



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

# **KOLOREKTAL KARSİNOMLARDA ADEZYON MOLEKÜLLERİ VE ANJİOGENEZİN KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE İLİŞKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. HİCRAN TURHAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Canten TATAROĞLU

**AYDIN-2010**

T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOLOREKTAL KARSİNOMLARDA ADEZYON  
MOLEKÜLLERİ VE ANJİOGENEZİN  
KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE  
İLİŞKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr.HİCRAN TURHAN

DANIŞMAN

Doç.Dr.Canten TATAROĞLU

**AYDIN-2010**

Bu araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **TPF-08008** numaralı proje olarak desteklenmiştir.

## **TEŞEKKÜRLER**

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşarak bana yol gösteren hocalarım Sayın Prof. Dr. Muhan ERKUŞ, Doç. Dr. Nil ÇULHACI, Doç. Dr. Füzuan KACAR DÖGER, Doç. Dr. İbrahim METEOĞLU ve tez hazırlığı sırasında bana her anlamda destek veren sevgili hocam Doç. Dr. Canten TATAROĞLU'na;

Çalışma ile ilgili istatistiksel verilerin değerlendirilmesinde bana sabırla yardımcı olan Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıp Eğitimi ve Bilişimi Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Esin KULAÇ'a;

Destek ve sabrı ile her zaman yanıbaşımdaya duran sevgili eşim Dr. İlker TURHAN'a ve yardımlarından dolayı sevgili kardeşlerim Dr. Cenk EROL ve Dr. Cem EROL'a;

Dostluk ve yardımlarından dolayı başta Dr. Feride YÜKSEL olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma; yardımlarından dolayı başta Şirin ÇINAR olmak üzere tüm patoloji çalışanlarına;

Son olarak sevgi ve anlayışları ile bana her zaman destek olan sevgili ailelerime; varlıkları ile beni onurlandıran, umutlandıran sevgili kızlarım Ece ve Özge'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

|                          | Sayfa no |
|--------------------------|----------|
| TABLO DİZİNİ.....        | I        |
| ŞEKİL DİZİNİ .....       | II       |
| KISALTMALAR DİZİNİ ..... | III      |
| RESİM DİZİNİ .....       | V        |
| GİRİŞ VE AMAÇ.....       | 1        |
| GENEL BİLGİLER.....      | 2        |
| MATERYAL METOD.....      | 37       |
| BULGULAR.....            | 41       |
| RESİMLER.....            | 56       |
| TARTIŞMA.....            | 59       |
| SONUÇLAR.....            | 71       |
| ÖZET.....                | 73       |
| SUMMARY.....             | 74       |
| KAYNAKLAR.....           | 75       |

## **TABLO DİZİNİ**

Tablo I: Sporadik KK'da görülen genetik bozuklukların sıklığı.

Tablo II: Grade belirlemede glandüler yapı oranı (1).

Tablo III: Histolojik grade (41).

Tablo IV: CAP'e göre derecelendirme.

Tablo V: 1932 Dukes evreleme sistemi.

Tablo VI: 1937 Dukes evreleme sistemi.

Tablo VII: 1954 Astler-Coller evreleme sistemi.

Tablo VIII: Modifiye Astler-Coller evreleme sistemi (MAC).

Tablo IX: 2002 TNM evreleme sistemi (42).

Tablo X: 2002 TNM evreleme sistemindeki değişiklikler (43).

Tablo XI: Prognostik faktörler (11).

Tablo XII: Olguların yaş açısından değerlendirilmesi.

Tablo XIII: AJCC evresine göre tümörlerin diferansiyasyon dağılımı.

Tablo XIV: LVİ, PNİ ve PTİ'nin tümörlerin diferansiyasyon derecesine göre dağılımı.

Tablo XV: Evreye göre tümörün çapı.

Tablo XVI: Yaşa göre VEGF ekspresyon kuvveti.

Tablo XVII: Ekspresyon kuvvetine göre LN tutulumu.

Tablo XVIII: Anormal E-cadherin boyanma paternlerine göre VEGF ekspresyon kuvveti.

Tablo XIX: Anormal  $\beta$ -catenin boyanma paternlerine göre VEGF ekspresyon kuvveti.

Tablo XX: E-cadherin boyanma paternine göre CD31 ile intratümöral MDY.

Tablo XXI:  $\beta$ -catenin boyanma paternine göre CD31 ile intratümöral MDY.

