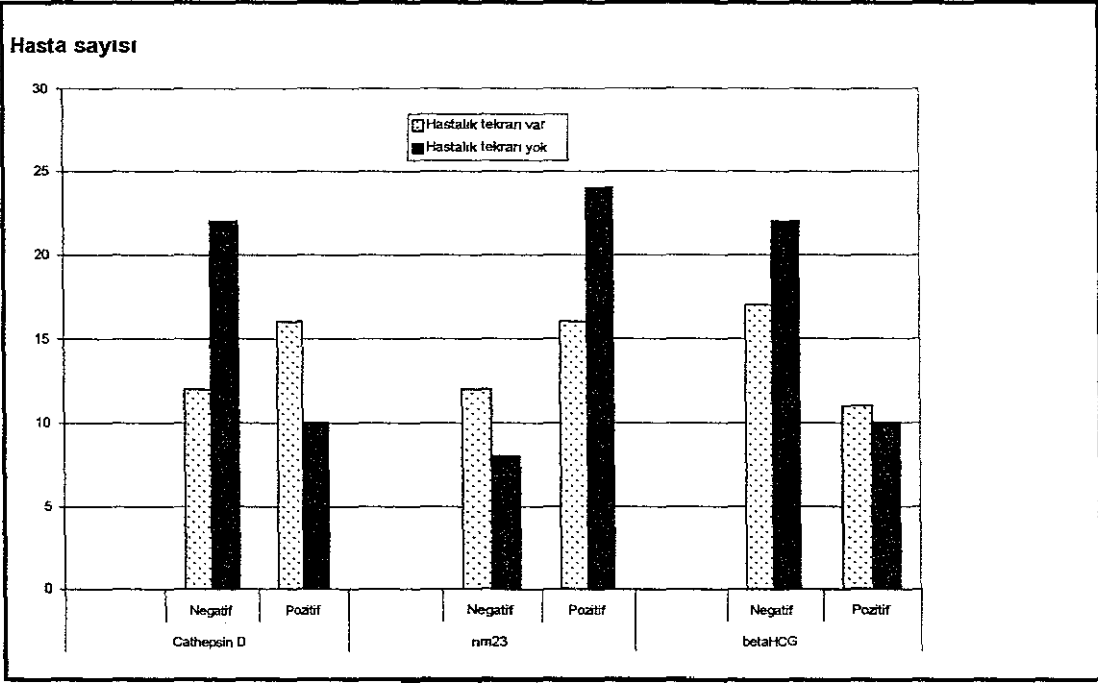
Human chorionic gonadotropin pozitifliğinin hastalık tekrarı üzerine olan etkisi değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmamıştır ($p=0.515$). Bununla birlikte HCG pozitif olgulardan 11'inde (%52.3) hastalık tekrarı görülürken 10'unda (%47.7) görülmemiştir (Tablo 14, grafik 3). Hastalıktan ölüm değerlendirildiğinde ise HCG immünreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı korelasyon göstermemektedir ($p=0.825$) (Tablo 15, Grafik 4).

Tablo 14: Nm23, cathepsin D,HCG immünreaktivitelerinin hastalık tekrarı ile ilişkisi.

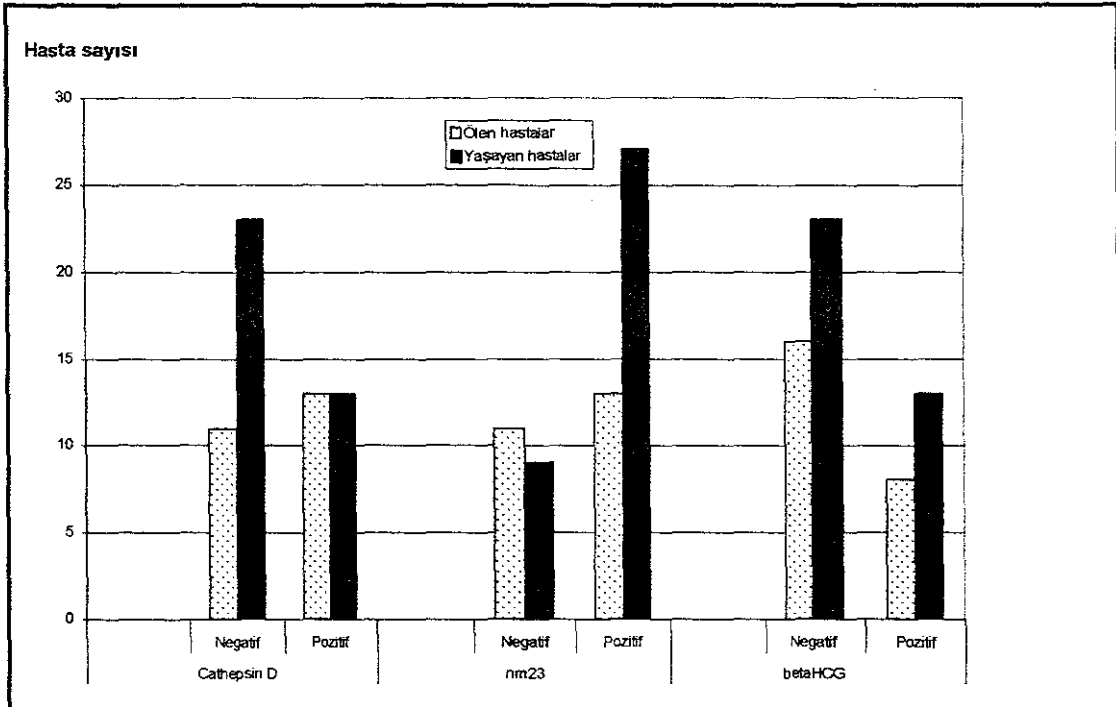
		Hastalık tekrarı var		Hastalık tekrarı yok		Toplam	p
		n	%	n	%		
Cathepsin D	Negatif	12	35,3	22	64,7	34	0,042
	Pozitif	16	61,5	10	38,5	26	
Nm23	Negatif	12	60	8	40	20	0,143
	Pozitif	163	39	25	61	41	
BetaHCG	Negatif	17	43,5	22	56,5	39	0,515
	Pozitif	11	52,3	10	47,7	21	

Tablo 15: Nm23, cathepsin D,HCG immünreaktivitelerinin hastalık nedeniyle ölüm ile ilişkisi.

		Ölen hastalar		Yaşayan hastalar		Toplam	p
		n	%	n	%		
Cathepsin D	Negatif	11	31,5	24	68,5	35	0,167
	Pozitif	13	50	13	50	26	
Nm23	Negatif	11	55	9	45	20	0,094
	Pozitif	13	31,7	28	68,3	41	
HCG	Negatif	16	41	23	59	39	0,825
	Pozitif	8	38	13	62	21	



Grafik 3: Nm23, cathepsin D, HCG immünreaktivitesinin hastalık tekrarı ile ilişkisi.



Grafik 4: Nm23, cathepsin D, HCG immünreaktivitesinin hastalıktan ölüm ile ilişkisi.

Hastalık tekrarı üzerinde birden fazla faktörün aynı anda etkisinin incelenmesinde lenf nodülü metastazı, perinöral invazyon, histolojik tip, nm23, cathepsin D, HCG immünreaktivitelerinin bağımsız olarak etkileri yoktur ($p=0.758$). Aynı parametrelerin bağımsız olarak hasta ölümünü de etkilemedikleri görülmüştür ($p=0.949$).

4.13. Nm23, Cathepsin D, HCG İmmünreaktivitesinin Hastalıksız Sağ Kalım ve Toplam Sağ Kalım Süresi ile İlişkisi

Sağ kalım analizleri sonucunda nm23 pozitif olan grupta hastalıksız sağ kalım süresi ortalama 78 ± 8 ay, total sağ kalım süresi ise 88 ± 8 ay olup, negatif olan grupta hastalıksız sağ kalım süresi ortalama 58 ± 13 ay, total sağ kalım süresi ise 67 ± 12 ay bulunmuştur ve istatistiksel anlamı olmasa da nm23 negatif olan grubun daha erken rekürrens gösterip, daha erken kaybedildiği sonucunu çıkarabiliriz (Tablo 16,17). Nm23 pozitif ve negatif gruplarda 5 yıllık hastalıksız sağ kalım oranları sırasıyla %57 ve %36, total sağ kalım sonuçları ise sırasıyla %62 ve %36 bulunmuştur (Grafik 5,6).

Cathepsin D pozitif olgularda hastalıksız sağ kalım süresi ortalama 60 ± 11 , total sağ kalım ise 71 ± 11 ay, negatif olan grupta ise hastalıksız sağ kalım süresi ortalama 80 ± 9 ay, toplam sağ kalım ise 86 ± 8 ay olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak anlamlı olmasada bu sonuçlardan cathepsin D pozitifliğinin hasta yaşam süresi ve nüks süresini kısalttığı sonucunu çıkarabiliriz (Tablo 16,17). Cathepsin D pozitif ve negatif gruplarda 5 yıllık takip sonuçları değerlendirildiğinde hastalıktan bağımsız sağ kalım sırası ile %38 ve %62, total sağ kalım sonuçları ise sırasıyla %39 ve %64 olarak bulunmuştur (Grafik 7,8).

Hastalıksız sağ kalım süresi HCG pozitif olgularda ortalama 65 ± 11 , total sağ kalım ise 81 ± 11 ay, negatif olan grupta ise hastalıksız sağ kalım

süresi ortalama 78 ± 10 , total sağ kalım ise 85 ± 9 ay olarak bulunmuştur (Tablo 16,17). İstatistiksel olarak anlamlı olmasada bu sonuçlar HCG pozitifliğinin hastalıksız sağ kalım ve total sağ kalım süresini kısalttığı söylenebilir. HCG pozitif ve negatif gruplarda 5 yıllık hastalıktan bağımsız sağ kalım sonuçları sırası ile %45 ve %54, total sağ kalım sonuçları ise her iki grupta %55 olarak hesaplanmıştır (Grafik 9,10).

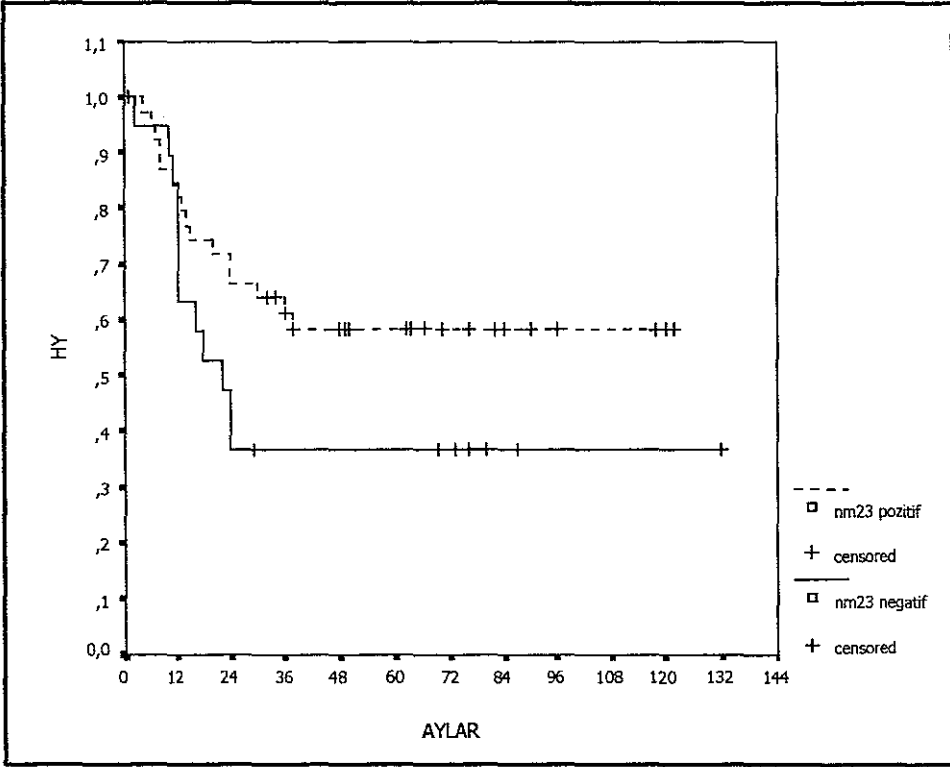
Multivariations analizde hastalıksız sağ kalım ve total sağ kalım süresi üzerinde yukarıdaki altı parametrenin etkisi incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmamıştır ($p=0.227$, $p=0.667$).