Tablo XXII: E-cadherin boyanma paternine göre CD31 ile peritümöral MDY.

Tablo XXIII:  $\beta$ -catenin boyanma paternine göre CD31 ile peritümöral MDY.

Tablo XXIV: E-cadherin boyanma paternine göre CD105 ile intratümöral MDY.

Tablo XXV:  $\beta$ -catenin boyanma paternine göre CD105 ile intratümöral MDY.

Tablo XXVI: E-cadherin boyanma paternine göre CD105 ile peritümöral MDY.

Tablo XXVII:  $\beta$ -catenin boyanma paternine göre CD105 ile peritümöral MDY.

## ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: Adenom – karsinom sekansında eş zamanlı genetik ve morfolojik değişiklikler.

Şekil 2: Tümör evresine göre diferansiyasyon dağılımı.

Şekil 3: MAC Evresine göre tümör diferansiyasyon derecesinin dağılımı.

Şekil 4: VEGF ekspresyon kuvvetinin PNİ, LVİ ve PTİ'ye göre dağılımı.

Şekil 5: VEGF ekspresyon kuvvetine göre MAC Evrelerinin dağılımı.

## **KISALTMALAR DİZİNİ**

AJCC: American Joint Commission on Cancer

AK: Adenokarsinom

AKS: Adenom - Karsinom Sekansı

bFGF: Temel Fibroblast Büyüme Faktörü

CAP: College of American Pathologists

CEA: Karsino Embriyonik Antijen

cm: Santimetre

dk: Dakika

ESM: Ekstra Sellüler Matriks

FAP: Ailesel Adenomatöz Polipozis

HE: Hematoksilen – Eozin

HPCC: Herediter Polipozis Kolorektal Karsinomu

HNPCC: Herediter Non-Polipozis Kolorektal Karsinomu

İBH: İnflamatuar Barsak Hastalığı

İT: İntratümöral

kDa: Kilodalton

KT: Kemoterapi

KK: Kolorektal Karsinom

LN: Lenf Nodu

LVİ: Lenfovasküler İnvazyon

MAC: Modifiye Astler- Coller

MDY: Mikro Damar Yoğunluğu

MSİ: Mikro Satelit İnstabilitesi

NK: Natural Killer

NSE: Nöron Spesifik Enolaz

SCC: Skuamöz Hücreli Karsinom

SSS: Santral Sinir Sistemi

TGF-  $\beta$ : Transforming Growth Factor -  $\beta$

PBS: Phosphate Buffered Saline

PDGF: Platelet Kökenli Büyüme Faktörü

PNİ: Perinöral İnvazyon

PT: Peritümöral

PTI: Peritümöral Lenfositik İnfiltrasyon

UICC: Union Internationale Contre le Cancer

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

## **RESİM DİZİNİ**

Resim 1: Tümör hücrelerinde sitoplazmik VEGF boyanması.

Resim 2: Tümör-olağan mukoza bileşkesinde anormal sitoplazmik E-cadherin boyanması.

Resim 3: Tümör hücrelerinde nükleer ve zayıf sitoplazmik  $\beta$ -catenin boyanması.

Resim 4: Peritümöral dokuda CD31 ile boyanan damar yapıları.

Resim 5: Peritümöral dokuda CD105 ile boyanan damar yapıları.

## **GİRİŞ VE AMAÇ**

Kolorektal Karsinomlar (KK) özellikle gelişmiş ülkelerde en sık görülen tümörlerdendir ve kansere bağlı ölümlerin %10'una neden olmaktadır (1). Ülkemizdeki sıklığı giderek artmaktadır ve en sık izlenen beşinci tümördür (2).

Kolorektal karsinomların etyolojisinde çevresel ve genetik faktörler suçlanmaktadır. Tedavi seçimi ve prognozun öngörülmesinde belirlenmiş bir takım etkenler dikkate alınmaktadır. Bunlardan başlıcaları tümör anjiogenezi, evresi, boyutu, büyüme paterni, lenfovasküler invazyon (LVI), perinöral invazyon (PNI) , lenf nodu (LN) tutulumu ve peritümöral lenfositik infiltrasyondur (PTİ) (3,4).

Anjiogenez prognostik etkenlerden biridir ve tümör büyümesinde belirleyici rol oynamaktadır. Yeni damar oluşumu ile sonuçlanan karmaşık ve ardışık bir süreçtir. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) bu aşamada yer alan en etkili büyüme faktörüdür (5). CD105, tümörde yeni oluşan damar yapılarını belirlemede kullanılan bir belirleyicidir ve metastaz ile ilişkilidir (6). CD31 benzer şekilde damar yapılarını işaretlemekte kullanılmaktadır.