Tablo 16: Nm23, cathepsin D,HCG immünreaktivitesinin hastalıksız sağ kalım süresi üzerindeki etkisi.

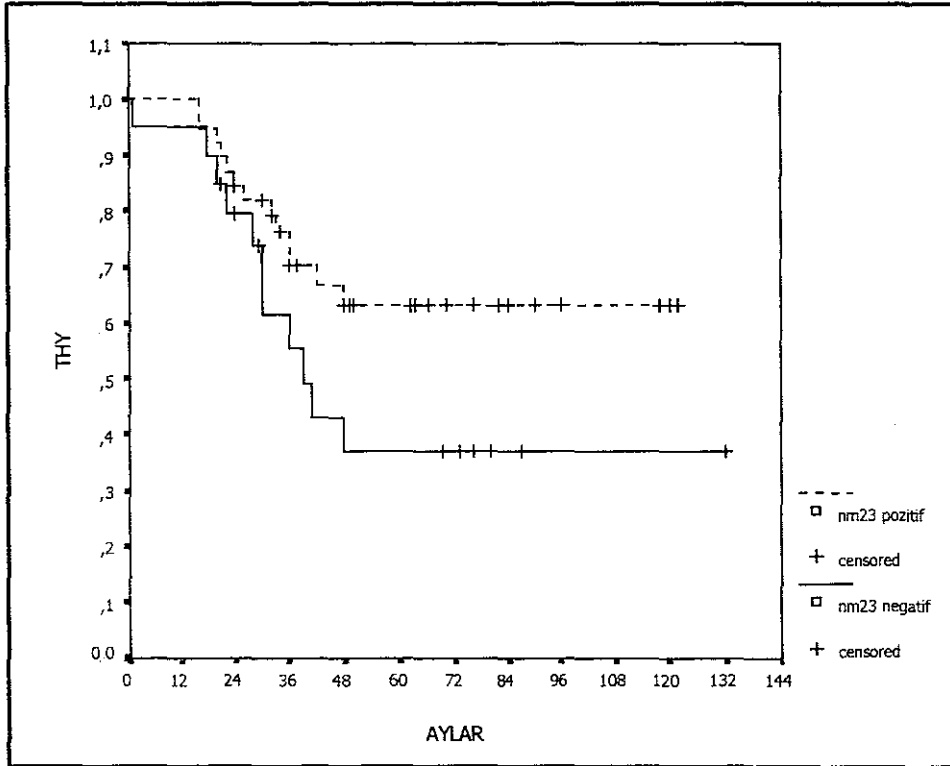
HSK		Ortalama (ay)	SD	p
Nm23	-	58	13	0.1
	+	78	8	
Cathepsin D	-	80	9	0.07
	+	60	11	
HCG	-	78	10	0.62
	+	65	12	

Tablo 17: Nm23, cathepsin D, HCG immünreaktivitesinin toplam sağ kalım süresi üzerindeki etkisi.

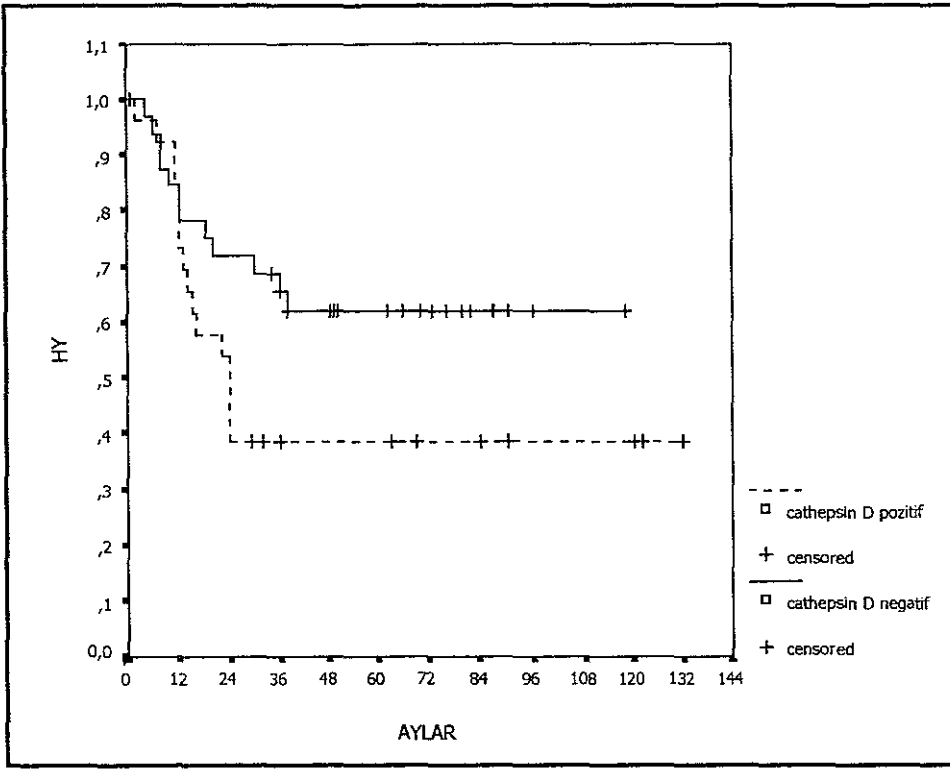
TSK		Ortalama (ay)	SD	p
Nm23	-	67	12	0.08
	+	88	8	
Cathepsin D	-	86	8	0.15
	+	71	11	
HCG	-	85	9	0.97
	+	81	11	



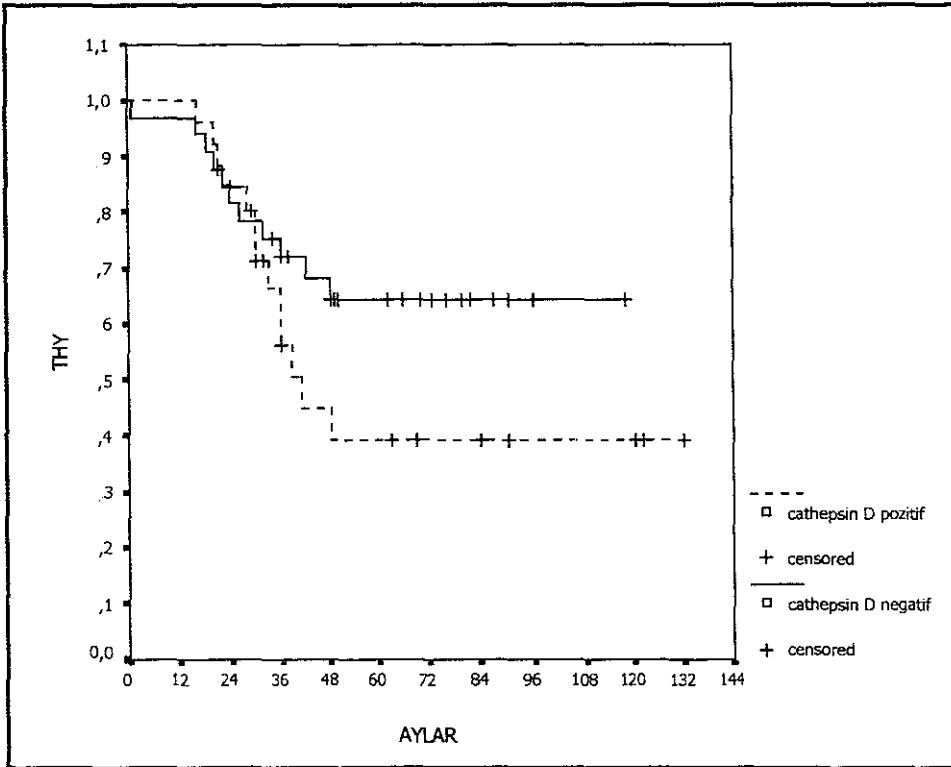
Grafik 5. Nm23 pozitif ve negatif olgularda hastalıksız sağ kalım analizi (HY: Hasta yaşamı)



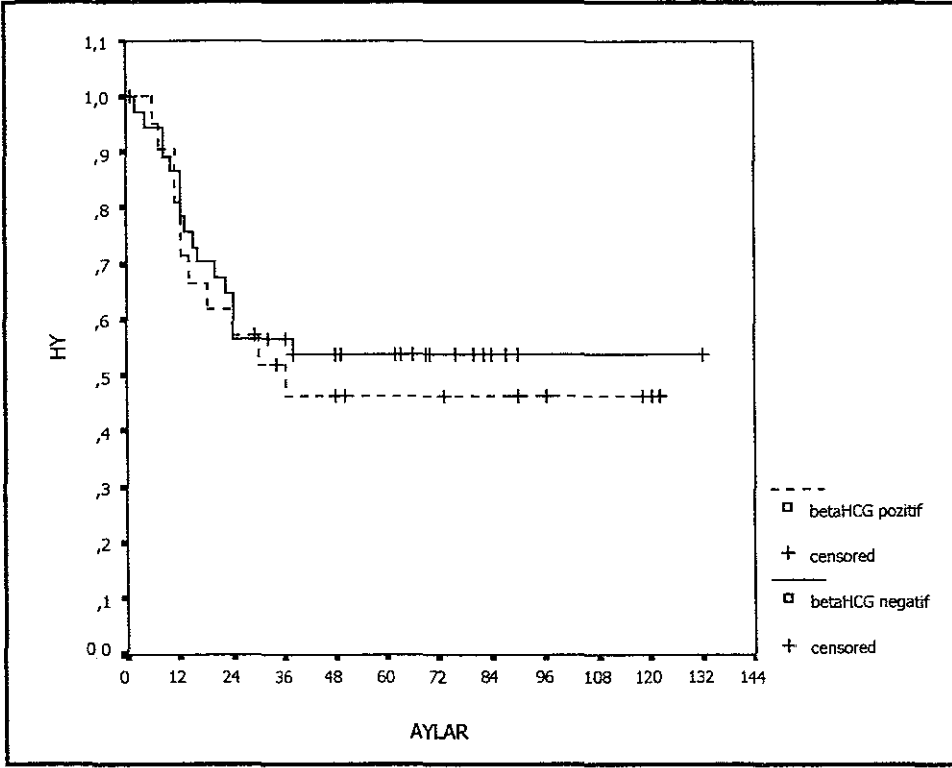
Grafik 6. Nm23 pozitif ve negatif olgularda toplam sağ kalım analizi (THY: Toplam hasta yaşamı).



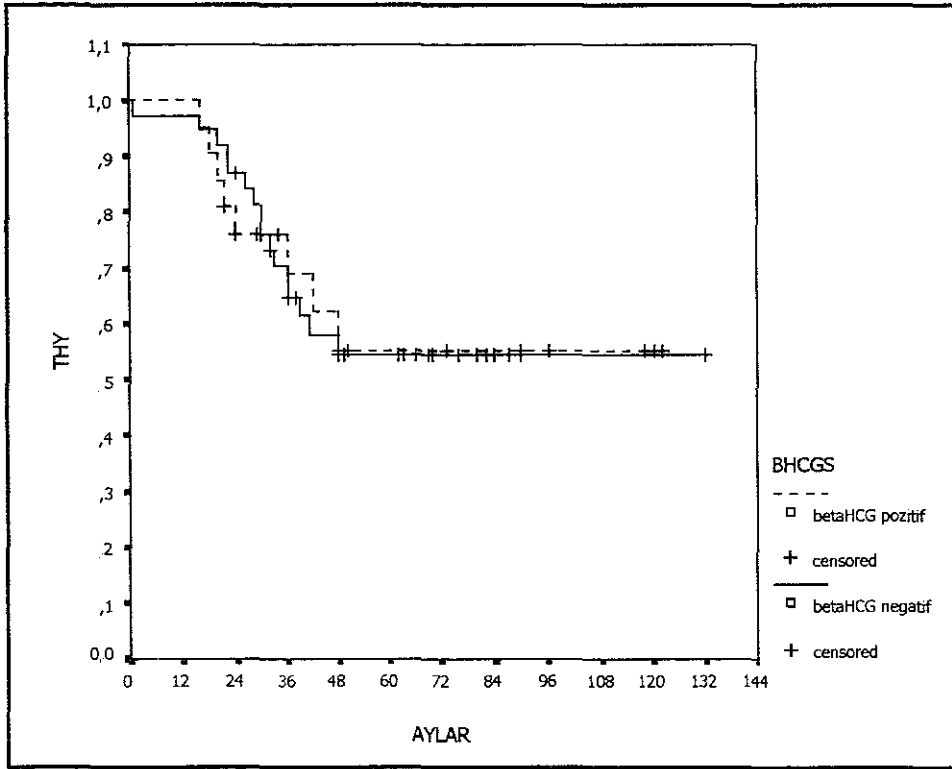
Grafik 7. Cathepsin D pozitif ve negatif olgularda hastalıksız sağ kalım analizi (HY: Hasta yaşamı).



Grafik 8. Cathepsin D pozitif ve negatif olgularda toplam sağ kalım analizi (THY: Toplam hasta yaşamı).



Grafik 9. HCG pozitif ve negatif olgularda hastalıksız sağ kalım analizi (HY: Hasta yaşamı).



Grafik 10. HCG pozitif ve negatif olgularda toplam sağ kalım analizi (THY: Toplam hasta yaşamı).

5.TARTIŞMA

Kolorektal karsinomlar günümüzde halen kansere bağlı ölüm nedenleri arasında akciğer karsinomlarından sonra 2 sırada yer alan malign tümörlerdir (1,2,3,4). Yüksek riskli populasyonlarda diyet alışkanlıklarının kontrolü ve kanser tarama programlarının uygulanması, erken tanı yöntemlerindeki ilerlemeler, cerrahi ve medikal tedavi protokollerindeki gelişmelere rağmen kolorektal karsinomların prognozlarında belirgin iyileşme görülmemekte ve insanlığın önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (1,5). Küratif amaçlı cerrahi tedaviye rağmen 5 yıllık sağ kalım kolon karsinomlarında %76.3 rektumda ise %56.5 olarak bildirilmektedir (65). Bu durum bilinen prognostik parametrelere yardımcı moleküler düzeyde yeni parametrelere ihtiyacı arttırmaktadır. Yüksek riskli hasta populasyonunun seçimini kolaylaştırmak, homojen alt gruplar oluşturabilmek ve bu amaca yönelik yeni moleküler belirleyiciler elde edebilmek amacıyla bu çalışmada immünohistokimyasal olarak nm23, cathepsin D, beta-HCG ekspresyonları değerlendirildi ve hastalıksız sağ kalım ve toplam sağ kalım üzerindeki etkileri incelendi.

Kolorektal karsinomlar genellikle 40-60 yaş arasında görülürler ve kadın/erkek oranı yaklaşık eşittir (5). Bizim olgularımızda da yaş ortalaması literatür ile uyumlu olarak kadın ve erkeklerde sırasıyla 60.6 ve 55.2'dir, ayrıca kadın/erkek oranı 5/7 olarak hesaplanmıştır.

Müsinöz adenokarsinomlar tüm epitelyal kolorektal kanserlerin %10-15'ini oluştururlar (1). Bizim serimizde tüm olgular WHO sınıflamasına göre değerlendirilmiş olup 40 olgu adenokarsinom, 19 olgu müsinöz adenokarsinom ve 2 olguda da her iki tip beraber bulunmuştur. Buna göre

müsinöz adenokarsinom bizim serimizde %31.1 oranda bulunmuştur ve bu değer literatürdeki %10-15 oranına göre oldukça yüksektir. Literatürde müsinöz adenokarsinomların prognozunun daha kötü olduğu bildirilmekle birlikte bizim serimizde hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm üzerinde tümör tipinin anlamlı etkisi olmadığı sonucu çıkarılmıştır.

Kolorektal karsinomlar en sık rektosigmoid bölgede ikinci sıklıkla da sağ kolonda lokalizedirler (6). Çalışmamızda kolorektal tümörler %39.3 rektum, %27.9 sigmoid, %16.4 sağ kolon, %9.8 sol kolon, %1.6 transvers kolon, %5 oranda da multiple yerleşimli bulunmuştur. Rektosigmoid bölge %67.2 oranı ile vakaların büyük bir kısmını oluşturmakta ve bu sonuç bölgemizin yüksek riskli olarak değerlendirilerek kolorektal karsinomların erken tespitine yönelik tarama programları geliştirme zorunluluğunu doğurmuştur. Russel ve arkadaşlarının bir çalışmasında rektosigmoid lokalizasyonlu tümörlerin en kötü, sol kolon tümörlerinin ise en iyi prognoza sahip oldukları rapor edilmiş, başka bir çalışmada ise kolorektal karsinom lokalizasyonunun hastalıksız sağ kalım üzerinde etkisi olmadığı bildirilmiştir (64,76). Bizim çalışmamızda ise tümör lokalizasyonu klinikopatolojik parametreler hastalık tekrarı ve hastalık nedeniyle ölüm üzerinde etkili bulunmamıştır.

Klasik olarak diğer tümörlerde çap prognoz tahmininde önemli bir parametre olmakla birlikte kolorektal karsinom ile ilgili pek çok çalışmada tümör çapının prognostik önemi olmadığı sonucu çıkarılmıştır (66,67,69). Bir çalışmada ise tümör duvar kalınlığının metastaz kapasitesini attırdığı ve hasta yaşam süresi üzerinde olumsuz etki yaptığı belirtilmektedir (85). Bizim çalışmamızda tümör çapı 4 cm altı ve 4 cm üzeri olmak üzere iki grup oluşturularak değerlendirilmiş ve diğer klinikopatolojik parametreler nüks ve hastalık nedeniyle ölüm ile ilişkili bulunmamıştır.

Tümör diferansiasyonu pek çok tümörde olduğu gibi kolorektal karsinomlarda da önemli bir prognostik parametre olarak kabul edilmektedir. Literatürde 400 vakadan oluşan bir çalışmanın sonucuna göre hastalık tekrarı ile diferansiasyon ilişkili bulunmuş, ayrıca 503 vakalık başka bir çalışmada ise kötü diferansiye tümörlerin daha kötü prognoza sahip oldukları belirtilmiştir (66,73). Brodsky ve arkadaşlarının bir çalışmasında da kötü diferansiye tümörlerde %50 oranda lenf nodülü metastazı tespit edilmiştir (74). Bununla birlikte literatürde diferansiasyonun 5 yıllık yaşam oranı üzerinde istatistiksel anlamlı etkisi olmadığını bildiren otörlerde vardır (64). Bizim çalışmamızda da diferansiasyon nüks ve hastalık nedeniyle ölüm ile ilişkili bulunmamıştır. Vaka sayımızın bahsedilen yayınlardaki serilerden oldukça az olması bu sonucu doğurmuş olabilir.

Daha önceki çalışmaların sonuçlarına göre lenfatik invazyon kolorektal karsinomlarda tümör evresi arttıkça ve diferansiasyon düzeyi kötüleştikçe artar ve daha kısa hasta yaşamına neden olmaktadır (1,5). Bizim çalışmamızda ise lenfatik invazyon hiçbir parametre ile ilişkili bulunmamıştır fakat lenfatik invazyon tesbit edilen 15 olgunun 8 (%53) tanesinde hastalık nüksü görülmüş ayrıca lenfatik invazyon taşımayan 45 hastanın ise 17'si (%37.7) hastalık nedeniyle kaybedilmiştir. Bu sonuçlar lenfatik invazyonun kötü prognoz göstergesi olduğu bilgisini desteklemektedir.

Kolorektal karsinomlarda vasküler ve perinöral invazyonun değerlendirildiği 77 olgudan oluşan bir çalışmada vasküler invazyon %37.6 oranda perinöral invazyon ise %14.3 oranda tesbit edilmiş ve vasküler invazyon varlığında %60 oranda metastaz geliştiği, perinöral invazyon varlığında ise %72.7 oranda metastatik hastalık görüldüğü belirtilmektedir (80). Ayrıca aynı evredeki tümörlerde rekürrens olasılığı venöz invazyon

olanlarda daha fazla bulunmuştur (80). Bizim çalışmamızda ise venöz invazyon oranı %13.3, perinöral invazyon oranı ise %16.7 bulunmuştur. Venöz invazyonun hastalık tekrarı hastalıktan ölüm, lokal rekürrens ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte venöz invazyon olan 8 olgudan 5'i (%62.5) hastalık nedeniyle kaybedilmiştir. Bu sonuç venöz invazyonun sağ kalım üzerindeki olumsuz etkisi olduğu yönündeki bilgiyi desteklemektedir. Perinöral invazyon ise çalışmamızın sonuçlarına göre lenf nodülü metastazı, uzak metastaz, lokal rekürrens, hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm ile doğru orantı göstermiştir. Bu bulgu literatürdeki perinöral invazyonun ilerlemiş hastalığın göstergesi olduğu sonucunu desteklemektedir. Ayrıca kolorektal karsinom olgularında perinöral invazyonun titizlikle aranması ve tesbitinin özellikle aynı evredeki tümörlerde hasta prognozunun belirlenmesinde ek bilgi verebileceği söylenebilir. Goldstein ve arkadaşlarının 418 kolorektal karsinom olgusunda perikolonik yağ doku içinde yer alan perinöral, perivasküler ve intravasküler tümör depozitlerinin değerlendirdikleri bir çalışmada, bunların sayı ve boyutlarının rapor edilmesi, lenf nodülü metastazlarından ayrılımları gerektiği ve hastalıktan bağımsız yaşam süresi üzerinde olumsuz etkileri olduğu belirtilmiştir (124).

Kolorektal karsinomlarda toplam çıkarılan lenf nodülü sayısının, lenf nodülü metastazı varlığının ve metastatik lenf nodülü sayısının 5 yıllık sağ kalımı etkileyen faktörler oldukları rapor edilmiştir (68,69,70). Caplin ve arkadaşlarının bir çalışmasında rezeksiyon materyalinden çıkarılan lenf nodülü sayısının 6'nın altında olması toplam sağ kalımı azalttığı belirtilmektedir. Buna gerekçe olarak yetersiz cerrahi diseksiyonun yol açtığı tümörün gerçek lenfatik yayılımının tam olarak saptanamamış olması gösterilmektedir (70). Bizim çalışmamızda yer alan vakalardan çıkarılan

ortalama lenf nodülü sayısı 11.44 bulunmuştur. Toplam 28 olguda metastatik lenf nodülü tesbit edilmiş ve lenf nodülü metastazı uzak metastaz veya lokal rekürrens olarak hastalık tekrarı ile doğru orantılı bulunmuştur. Bu sonuç lenf nodülü metastaz varlığının hasta yaşam süresinin belirlenmesinde bağımsız bir parametre olduğu şeklindeki bulguyu desteklemektedir (69). Metastatik lenf nodülü sayısının ise tümör evresinin tesbitinde kullanılması nedeniyle sağ kalım üzerinde etkili olduğu söylenebileceği gibi tek başına hasta yaşamını etkilediği de söylenebilir (68). Bizim sonuçlarımıza göre ise metastatik lenf nodülü sayısının hastalıktan ölüm ve hastalık tekrarı ile istatistiksel anlamlı ilişkisi çıkmamıştır.

Kolorektal karsinomlarda en önemli prognostik parametre pek çok tümörde olduğu gibi tümör evresidir. Çalışmamızda olgular Duke, TNM ve Astler-Coller sistemlerine göre ayrı ayrı evrelendirilmiş, TNM sistemine göre oluşturulan evre hastalık tekrarı ve hastalık nedeniyle ölüm ile ilişkili bulunmamıştır. Duke sistemine göre evreleme yapıldığında ise tümör evresinin lenf nodülü metastazı, uzak metastaz ve hastalık tekrarı ile doğru orantı gösterdiği izlenmiştir (Sırasıyla; $p=0.000$, $p=0.048$, $p=0.023$). Bu sonuca göre Duke evreleme sisteminin TNM'ye göre prognoz belirlenmesinde daha net bilgi verdiği sonucu çıkarılabileceği gibi vaka sayısındaki yetersizliğin bu sonucu oluşturduğu yorumu da yapılabilir.

Ortalama 50.27 aylık hasta takip sonuçlarına göre 24 (%39.3) hastada uzak metastaz, 16 (%26.2) hastada da lokal rekürrens tesbit edilmiştir. Uzak organ metastazı en sık karaciğerde olduğu gözlenmektedir (20 hasta). Bu bulgular literatürle uyumlu olup kolorektal karsinomların portal venöz yol ile karaciğere metastaz eğiliminde olduklarını göstermektedir (125,126). Bu sonucun kolorektal karsinom tarama programlarının başarısını arttırmak için dikkate alınması gerekmektedir. Lokal rekürrenslerin özellikle rektum

lokalizasyonlu tümörlerde daha sık görüldüğü bildirilmesine karşın bizim hasta gurubumuzda anlamlı olabilecek bir eğilim saptanmamıştır (5). Ancak lokal rekürrenslerin uzak organ metastazlarının habercisi olduğu görüşü bizim sonuçlarımızla paralellik göstermiştir. Kanser yayılımının yada tümör hücresinin biyolojik davranışına yönelik fizyopatolojik açıklamalar tam olarak istenilen düzeyi yakalayamamış olmasına rağmen özellikle ilk iki yılın bu açıdan çok önemli olduğu kabul edilmektedir. Bizim hasta gurubumuzdaki sonuçlarımıza bakıldığında bölgesel yada uzak yayılımın ilk iki yıl içinde gerçekleştiği görülmektedir ki bu sonuç genel literatür verileriyle uyumludur (5).

Yüksek riskli popülasyonlara uygulanan tarama programları, erken tanı ve tedavi amaçlı kolonoskopinin yaygın kullanıma girmesi ve cerrahi tedavideki gelişmelere rağmen genel olarak kolorektal karsinom prognozunda belirgin iyileşme görülmemektedir (127,128,129). Bizim çalışmamızda 5 yıllık hastalıksız sağ kalım %51, total sağ kalım ise %54 olarak bulunmuştur ve bu sonuç kolorektal karsinomların bilinen 5 yıllık sağ kalım oranı (%50-60) ile uyumludur (1,3,32,33).

Dolaşıma geçen tümör hücreleri metastaz potansiyelleri konusunda heterojendirler ve sadece bazı hücreler uygun genetik kombinasyona sahiptirler (6). Metastatik fenotipi destekleyen veya süprese eden genlerin tesbiti amaçlı yapılan çalışmaların sonucunda deneysel modellerde nm23'ün metastaz süpresyonundan sorumlu olabileceği belirtilmiştir (33). Daha sonra mide ve hepatosellüler karsinom olgularında yapılan immünhistokimyasal çalışmalarda ileri derecede invaziv ve metastatik olgularda nm23 ekspresyonunda azalma bulunmuş ve nm23 ekspresyonunda azalmanın toplam hasta yaşamını kısalttığı belirtilmiştir (102,103,104). Gastrik karsinomlarda yapılan 413 vakadan oluşan bir çalışmada ise nm23'ün

beklenen etkisine ters olarak artmış ekspresyonu agresif tümör davranışı ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (18).

Kolorektal karsinomlarda yapılan çalışmalarda ise metastaz potansiyeli, tümör agresifliği ve hasta yaşam süresine olan etkisinin değerlendirilmesinde birbirleriyle çelişen sonuçlar vardır. Berney ve arkadaşlarının 58 kolorektal karsinom vakası ile yaptıkları iki ayrı çalışmada nm23 ekspresyonu metastatik olgularda daha fazla tespit edilmiş ve artmış ekspresyonun hasta yaşam süresi üzerinde olumsuz etkisi olduğu belirtilmiştir (3,33). Bu sonuç nm23'ün beklenen metastaz süpresör etkisine ters olup nm23 genindeki alelik delesyon veya mutasyon sonucu oluşan mutand gen ürünü proteinin yarılanma ömrünün uzun olabileceği ve immünohistokimyasal olarak tesbit edilen reaktivitenin bunun sonucu olabileceği şeklinde açıklanmaktadır. Bazı çalışmalarda da nm23 gen mutasyonunun metastatik potansiyelle ilişkisiz olduğu belirtilmekte ve nm23'ün kolorektal karsinomlarda metastaz supresyonunda majör rol almadığı ve nm23'ün olası metastaz süpresör etkisinin dokuya spesifik olabileceği yorumu yapılmıştır (106,107,108). Yamaguchi ve arkadaşlarının 36 vakadan oluşan bir çalışmasında nm23 ekspresyonu karaciğer metastazı ile ters korelasyon göstermiş, lenf nodülü metastazı ve diğer klinikopatolojik parametreler ile ilişkili bulunmamıştır (110). Tannaphel ve arkadaşlarının bir çalışmasında da lenf nodülü metastazı izlenen 45 vakanın 42'sinde nm23 ekspresyonu düşük bulunmuş ve primer tümördeki nm23 immünreaktivitesinin lenf nodülü metastazının tahmininde %93 oranda sensitif olduğu belirtilmektedir (130). Bizim çalışmamızda ise istatistiksel anlamı olmasada nm23 pozitif olgularda lenf nodülü metastazı ve uzak metastaz daha düşük oranda izlenmiştir.

Cheah ve arkadaşlarının 141 vaka ile yaptıkları çalışmalarında ise nm23 immünreaktivitesi tümör evresi ile ters korelasyon göstermiş fakat

hastalık tekrarı ve toplam hasta yaşamı ile ilişkili bulunmamıştır (20). Vaka sayısı 100 olan başka bir çalışmada ise %41'i zayıf, %24 orta, %35'de güçlü immünreaktivite görülmüş ve ileri evre tümörlerde nm23 reaktivitesi düşük bulunmuştur (111). Yine aynı çalışmanın sonuçlarına göre düşük şiddette nm23 immünreaktivitesi görülen olgularda lenf nodülü metastazı sıklığında belirgin artış görülmüştür (111). Bizim çalışmamızda da pozitif olguların yarıdan fazlası düşük evrelerde yani lenf nodülü metastazı ve uzak metastazın olmadığı evrelerde tesbit edilmiştir. Bu sonuç nm23 pozitifliğinin kolorektal tümörlerde metastaz potansiyelini azalttığı yönündeki literatür bilgileri ile uyum göstermektedir.

Nm23 pozitifliği ile venöz invazyon ve lenfatik invazyon arasında ters korelasyon görülmüştür. Bu sonuç tümör hücresinin invazyonun tüm aşamalarını tamamlayarak, damar duvarına penetrasyon ve ardından dolaşıma karışarak lenf nodülü metastazı ve uzak metastaz geliştirmesi aşamalarında nm23'ün rolü olduğu ve nm23 pozitifliğinin damar invazyonunu engellediği sonucuna ulaşılabilir ki bu durumda nm23'ün metastaz süpresör etkisinden bahsedilebilir. Grade 2 ve grade 3 olgular arasında nm23 pozitifliği değerlendirildiğinde ise ters korelasyon izlenerek yüksek grade'deki tümörlerde daha az oranda nm23 pozitifliği izlenmiştir. Bu sonuçta nm23'ün agresif tümör davranışını engellediği görüşünü desteklemektedir. Tannaphel ve arkadaşlarının bir çalışmasında yüksek grade ve lenfatik invazyon yüksek riskli hasta grubu olarak seçilmiş ve bunlarda nm23 ekspresyonu düşük riskli gruba göre düşük bulunmuştur (130).

Nm23 pozitifliğinin hastalık tekrarı (metastaz veya lokal rekürrens olarak) üzerine etkisi değerlendirildiğinde pozitif 41 olgunun %39'unda hastalık tekrar etmiş, negatiflerin ise %60'ında hastalık tekrarı görülmüştür.

Hastalık nedeniyle ölüm değerlendirildiğinde ise pozitif 41 hastanın %31.7'si, negatif 20 hastanın ise %55'i ölmüştür. Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı olmasalarda nm23 pozitifliğinin hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm oranını azalttığı söylenebilir.

Sağ kalım analizlerinin sonuçları 5 yıllık hastalıksız ve toplam sağ kalım oranları nm23 pozitif ve negatif gruplar arasında karşılaştırıldığında pozitiflerde sırasıyla %57-%62, negatiflerde ise her ikiside %36 oranında gerçekleşmiştir. Nm23 pozitifliğinin hastalıksız ve total sağ kalım süresini arttırdığı bulunmuştur. Buna karşın Cheah ve arkadaşlarının bir çalışmasında nm23 pozitifliğinin hastalık tekrarı ve toplam hasta yaşamı ile ilişkisi gösterilememiştir (20).

Cathepsin D tümör invazyonu sırasında ekstrasellüler matriksin yıkımından sorumlu olan bir proteaz olup daha önce pek çok tümör tipinde immünohistokimyasal olarak çalışılmış ve endometrial karsinomlar, oral kavitenin yassı hücreli karsinomu ve laringeal epitelyal tümörlerde artmış ekspresyonunun tümörün invazyon yeteneği ile doğru orantı gösterdiği bulunmuştur (11,13,93). Gastrointestinal malignitelerden 203 gastrik karsinom olgusunu içeren bir çalışmada cathepsin D ekspresyonunda artış hastalıktan bağımsız sağkalım düzeyini düşürdüğü belirtilmiştir (8). Yine gastrik karsinomlarda yapılan çalışmalarda tümör içerisindeki stromal hücrelerde pozitifliğin özellikle tümörün invazyon sınırında daha yoğun olduğu görülmüştür (8,10,94). Meme karsinomlarında ise ileri evre tümörlerde cathepsin D immünreaktivitesinde artış olduğu bilinmektedir (9,12,95).

Kolorektal karsinomlarda ise cathepsin proteaz ailesinin çeşitli üyeleri ile yapılan çalışmalar sonucunda cathepsin B ve L'nin erken evre ve kötü diferansiye tümörlerde pozitif olduğu yayınlanmış ve Duke A'da en yüksek

seviyenin tesbiti erken evrelerde tümörün daha fazla proteaza ihtiyacı olduğu şeklinde yorumlanmıştır (97,98,99). Sistein proteazlara ek olarak serin proteazlarında çalışmaya dahil edildiği 60 vaka kullanılan başka bir çalışmada ise Duke evresi artıkça bu proteazlarda artış olduğu bulunmuştur (100). Kolorektal karsinomlarda cathepsin proteaz ailesinden cathepsin D'nin ekspresyonunun değerlendirildiği bir çalışmanın sonuçlarına göre ileri evre tümörlerde daha güçlü boyanma görülmüş ve bu sonucu hasta yaşam süresi üzerinde anlamlı etkisi olmadığı belirtilmiştir (14). Bizim çalışmamızda da cathepsin D immünreaktivitesi evrelere göre gruplandığında 26 pozitif vakanın %38.5'i evre 1+2, %61.5'i ise evre 3+4 bulunmuş pozitif olguların çoğunun ileri evre tümörler olduğu dikkati çekmiştir. Ayrıca invazyon derinliğine göre değerlendirildiğinde 26 pozitif vakanın 5 tanesi T1+T2, 21 tanesi ise T3+T4'tür. Fakat evre ve invazyon derinliği ile cathepsin D pozitifliği arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır ancak sayısal olarak ileri evre ve lokal invazyon derinliği fazla olan tümörlerde daha fazla oranda tespit edilmesi literatür bilgileri ile uyumludur.

Valentini ve arkadaşlarının bir çalışmasında tümör ve stromal hücrelerde vakaların %17'sinde cathepsin D boyanması olmuş ve bu sonuç cathepsin D pozitifliğinin metastatik potansiyeli arttırdığı hipotezini desteklememiştir (15). Bir başka çalışmada ise erken evrelerde tümör hücrelerinde pozitiflik, ileri evrelerde ise stromal hücrelerde pozitifliğin fazla olduğu belirtilmiştir (17). Vaka sayısı 93 olan başka bir çalışmada ise cathepsin D boyanma yüzdesi 60.2 bulunmuş ve karsinom hücreleri ile stromal hücrelerde pozitiflik birbirleriyle ve daha agresif tümör davranışı ile uyumlu bulunmuştur (131). Bizim çalışmamızda ise cathepsin D pozitifliği literatür ile uyumlu olarak %61.5 oranda görülmüştür ve olguların %57.6'sında lenf

nodülü metastazı tesbit edilmiştir, ayrıca lenfatik ve perinöral invazyon pozitif grupta negatif gruba göre daha fazla izlenmiş olup sonuçların istatistiksel anlamı bulunmamıştır. Ayrıca lokal rekürrens saptanan 16 olgunun 12 tanesi (%75) cathepsin D pozitifdir. Bu sonuçlar istatistiksel anlamlı olmasalarda cathepsin D pozitifliğinin daha agresif tümör davranışı ile ilişkili olduğu söylenebilir. Arao ve arkadaşlarının bir çalışmasında cathepsin D'nin tümör hücrelerinde supranükleer, bazal ve diffüz boyanma özelliği gösterdiği ve bazal veya diffüz boyanma paterninin hücre polaritesinde bozulma anlamına gelerek invaziv karakteri gösterdiği belirtilmektedir (132).

Hastalık tekrarı üzerindeki etkisi incelendiğinde ise cathepsin D pozitifliği ile doğru orantı tespit edilmiş ve cathepsin D pozitif 26 olgunun %61.5'inde hastalık tekrarı görülmüş ve hastalık tekrarı olmayan grupla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç çıkmıştır ($p<0.05$). Hastalıksız ve toplam sağ kalım süresi ile karşılaştırıldığında cathepsin D pozitifliğinin her iki parametreyi olumsuz etkilediği ancak sonucun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Bu sonuç literatür verileri ile uyumlu olup cathepsin D pozitifliğinin tümörün agresif davranışının bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

Malign tümörlerde halen en önemli prognostik parametre evre olmakla beraber homojen gruplar oluşturarak tedavinin daha iyi yönlendirilebilmesi amacıyla pekçok prognostik belirteç üzerinde durulmaktadır (63,67). Bu amaçla yapılan çalışmalar sonucunda trofoblastik tümörlerde olduğu gibi pek çok non-trofoblastik tümörde (gastrik, mesane, akciğer karsinomları) hem doku hemde serumda HCG düzeyi yüksek bulunmuştur (22,23,24,114, 115,116). Yüksek grade'li ürotelial karsinomlarda HCG yüksek oranlarda tesbit edilmiş olup evre ile doğru orantılı olarak artmaktadır (116,119,

120,121). Butler ve arkadaşlarının bir çalışmasında HCG üreten mesane tümörlerinin daha agresif, radiorezistant ve metastaz yapmaya eğilimli oldukları belirtilmektedir (24). Mesane, serviks ve endometrium hücre kültürlerine HCG eklenmesinin hücre proliferasyonunu arttırmadan popülasyonda artışa neden olduğu görülmüş ve bunun üzerine mesane tümörü hücre serilerine farklı dozlarda HCG eklenerek, hücre popülasyonundaki artışa neden olan faktörün apoptozisteki azalma olduğu tespit edilmiştir (24). Akciğer karsinomlarında yapılan çalışmalarda ise sadece dev hücreli grupta değil tüm tiplerde serumda HCG varlığı tesbit edilmiş olup tanı ve takipte kullanılabilecek potansiyel bir tümör belirteci olduğu belirtilmiştir (22,23). Gastrointestinal malignitelerde yapılan çalışmalarda ise gastrik karsinom ve nonkanseroz dokunun kullanıldığı bir çalışmada HCG immünreaktivitesi ileri evre ve kötü diferansiasyon ile ilgili bulunmuştur (25).

Campo ve arkadaşlarının yaptığı 50 kolorektal karsinom vakasını içeren çalışmada vakaların %52'sinde HCG pozitif bulunmuştur (26). Aynı çalışmada müsinöz tümörlerin %80, kötü diferansiye tümörlerin ise %92 oranında HCG pozitif oldukları sonucuna ulaşılmıştır (26). Bizim çalışmamızda ise olguların %35'i HCG immünreaktivitesi görülmüş ve müsinöz karsinomlarda ise %38 oranında pozitiflik izlenmiştir. Ayrıca Campo ve ark. çalışmalarındaki sonuçların aksine evre, diferansiasyon ve lokal invazyon derinliği ile ilişkili bulunmamıştır (26). Holmström ve arkadaşlarının 251 kolorektal karsinom olgusunda gerçekleştirdikleri çalışmalarında tümör evresinin halen en önemli prognostik parametre olduğu vurgulanmış ve HCG'nin bağımsız bir prognostik parametre olduğu ancak ağ kalım üzerindeki etkisinin sadece ileri evrelerde anlamlı bulunduğu belirtilmiştir (133). Kido ve arkadaşlarının bir çalışmasında HCG %36

oranda pozitiflik göstermiş ve HCG pozitif grupta hasta prognozu negatif guruba göre belirgin olarak kötü bulunmuştur (28). Bizim çalışmamızda ise 5 yıllık takip sonuçlarına baktığımızda hastalıktan bağımsız sağ kalım HCG pozitiflerde %45, HCG negatiflerde %54, toplam sağ kalım oranı ise %55 bulunmuş, hastalıksız sağ kalım ve toplam, sağ kalım oranları pozitif ve negatif grupta farklı bulunmamıştır.

Lundin ve arkadaşlarının yaptığı 239 vakadan oluşan bir çalışmada HCG pozitif ve negatif olgular arasında toplam sağ kalım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuş pozitif olgularda ortalama sağ kalım 27 ay negatifler ise 94 ay tesbit edilmiştir (27). Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre ise pozitif ve negatif grup arasında sağ kalım süreleri farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yamaguchi ve arkadaşlarının 194 adenokarsinom içeren çalışmalarında HCG pozitifliği %22 olguda tesbit edilmiş ve HCG pozitif tümörlerde tüm duvara invazyon, lenf nodülü ve uzak metastaz daha sık izlenmiştir (134). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde HCG pozitif 21 olgunun %57'sinde lenf nodülü metastazı görülmüş negatif grupta ise daha az oranda lenf nodülü metastazı izlenmiştir. Yine pozitif grupta ileri evre tümör %52.3 oranda izlenirken negatif grupta ise ileri evre tümör daha az oranda (%43,5) görülmüştür.

Genel olarak HCG pozitifliğinin agresif tümör davranışı ile ilişkili olduğu sonucu elde edilmiş olsada bunun nedeni konusunda halen net bir bilgi yoktur.

Hücre proliferasyonunda artıştan çok, invaziv karakteri apoptozisteki azalmanın oluşturduğu düşünülmektedir (24).

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda kolorektal karsinom nedeniyle radikal cerrahi uygulanmış 61 hastaya ait tümör dokularının parafin bloklarından hazırlanan kesitler H&E ve immünohistokimyasal olarak nm23, cathepsin D ve beta-hCG ile boyanarak ışık mikroskobunda incelenmiştir. İmmunhistokimyasal sonuçlar prognozu belirlemede rolü olduğu bilinen klinik ve histopatolojik parametreler ile karşılaştırılmıştır. Çalışmamızda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1- Çalışmamızda yer alan 61 olgunun 35'i erkek, 26'sı kadın olup erkeklerin yaş ortalaması 55.2, kadınlarınki 60.6 idi. Buna göre kadınlarda yaş ortalamasının erkeklerden daha büyük olduğu görüldü. Elde edilen ortalamalar literatürde yer alan kolorektal karsinomların 40-60 yaşta pik yaptığı yönündeki bilgiyi desteklemektedir.

2- Tüm olgular WHO'ya göre sınıflandığında %31.1 oranda müsinöz adenokarsinom bulunmuştur. Bu değer literatürdeki %10-15 değerine göre oldukça yüksektir. Literatürde müsinöz adenokarsinomların prognozunun daha kötü olduğu bildirilmekle birlikte bizim serimizde hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm üzerinde tümör tipinin anlamlı etkisi olmadığı sonucu çıkarılmıştır.

3- Tümör; olguların %39.3'ünde rektum, %27.9'unda sigmoid, %9.8'inde sol kolon, %18'inde sağ kolon yerleşimli idi. Bu sonuç rektosigmoid bölge tümörlerinin diğer bölgelere göre daha sık görüldüğü şeklindeki literatür bilgisini desteklemektedir. Ayrıca yüksek riskli ülkelerde rektosigmoid tümörler düşük riskli ülkelerde ise sağ kolon tümörlerinin fazla olduğu yönündeki bilgiler ışığında bu sonuç değerlendirildiğinde ülkemizin

yüksek riskli ülkeler grubunda yer alması gerektiği sonucu çıkarılmıştır. Literatürde rektosigmoid bölge tümörlerinin prognozunun daha kötü olduğuyla ilgili yayınlara rağmen bizim çalışmamızda tümör lokalizasyonu klinikopatolojik parametreler, hastalık tekrarı ve hastalık nedeniyle ölüm üzerinde etkili bulunmamıştır.

4- Tümör çapı literatürdeki sonuçlar gibi klinikopatolojik parametreler, nüks ve hasta yaşamı üzerinde etkili bulunmamıştır

5- Literatürde tümör diferansiasyonu evreden bağımsız bir prognostik parametre olarak rapor edilse de bizim çalışmamızda nüks ve hastalık nedeniyle ölüm ile ilişkili bulunmamıştır.

6- Perinöral invazyon lenf nodülü metastazı, uzak metastaz, lokal rekürrens, hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm ile doğru orantılı bulunmuştur. Literatürde de perinöral invazyonun ilerlemiş hastalığın göstergesi olduğu belirtilmektedir.

7- Ven invazyonu lenfatik invazyon ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca lokal rekürrens, hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm ile istatistiksel anlamlı sonuç çıkmamakla birlikte venöz invazyonu olan 8 olgudan 5'i (%62.5) hastalık nedeniyle kaybedilmiştir. Bu sonuç literatürdeki venöz invazyonun sağ kalım üzerine olumsuz etkisi olduğu yönündeki bilgiyi desteklemektedir.

8- Lenfatik invazyon kolorektal tümörlerde evre ile doğru orantılı olarak artarak daha kısa hasta yaşamına neden olmaktadır. Bizim çalışmamızda ise hiçbir parametre ile ilişki görülmemekle birlikte lenfatik invazyon tesbit edilen 15 olgunun 8 tanesinde hastalık nüksü tesbit edilmiştir

9- Toplam 28 olguda cerrahi spesimende lenf düğümü metastazı tesbit edilmiş ve ortalama metastaz sayısı 4.46 bulunmuştur. Lenf nodülü metastazı uzak metastaz veya lokal rekürrens olarak hastalık tekrarı ile doğru orantılı bulunmuştur. Metastatik lenf nodülü sayısı ise nüks ve hastalıktan ölüm ile

ilişkili bulunmamıştır. Literatürde metastatik lenf nodülü sayısının 5 yıllık sağ kalımı etkileyen bir parametre olduğu yönünde yayınlar vardır.

10- Olguların %18.3'ü evre I, %36.7'si evre II, %40'ı evre III ve %5'i evre IV idi. TNM sistemine göre oluşturulan evreler hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm ile anlamlı ilişki göstermemektedir. Duke evreleme sistemine göre ise lenf nodülü metastazı, uzak metastaz ve hastalık tekrarı ile doğru orantılı izlenmiştir (sırasıyla; $p=0.000$, $p=0.048$, $p=0.023$). Buna göre Duke evreleme sisteminin halen prognozun belirlenmesinde TNM sistemine göre daha net bilgi verdiği sonucu çıkarılabilir.

11- Takip süresince 24 hastada uzak organ metastazı, 16 olguda da lokal rekürrens izlenmiştir. Metastaz ve lokal rekürrens birbirleriyle ve histopatolojik verilerden nöral invazyon ile doğru orantılı bulunmuştur.

12- Tüm olgular ortalama 50.27 ay klinik takip altında tutulmuşlar ve bu süre içinde %39.3 oranda ölüm, %45.9 oranda da hastalık tekrarı görülmüştür. Hastalıktan ölüm nöral invazyon, uzak metastaz ve lokal rekürrens ile doğru orantılıdır.

13- Hastalıksız sağ kalım ortalama 75 ay, total sağ kalım süresi ise ortalama 85 ay bulunmuştur. Bu sonuç erken tanı ve tedavi yöntemlerinin gelişmesi nedeniyle erken evrelerde tesbit ve uygun sağaltım sonucudur. Olguların 5 yıllık hastalıksız sağ kalım oranı %51 toplam sağ kalım ise %54 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç kolorektal karsinomların bilinen 5 yıllık sağ kalım oranı (%40-60) ile uyumludur.

14- Nm23 boyanma sonuçları incelendiğinde 41 pozitif olgudan 19 tanesinde (%46.3) lenf nodülü metastazı saptanmış 22 (%53.7) olguda ise lenf nodülü metastazı saptanmamıştır. Uzak metastaz ile nm23 pozitifliği değerlendirildiğinde ise 41 olgunun 14'ünde (%34.1) uzak metastaz bulunmuş 27 (%65.9) tanesinde görülmemiştir. Nm23 proteini metastaz

süpresör bir gen ürünü olarak bilinmekle beraber ekspresyondaki artışın tümör büyümesi ve kötü prognozla ilişkili olduğunu belirten yayınlarda vardır. Bu çelişkili sonuçlara ilave olarak bizde istatistiksel anlamı olmasada nm23 pozitif olgularda lenf nodülü metastazı ve uzak metastaz daha düşük oranda izlenmiştir.

15- Nm23 pozitif olgulardan 23'ü (%56) evre1+2, 18'i (%43.9) ise evre 3+4 düzeyinde bulunmuştur. Sonuçta pozitif olguların yarıdan fazlası düşük evrelerde yani lenf nodülü metastazı ve uzak metastazın olmadığı evrelerde tesbit edilmiştir. Bu sonuç nm23 pozitifliğinin kolorektal tümörlerde metastaz potansiyelini azalttığı yönündeki literatürler ile uyum göstermektedir.

16- Nm23 pozitifliği ile venöz invazyon ve lenfatik invazyon arasında ters korelasyon görülmüştür. Venöz invazyon görülen olguların %25'inde, venöz invazyon olmayanların ise %73.5'inde nm23 pozitif bulunmuştur. Lenfatik invazyon varlığında ise sadece %33.3, lenfatik invazyon olmayanlarda ise %78.2 oranda nm23 pozitifliği izlenmiştir. Bu sonuçlar tümör hücrelerinin invazyonun tüm aşamalarını tamamlayarak, damar duvarına penetrasyon ve ardından dolaşıma karışarak lenf nodülü metastazı ve uzak metastaz geliştirmesi aşamalarında nm23'ün rolü olduğu ve nm23 pozitifliğinin damar invazyonunu engellediği sonucuna ulaşılabilir ki bu durumda nm23'ün metastaz süpresör etkisinden bahsedilebilir.

17- Grade 2 ve grade 3 olgular arasında nm23 pozitifliği değerlendirildiğinde ters korelasyon izlenerek yüksek grade'deki tümörlerde daha az oranda nm23 pozitifliği izlenmiştir. Bu sonuçta nm23'ün agresif tümör davranışını engellediği görüşünü desteklemektedir.

18- Nm23 ile cathepsin D ters orantı beklemesine rağmen muhtemelen yetersiz hasta sayısı nedeni ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki çıkmamıştır.

19- Nm23 pozitifliğinin hastalık tekrarı (metastaz veya lokal rekürrens olarak) üzerine etkisi değerlendirildiğinde pozitif 41 olgunun %39'unda hastalık tekrar etmiş, negatiflerin ise %60'ında hastalık tekrarı görülmüştür. Hastalık nedeniyle ölüm değerlendirildiğinde ise pozitif 41 hastanın %31.7'si, negatif 20 hastanın ise %55'i ölmüştür. Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı olmasalarda nm23 ekspresyonunun hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm üzerinde etkili olduğu ve literatürle uyumlu olarak nm23 pozitifliğinin metastaz ve lokal rekürrens sıklığını azalttığı çıkarımı yapılmıştır.

20- Sağ kalım analizlerinin sonuçları ise aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmasada sayısal değer olarak nm23 pozitifliğinin hastalıksız sağ kalım süresini (pozitif grupta 78.8, negatif grupta 58.13 ay) ve total sağ kalım süresini (pozitif grupta 88.8, negatif grupta ise 67.12) arttırdığı bulunmuştur. Ayrıca 5 yıllık hastalıksız sağ kalım ve toplam sağ kalım oranları pozitif ve negatif gruplar arasında karşılaştırıldığında ise pozitiflerde sırasıyla %57-%62, negatiflerde ise her ikisinde %36'ya düşmüştür. Bu sonuçta nm23 negatif olgularda hastalığın daha agresif seyrettiği yönündeki literatür bilgisini desteklemektedir.

21- Cathepsin D immünreaktivitesi değerlendirildiğinde 26 pozitif vakanın %38.5'i evre 1+2, %61.5'i ise evre 3+4 bulunmuştur. Ayrıca invazyon derinliğine göre değerlendirildiğinde 26 pozitif vakanın 5 tanesi T1+T2, 21 tanesi ise T3+T4 tür. Fakat evre ve invazyon derinliği ile cathepsin D pozitifliği arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. Cathepsin D tümör invazyonunun ekstrasellüler matriks yıkımında görev alan bir proteindir ve ileri evre ve lokal invazyon derinliği fazla olan tümörlerde daha fazla oranda tespit edilmesi literatür bilgileri ile uyumludur.

22- Cathepsin D pozitif olguların %57.6'sında lenf nodülü metastazı görülmüş, ayrıca lenfatik ve perinöral invazyon pozitif grupta negatif gruba göre daha fazla izlenmiş olup sonuçların istatistiksel anlamı bulunmamıştır. Bu bulgu da cathepsin D'nin tümörün invaziv özelliğini arttırdığı yorumu yapılabilir.

23- Lokal rekürrens saptanan 16 olgunun 12 tanesi (%75) cathepsin D pozitifdir. Hastalık tekrarı üzerindeki etkisi incelendiğinde ise cathepsin D pozitifliği ile doğru orantı tespit edilmiş ve hastalık tekrarı olmayan grupla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç çıkmıştır. Cathepsin D invazyon ve metastaz mekanizmasında görevli olması nedeniyle pozitifliğinin daha agresif tümör davranışına eşdeğer olacağı söylenebilir ve literatürde kolorektal karsinomlarda yapılan çalışmalarda özellikle stromal hücrelerde pozitifliğin hasta yaşamını tahminde yararlı olduğu söylenmektedir.

24- Cathepsin D pozitif grupta hastalıksız sağ kalım süresi 60 ay toplam sağ kalım süresi ise 71 aydır. Negatif olgularda ise sırası ile bu değerler 80 ay ve 86 ay olmaktadır. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmasada cathepsin D pozitifliğinin hasta yaşam süresi ve nüks süresini kısalttığı sonucu çıkarılabilir. Ayrıca 5 yıllık hasta takip sonuçlarına göre pozitif grupta hastalıksız sağ kalım %38, total sağ kalım ise %39, negatif grupta ise sırasıyla %62-%64'tür. Aradaki fark istatistiksel anlamlı olmasada cathepsin D pozitifliğinin literatürle uyumlu olarak tümör agresifliğini arttırdığı sonucuna ulaşılabilir.

25- HCG ile olguların %35'i pozitif boyanmıştır. Bu oran daha önce yapılmış olan çalışmalardaki %20-50 arasında boyanma yüzdesi ile uyumludur. Müsinöz tümörlerin %38'inde HCG pozitifdir ve daha önceki yayınların aksine evre diferansiasyon ve tümörün lokal invaziv özellikleri ile

ilişkili bulunmamıştır. Bu sonuç vaka sayımızdaki yetersizlik nedeniyle olabilir.

26- HCG pozitifliğinin hastalık tekrarı ve hastalıktan ölüm ile karşılaştırılmasında istatistiksel anlamlı sonuç bulunmamıştır. Ayrıca 5 yıllık takip sonuçlarına baktığımızda hastalıktan bağımsız sağ kalım pozitiflerde %45, negatiflerde %54, toplam sağ kalım oranı ise %55 bulunmuştur.

27- Hastalığın metastaz veya lokal rekürrens olarak tekrarı ve hastalık nedeniyle ölümü aynı anda etkileyen faktörlerin belirlenmesine yönelik yapılan istatistik yöntemde lenf nodülü metastazı, perinöral invazyon, histolojik tip, nm23, cathepsin D ve HCG immünreaktivitelerinin bağımsız olarak etkileri görülmemiştir. Multivaryans analizde ise hastalıksız sağ kalım ve toplam sağ kalım süresi üzerinde yukarıdaki parametrelerin etkisinin incelenmesinde istatistiksel olarak anlamlı sonuç çıkmamıştır. Bu sonucun vaka sayımızın yetersiz olması ile ilgili olduğu düşünülmüştür.

7. ÖZET

Kolorektal karsinomlar günümüzde kansere bağlı ölüm nedenleri arasında 2 sırada yer alan malign tümörlerdir. Morbidite ve mortaliteyi azaltmak, hastalıksız sağ kalım süresini arttırmak amacıyla cerrahi tedaviye ek olarak kemoterapi ve radyoterapi programları oluşturulmaya çalışılmaktadır. Yüksek riskli hasta popülasyonunun seçimini kolaylaştırmak ve tedavi için daha homojen alt gruplar oluşturmak amacıyla literatürde pek çok farklı yöntem ile tesbit edilen yeni belirteçlerden bahsedilmektedir. Biz bu çalışmada kolorektal karsinom olgularında immünohistokimyasal olarak nm23, cathepsin D ve HCG ekspresyonunun tümör agresifliği, invazyon ve metastaz kapasitesi üzerine etkilerini değerlendirmeyi amaçladık ve çalışmada kullanılan 61 olgunun klinik ve patolojik verileri ve takip sonuçlarının her üç madde ile olan ilişkisini değerlendirdik

Çalışmanın sonuçlarına göre

- Perinöral invazyon varlığının lenfatik ve uzak organ metastazı olasılığını arttırdığı ve dolayısıyla hastalıksız ve toplam sağ kalım sürelerini azalttığı gösterilmiştir.
- Çalışma grubuna alınan olguların 5 yıllık hastalıksız sağ kalım oranı %51; toplam sağ kalım oranı %54 olarak hesaplanmıştır.
- Nm23 negatif olgularda tümörün daha agresif seyirli olduğu gözlemlenmiş; ancak elde edilen sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.
- Nm23 negatif olgularda venöz ve lenfatik invazyonun yüksek oranda görüldüğü ve bu sonucun istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir.

- Cathepsin D pozitif olgularda negatif olgulara oranla hastalık tekrarı yüksek oranda görülürken bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur
- Cathepsin D pozitif olgularda 5 yıllık hastalıksız ve toplam sağ kalım oranları sırasıyla %38, %39; cathepsin D negatif olgularda %62, %64 olarak bulunmuştur. Aradaki fark anlamlı olmasada cathepsin D pozitifliğinin tümör agresifliğini arttırdığı sonucu çıkarılabilir.
- HCG pozitifliğinin tümör davranışı üzerine pozitif yada negatif etkisi olmadığı görülmüştür.

Tüm tümörlerde olduğu gibi kolorektal kanserlerin biyolojik davranışının önceden belirlenmesi ve buna yönelik tarama ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi henüz tam olarak istenilen düzeye ulaşamamıştır. Bu nedenle bu konuda bilim dünyasında arayışlar devam etmektedir. Tümör davranışının temelleri konusundaki araştırmalar ve yeni arayışlar daha geniş hasta popülasyonu ve uzun takip süreleri gerektirmektedir. Bu açıdan bakıldığında her ne kadar hasta sayımızın azlığı söz konusu olsa da bu çalışma ile bu arayışlara küçükte olsa bir katkıda bulunduğumuzu düşünmekteyiz.

8. KAYNAKLAR

- 1- Fenagliaio-Preiser CM. Carcinomas and other epithelial and neuroendocrine tumors of the large intestine. Gastrointestinal Pathology. An Atlas and Text 2. ed. Lippincott-Raven, Philedelphia, USA, 1999, pp:909-1076
- 2- Alberts DS, Slattery ML, Giovannucci E et al. Primary prevention of colon cancer with dietary and micronutrient interventions. Cancer 1998;83:1734-1739
- 3- Berney CR, Fisher RJ, Yang J et al. Protein markers in colorectal cancer. Predictor of liver metastasis. Ann.Surg 1999;230(2):179-184
- 4- Demers RY, Severson RK, Schottenfeld D et al. Incidance of colorectal adenocarcinoma by anatomic subsite.. An epidemiologic study of time trends and racial differences in the Detroit, Michigan area. Cancer 1997;79:441-447
- 5- Rosai j. Gastrointestinal tract, Ackermann's Surgical Pathology, Volume 1,8. Ed. Mosby, Missouri, USA, 1996, pp:589-815
- 6- Crawford JM. The gastrointestinal tract. Robbins Pathologic Basis of Disease, Ed.Cotran RS, Kumar V, Collins T. 6. Ed.Saunders Company, Phidelphia, USA, 1999, pp:775-845
- 7- Magro G, Ruggieri M, Fraggetta F et al. Cathepsin D is a marker of ganglion cell differantiation in the developing and neoplastic human peripheral sympathetic nervous tissues. Virchow Arch 2000;437:406-412
- 8- Algayer H, Babic R, Grützner KU et al. An immunohistochemical assesment of cathepsin D in gastric carcinoma.Its impact on clinical carcinoma. Cancer 1997;80:179-187

- 9- Lah TT, Kalman E, Najjar D et al .Cells producing Cathepsin D, B, and L in humanbraet carcinoma and their associationwith prognosis. Hum Pathol 2000;31:149-160
- 10- Matsuo K, Kobayashi I, Tsukuba T et al. Immunohistochemical localization of cathepsin D and E in human gastric cancer. Apossible correlation with local invasive and metastatic activities of carcinoma cells. Hum Pathol 1996;27:184-190
- 11- Nazeer T, Malfetano JH, Rosano TG et al. Correlation of tumor cytosol cathepsin D with differantiation and invasiveness of endometrial adenocarcinoma. J Clin Pathol 1992;97:764-769
- 12- Roger P, Daures J, Maudelonde T et al. Dissociated overexpression of cathepsin D and estrogen receptor alpha in preinvasive mamary tumors. Hum Pathol 2000;31:393-600
- 13- Vigneswaran N, Zhao W, Dassanayage A et al. Variable expression of carhepsin B abd D correlates with highly invasive and metastatic phenotype of oral cancer. Hum Pathol 2000;31:931-937
- 14- Mayer A, Fritz E, Fortelny R et al. Immunohistochemical evalution of cathepsin D expression in colorectal cancer. Cancer Investigation 1997;15(2):106-110
- 15- Valentini AM, Pirrelli M, Armentano R et al. The immunohistochemical expression of cathepsin D in colorectal cancer. Anticancer Research 1996;16:77-80
- 16- Caruso ML ,Valantini AM. Immunohistochemical p53 overexpression correlated to c-erbB-2 and cathepsin D proteins in colorectal cancer. Anticancer Researc 1996;16:3813-3818
- 17- Theodoropoulos GE, Panoussopoulos D, Lazaris A et al.Evaluation of cathepsin D immünostaining in colorectal adenocarcinoma .J.Surg.Oncol 1997;65:242-248

- 18- Müller W, Schneiders A, Hommel G et al. Expression of nm23 in gastric carcinoma. Association with tumor progression and poor prognosis. *Cancer* 1998;83:2481-2487
- 19- Dhar DK, Kubota H, Tabara H et al. Nm23 in the primary and metastatic sites of gastric carcinoma. *Oncology* 1999;56:122-128
- 20- Cheah PY, Cao X, Eu KW et al. Nm23-H1 immunostaining is inversely associated with tumour staging but not overall survival or disease recurrence in colorectal carcinomas. *Br J Cancer* 1998;77(7):1164-1168
- 21- Bertheau P, Steinberg SM, Merino MJ. C-erbB-2, p53, and nm23 gene product expression in breast cancer in young woman. *Hum Pathol* 1998;29:323-329
- 22- Boucher LD, Yoneda K. The expression of trophoblastic cell markers by lung carcinomas. *Hum Pathol* 1995;26:1201-1206
- 23- Yoshimura M, Nishimura Rmuroani A et al. Assesment of urinary beta-core fragment of human chorionic gonadotropin as a new tumor marker of lung cancer. *Cancer* 1994;73:2745-2752
- 24- Butler SA, Ikram MS, Mathieu S et al. The increase in bladder carcinoma cell population induced by the free beta subunit of human chorionic gonadotropin is a result of an anti-apoptosis effect and not cell proliferation. *Br J Cancer* 2000;82(9):1553-1556
- 25- Yakeishi Y, Mori M, Enjoji M. Distribution of beta-human chorionic gonadotropin-positive cells in noncancerous gastric mucosa and in malignant gastric tumors. *Cancer* 1990;66:695-701
- 26- Campo E, Palacin A, Benosco C et al. Human chorionic gonadotropin in colorectal carcinoma. *Cancer* 1987;59:1611-1616
- 27- Lundin M, Nodling S, Alphan H et al. Tissue expression of human chorionic gonadotropin beta predicts outcome in colorectal cancer: a comparison with serum expression. *Int J Cancer* 2001;20;95(1):18-22

- 28- Kido A,Mori M,Adachi Y et al.Immunohistochemical expression of beta-human chorionic gonadotropin in colorectal carcinoma.Surg Today 1996;26(12):966-970
- 29- Mayer A,Takimoto M,Fritz E et al.The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen ,epidermal growth factor receptor,and mdr gene expression in colorectal cancer.Cancer 1993;71:2454-2460
- 30- Kinney A,Devellis BM,Skrzynia C et al.Genetic testing for colorectal carcinoma susceptibility.Focus group responses of individuals with colorectal carcinoma and first degree relatives.Cancer 2001;91:57-65
- 31- Troisi RJ,Freedman AN,Devease SS et al.Incidance of colorectal carcinoma in the U.S.An update of trends by gender, race, age, subsite, andstage, 1975-1994.Cancer 1999;85:1670-1676
- 32- Cohn KH,Ornstein DL, Wang F et al.The significance of allelic deletions and aneuploidy in colorectal carcinoma.Results of a 5-year follow-up study.Cancer 1997;79:233-244
- 33- Berney CR,Yang J,Fisher RJ et al.Overexpression of nm23 protein assessed by color video image analysis in metastatic colorectal cancer:Correlation with reduced patient survival.World J. Surg 1998;22:484-490
- 34- Slattery ML,Friedman GD,Potter JD et al.A description of age,sex,and site distributions of colon carcinoma in three geographic areas.Cancer 1996;78:1666-1670
- 35- Nelson RL,Dollear T,Freels S et al.The relation of age,race,and gender to the subsite location of colorectal carcinoma.Cancer 1997;80:193-197
- 36- Funkhouser E,Cole P.Declining mortality rates for cancer of the rectum in the United States:1940-1985.Cancer 1992;70:2597-2601
- 37- Levin B.Nutrition and colorectal cancer.Cancer 1992;70:1723-1726
- 38- Ghadirin P,Lacrox A,Maisonneuve P et al.Nutritional factors and colon carcinoma.Cancer 1997;80:858-864

- 39- Lynch HT,Smyrk TC,Watson P et al.Genetics,natural history,tumor spectrum,and pathology of hereditary nonpolyposis colorectal cancer:An updated Review.Gastroenterology 1993;104:1535-1549
- 40- Konishi M,Yanoshita RK,Tanaka K et al.Molecular nature of colon tumors in hereditary nonpolyposis colon cancer,familial poliposis,and sporadic colon cancer.Gastroenterology 1996;111:307-317
- 41- Park J,Vasen HFA;Park KJ et al.Suspected hereditary nonpolyposis colorectal cancer.International collaborative group on hereditary non-polyposis colorectal cancer criteria and results of genetic diagnosis.Dis Colon Rectum 1999;42:710-716
- 42- Box JC,Rodriguez MA,Weber TK et al.Clinical implications of multiple colorectal carcinomas in hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma.Dis Colon Rectum 1999;42:717-721
- 43- Lynch HT,Kimberling W,Albano W et al.Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch Syndromes1 and 2).Cancer 1985;56:934-938
- 44- Mayer R,Wong WD,Rothenberger DA et al.Colorectal cancer in inflammatory bowel disease.Dis Colon Rectum 1999;42:343-347
- 45- Levin B.Inflamatory bowel disease and colon cancer.Cancer 1992;70:1313-1316
- 46- Wada R,Matsukuma S,Abe H et al.Histopathological studies of superficial-type early colorectal carcinoma.Cancer 1996;77:44-50
- 47- Hamilton SR.Molecular genetic of colorectal of colorectal carcinoma.Cancer 1992;70:1216-1221
- 48- Lynch HT,Watson P,Smyrk TC et al.Colon cancer genetics.Cancer 1992;70:1300-1312
- 49- Hamilton SR.Molecular genetic alterations as potential prognostic indicators in colorectal carcinoma.Cancer 1992;69:1589-1591
- 50- Achord JL,Barrett KE,Elta GH et al.Molecular genetics and colorectal cancer.Gastroenterology 1993;104:1223-1231

- 51- Boland CR. The biology of colorectal cancer. Implications for pretreatment and follow-up management. *Cancer* 1993;71:4180-4186
- 52- Parsons R. Molecular genetics and hereditary cancer. Hereditary nonpoliposis colorectal carcinoma as a model. *Cancer* 1997;80:533-536
- 53- Shirouzu K, Isomoto H, Morodomi T et al. primary linitis plastica carcinoma of the colon and rectum. *Cancer* 1994;74:1863-1868
- 54- Nakahara H, Ishikawa T, Itabashi M et al. Diffusely infiltrating primary colorectal carcinoma of linitis plastica and lymphangiosis types. *Cancer* 1992;69:901-906
- 55- Kuramoto S, Oohara T. Flat early cancers of the large intestine. *Cancer* 1989;64:950-955
- 56- Iishi H, Tatsuta M, Tsutsui S et al. Early Depressed adenocarcinomas of the large intestine. *Cancer* 1992;69:2406-2410
- 57- Cooper HS. Intestinal neoplasms. Diagnostic surgical pathology, Volume 2. Ed. Sternberg SS. 3. Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, 1999, pp:1413-1468
- 58- Nissan A, Guillem JG, Paty PB et al. Signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum. A matched control study. *Dis Colon Rectum* 1999;42:1176-1180
- 59- Rüschoff J, Dietmaier W, Lüttges J et al. Poorly Differentiated colonic adenocarcinoma, medullary type. Clinical, phenotypic, and molecular characteristics. *Am J Pathol* 1997;150:1815-1825
- 60- Beahrs OH. Staging of cancer of the colon and rectum. *Cancer* 1992;70:1393-1396
- 61- Fisher ER, Sass R, Palekar A et al. Dukes' classification revisited. Findings from the national surgical adjuvant breast and bowel projects. *Cancer* 1989;64:2354-2360
- 62- Steele GD. The national cancer data base report on colorectal cancer. *Cancer* 1994;74:1979-1989

- 63- Sternberg A,Sibirsky O,Cohen D et al.Validation of a new classification system for curatively resected colorectal adenocarcinoma.Cancer 1999;86:782-792
- 64- Leon MP,Sant M,Micheli A et al.Clinical and pathologic prognostic indicators in colorectal cancer.A population-based study.Cancer 1992;69:626-635
- 65- Tominaga T,Sakabe T,Koyama Y et al.Prognostic factors for patients with colon or rectal carcinoma treated with resection only.Five-year follow-up report.Cancer 1996;78:403-408
- 66- Griffin MR,Bergstrahl EJ,Coffey RJ et al.Predictors of survival after curative resection of carcinoma of the colon and rectum.Cancer 1987;60:2318-2324
- 67- Compton C,Fenoglio-Preiser C,Petigrew N et al.American joint committee on cancer prognostic factors Consensus conference.Colorectal working group.Cancer 2000;88:1739-1757
- 68- Wolmark N,Fisher B,Wieand HS.The prognostic value of the modifications of the Duke' C class of colorectal cancer.An analysis of the NSABP clinical trials.Ann Surg 1986;203(2):115-121
- 69- Newland RC,Dent OF,Lyttle MNB et al.Pathologic determinants of survival associated with colorectal cancer with lymph node metastases.A multivariate analysis of 579 patients.Cancer 1994;73:2076-2082
- 70- Caplin S,Cerottini J,Bosman FT et al.For patients with Dukes'B (TNM stage 2)colorectal carcinoma,examination of six or fewer lymph nodes is related to poor prognosis.Cancer 1998;83:666-672
- 71- Yamamoto N,Kato Y,Yanagisawa A et al.Predictive value of genetic diagnosis for cancer micrometastasis.Histologic and experimental appraisal.Cancer 1997;80:1393-1398
- 72- Greenson JK,Isenhardt CE,Rice R et al.Identification of occult micrometastases in pericolic lymph nodes of Dukes'B colorectal cancer

- patients using monoclonal antibodies against cytokeratin and CC49. Correlation with long-term survival. *Cancer* 1994;73:563-569
- 73- Newland RC, Chapuis PH, Pheiles MT et al. The relationship of survival to staging of colorectal carcinoma. A prospective study of 503 cases. *Cancer* 1981;47:1424-1429
- 74- Brodsky JT, Richard GK, Cohen AM et al. Variables correlated with the risk of lymph node metastasis in early rectal cancer. *Cancer* 1992;69:322-326
- 75- Sadahiro S, Ohmura T, Saito T et al. An assesment of the mucous component in carcinoma of the colon and rectum. *Cancer* 1989;64:1113-1116
- 76- Russel AH, Tong D, Dawson LE et al. Adenocarcinoma of the proximal colon. Sites of initial dissemination and patterns of recurrence following surgery alone. *Cancer* 1984;53 :360-367
- 77- Quirke P, Durdey P, Dixon Mf et al. Local recurrence of rectal adenocarcinoma due to inadequate surgical resection. Histopathological study of lateral tumour spread and surgical excision. *The lancet* 1986;Nov:996-999
- 78- Ng IOL, Luk ISC, YuenST et al. Surgical lateral clearance in resected rectal carcinomas. A multivarieta analysis of clinicopathologic features. *Cancer* 1993;71:1972-1976
- 79- Shirouzu K, Isomoto H, Morodomi T et al. Carcinomatous lymphatic permeation; Prognostic significance in patients with rectal carcinoma. *Cancer* 1995;75:4-10
- 80- Krasna MJ, Flacbaum L, Cody RP et al. Vascular and neural invasion in colorectal carcinoma ,incidence and prognostic significance. *Cancer* 1988;61:1018-1023

- 81- Shepherd NA,Baxter KJ,Love SB.The prognostic importance of peritoneal involvement in colonic cancer:a prospective evaluation.Gastroentorogy 1997;112:1096-1102
- 82- Zeng Z,Cohen AM,Hajdu S et al.Serosal cytologic study to determine free mesothelial penetration of intraperitoneal colon cancer.Cancer 1992;70:737-740
- 83- Scott CA,Desinan L,Avellini C et al.DNA index shift with disease progression in colorectal adenocarcinoma:Amorphplogical and floww cytometric study.Cum Pathol1998;29:482-490
- 84- ChapmanMas,Hardcastle JD,Armitage NCM.Five-year prospective study of DNA tumor ploidy and colorectal cancer survival.Cancer 1995;76:383-387
- 85- Zarbo RJ,Nakhleh RE,BrownRonald D et al.Prognostic significance in 309 colorectalcarcinomas as determined by Two-color multiparametric DNA flow cytometry.Cancer 1997;79:2073-2086
- 86- Manne U,Weiss HL,Myers RB et al.Nuclear accumulation of in colorectal adenocarcinoma.Prognosticimportance differs with race and location of the tumor.Cancer 1998;83:2456-2467
- 87- Hasebe T,Morihiro M,Sasaki S et al.Tumor thicknessis a histopatologic predictive parameter oftumor metastasis and prognosis in patients with Dukes stage C ulcerative-type colorectal carcinoma.Cancer 2000;89:35-45
- 88- Liotta LA,Steeg PS,Stetler-Stevensen WG.Cancer metastasis and angiogenesis:An imbalance of positive and negative regulation.Cell 1991;64:327-336
- 89- Aznavoorian S,Murphy AN,Stevensen WG et al.Molecular aspects of tumor cell invasion and metastasis.Cancer 1993;71:1368-1383
- 90- Woodhouse EC,Chuaqui RF,Liotta La General mechanism of metastasis.Cancer 1997;80:1529-1537

- 91- Alessandro R,Kohn EC.Molecular genetics of cancer.Cancer 1995;76:1874-1877
- 92- Roberg K,Öllinger K.oxidative stress causes relocation of the lysosomal enzyme cathepsin D with ensuing apoptosis in neonatal rat cardiomyocytes Am J Pathol 1998;152:1151-1156
- 93- Goussia AC,Ioachim EE,Peschos D et al.Expression of the extracellular matrix protein tenascin in laryngeal epithelial lesion:correlation with fibronectin,CD44,cathepsin D and proliferation indices.Virchows Arch 2000;436:579-584
- 94- Saku T,Sakai H,Tsuda N et al.Cathepsin D and E in normal,metaplastic,dysplastic,and carcinomatous gastric tissue:an immunohistochemical study.Gut 1990;31:1250-1255
- 95- Emmert-Buck MR.Cathepsin D and Prognosis in breast cancer:One piece of a larger Puzzle?Hum pathol 1996;27:869-871
- 96- Nadji M,Fresno M,Nassiri M et al.Cathepsin D in host stromal cells, but not in tumor cells, is associated with aggressive behavior in node-negative breast cancer.Hum Pathol 1996;27:890-895
- 97- Shuja S,Sheahan K,Murnane M.Cysteine endopeptidase activity levels in normal human tissues,colorectal adenomas and carcinomas.Int.J.Cancer 1991;49:341-346
- 98- Sheahan K, Shuja S, Murnane M. Cysteine protease activities and tumor development in human colorectal carcinoma.Cancer Res. 1989;49:3809-3814
- 99- Murnane M, Sheahan K,Ozdemirli M et al.Stage-specific increases in cathepsin B messenger RNA content in human colorectal carcinoma. Cancer Res 1991;51:1137-1142
- 100-Herszenyi L,Plebani M,Carraro P et al.The role of cysteine and serine proteases in colorectal carcinoma.Cancer 1999;86:1135-1142

- 101-Arai T,Watanabe M,Onodera M et al.Reduced nm 23-H1 messenger RNA expression in metastatic lymph nodes from patients with papillary carcinoma of the thyroid.Am J Pathol 1993;142:1938-1944
- 102-Yamaguchi A,Urano T,Goi T et al.Expression of human nm23-H1 and nm23-H2 proteins in hepatocellular carcinoma.Cancer 1994;73:2280-2284
- 103-Ura H,Denno R,Hirata K.The significance of nm23 protein expression in human gastric carcinoma.Surg Today 1996;26:957-965
- 104-Kodera Y,Isobe K,Yamauchi M et al. Expression of nm23-H1 RNA levels in human gastric cancer tissues.Cancer 1994;73:259-265
- 105-Myers RB,Srivastava S,Oelschlager DK et al. Expression of nm23-H1 in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma.Hum Pathol 1996;27:1021-1024
- 106-Iocapetta B,Digrandi S,Dix B et al.Loss of heterozygosity of tumour suppressor gene loci in human colorectal carcinoma.Eur J Cancer 1994;30A(5):664-670
- 107-Cawkwell L,Lewis FA,Quirke P.Frequency of allele loss of DCC,p53,RB1,WT1,NF1,NM23 and APC/MCC in colorectal cancer assayed by fluorescent multiplex polymerase chain reaction.Br.J.Cancer 1994;70:813-818
- 108-Heide,Thiede C,Poppe K et al. Expression and mutational analysis of nm23-H1 in liver metastases of colorectal cancer. Br.J.Cancer 1994;70:1267-1271
- 109-Campo E,Miquel R,Jares P et al.Prognostic significance of the loss of heterozygosity nm 23-H1 and p53 genes in human colorectal carcinomas. Cancer 1994;73:2913-2921
- 110-Yamauchi M,Urano T,Fushida S et al.Inverse association of nm23-H1 expression by colorectal cancer with in liver metastasis. Br.J.Cancer 1993;68:1020-1024

- 111-Tannapfel A,Köckerling F,Katalinic A et al. Expression nm23-H1 predicts lymph node involvement in colorectal carcinoma.Dis Colon Rectum 1995;38:651-654
- 112-Cohn KH,Wang F,Desoto F et al.Association of nm23-H1 allelic deletions with distant metastases in colorectal carcinoma.Lancet 1991;338:722-724
- 113-Zeng ZS,Hsu S,Zhang ZF et al.High level of nm23-H1 gene expression is associated with local colorectal cancer progression not with metastases. Br J.Cancer 1994;70:1025-1030
- 114-Gailani S,Chu M,Nussbaum A et al.Human chorionic gonadotrophins (hCG)in non-trophoblastic neoplasm. Cancer 1976;38:1684-1686
- 115-Hattori M,Fukase M,Yoshimi H et al.Ectopic production of human chorionic gonadotrophin in malignant tumours. Cancer 1978;42:2328-2333
- 116-Grammatico D,Grignon DJ,Eberwein P et al.Transitional cell carcinoma of the renal pelvis with choriocarcinomatous differentiation. Cancer 1993;71:1835-1841
- 117-Acevedo HF,Tong JY,Hartsock RJ. Human chorionic gonadotrophin-beta subunit gene expression in cultured human fetal and cancer cells of different types and origins. Cancer 1995;76:1467-1475
- 118-Regelson W.Have we found the definitive cancer biomarker?The diagnostic and therapeutic implications of human chorionic gonadotropin-beta expression as a key to malignancy. Cancer 1995;76 : 1299-1301
- 119-Jacobsen AB,Nesland JM,Fossa SD et al. Human chorionic gonadotrophin,neuron specific enolase and deoxyribonucleic acid flow cytometry in patients with high grade bladder carcinoma.J Urol 1990;143:706-709

- 120-Campo E,Algaba F,Palacin A et al.Placental proteins in high-grade urothelial neoplasm.An immunohistochemical study of human chorionic gonadotropin,human placental lactogen,and pregnancy-specific beta-1-glycoprotein. *Cancer* 1989;63:2497-2504
- 121-Dirnhofer S,Koessler P,Ensinger C et al. Production of trophoblastic hormones by transitional cell carcinoma of the bladder:Association to tumor stage and grade. *Hum pathol* 1998;29:377-382
- 122-Dirnhofer S,Freund M,Rogatsch H et al.Selective expression of trophoblastic hormones by lung carcinoma:Neuroendocrine tumors exclusively produce Human chorionic gonadotrophin alfa-subunit. *Hum pathol* 2000;31:966-972
- 123-Skinner JM,Whitehead R.Tumor-associated antigens in polys and carcinoma of human large bowel. *Cancer* 1981;47:1241-1245
- 124-Goldstein NS,Turner JR.Pericolonic tumor deposits in patients with T3N+M0 colon adenocarcinomas.Markers of reduced disease free survival and intra-abdominal metastases and their implications for TNM classification. *Cancer* 2000;88:2228-2238
- 125-Wigmore SJ,Madhavan K,Currie EJ et al.Does the subspecialty of the surgeon performing primary colonic resection influence the outcome of patients with hepatic metastases referred for resection?*Ann.Surg*1999;230(6):759-766
- 126-Koike M,Yasui K,Torii A et al.Prognostic significance of entrapped liver cells in hepatic metastases from colorectal cancer. *Ann.Surg* 2000;232(5):653-657
- 127-Bazzoli F,Fossi S,Sottili S et al.The risk of adenomatous polyps in asymptomatic first degree relatives of persons with colon cancer. *Gastronterology* 1995;109:783-788
- 128-Levin B.Colorectal cancer screening *Cancer* 1993;72:1056-1060

- 129-Cooper HS,Deppisch LM,Gourley WK et al Endoscopically removed malignant colorectal polyps:Clinicopathologic correlations. *Gastronterology* 1995;108:1657-1665
- 130-Tannapfel A, Katalinic A,Köckerling F et al The prediction of lymph node metastases in colorectal cancer by expression of the nucleoside diphosphate kinase/nm23-H1 and histopathological variables. *The American Journal of Gastroenterology* 1997;92:1182-1186
- 131-Ioachim E,Goussia AC,Machera M et al Immunhistochemical evalution of cathepsin D expression in colorectal tumours:A correlation with extracellular matrix components, p53, pRb, bcl-2, EGFR and proliferation indices. *Anticancer Res* 1999;19:2147-2156
- 132-Arao J, Fukui H, Ono Y et al Immunohistochemical localisation of cathepsin D in colorectal tumors. *Dis Colon Rectum* 2000;43:396-401
- 133-Carpelan-holmström M, Haglund C, Lundin J et al Independent prognostic value of preoperative serum markers CA 242, spesific tissue polypeptide antigen and human chorionic gonadotropin beta, but not of carcinoembrionic antigen or tissue polypeptide antigen in colorectal cancer. *Br J Cancer* 1996;74:925-929
- 134-Yamaguchi A,Ishida T, Nishimura G et al Human chorionic gonadotropin in colorectal cancer and its relationship to prognosis. *Br J Cancer* 1989;60:382-384