Tümör hücrelerinde adezyon kaybı bu hücrelerin invazyon ve metastazını kolaylaştırmaktadır. E-cadherin ve  $\beta$ -catenin hücre adezyonunda kritik role sahiptir.

Bu çalışmada anjiogenez ve adezyon kaybının kolorektal karsinomlarda klinikopatolojik parametrelerle ilişkileri değerlendirilmiştir. Bu amaçla anjiogenezi belirlemede VEGF, CD31 ve CD105; adezyon kaybını değerlendirmede E-cadherin ve  $\beta$ -catenin immünohistokimyasal belirleyicileri kullanılmıştır. Aynı zamanda daha yeni bir belirleyici olan CD105'in CD31'e üstünlüğü araştırılmıştır.

## **GENEL BİLGİLER**

### **EMBRİYOLOJİ**

Barsak taslağı dördüncü haftada vitellin keseden gelişmeye başlar. Ön, orta ve arka barsak şeklinde ağızdan anüse kadar özgün farklılaşma gösteren bölgeler oluşmaya başlar. Orta barsaktan çekum, appendiks, çıkan kolon ve transvers kolonun proksimal kısmı oluşur. Arka barsaktan ise transvers kolonun distal kısmı, inen kolon, sigmoid kolon ve rektum köken alır (7, 8).

Barsak kanlanmasını sağlayan çölyak, inferior ve superior arterler üçüncü ve dördüncü haftalarda gelişir (9).

### **ANATOMİ**

Kolon ortalama 150 santimetre (cm) uzunluğundadır. Çekum, çıkan (sağ) kolon, transvers kolon, inen (sol) kolon, sigmoid kolon ve rektumdan oluşur. İleoçekal valvden anal kanala kadar uzanır.

Çekum intraperitoneal olarak uzanır. Sağ fossa iliakada bulunur. Uzunluğu 6-8 cm'dir. İleumdan ilioçekal valf ile ayrılır.

Appendiks vermiformis çekumun posteromedialinde valfin üç cm altından köken alır 8-10 cm uzunluktadır. Mezoappendiksle terminal ileumun mezenterine tutunur.

Çıkan (sağ) kolon ortalama 15 cm uzunluktadır. İlioçekal bileşkeden hepatik fleksuraya kadar uzanır. Yanlarda ve önde periton ile örtülüdür.

Transvers kolon ortalama 45 cm uzunluğu ile kalın barsağın en uzun kısmıdır. Hepatik fleksura ile splenik fleksura arasında uzanır ve göreceli olarak fleksuralarda fikse durumdadır. Tamamıyla intraperitoneal yerleşimlidir.

İnen (sol) kolon splenik fleksuradan pelvis girimine dek devam eder ve ortalama 25 cm uzunluktadır. Ön ve yanlarda periton ile örtülüdür.

Sigmoid kolon ortalama 35-40 cm uzunlukta olup tamamen periton ile örtülüdür ve üçüncü sakral vertebra hizasında rektum ile birleşir. Burası kolonun en dar yeridir.

Rektum üçüncü sakral vertebradan anüse kadar uzanan kısımdır ve ortalama 15 cm uzunluğundadır. Üst 2/3' lük kısmı önde peritonla örtülüdür.

Kolonda longitudinal kas liflerinden oluşan tenya koli, peritonla kaplı yağ doku uzantıları olan appendiks epiploikalar ve sirküler poşlar şeklinde izlenen haustralar bulunur.

Kolon kanlanması oldukça zengin kollateral dolaşıma sahiptir. Kolon proksimalinde hepatik fleksuraya kadar olan kısmı superior mezenterik arter, buradan rektuma kadar olan kısmı inferior mezenterik arter besler. Rektum üst kısmını inferior mezenterik arter, alt kısmını ise internal iliak arter kanlandırır (5, 7, 10, 11).

## HİSTOLOJİ

Kolon duvarında 4 tabaka bulunmaktadır. Bunlar içten dışa sırasıyla mukoza, submukoza, muskularis propria ve serozadır.

### **Mukoza:**

Yüzey epiteli, lamina propria ve muskularis mukoza olmak üzere 3 komponentten oluşur.

*Yüzey Epiteli:* Bu kısımda kolumnar epitel hücreleri, goblet hücreleri, endokrin hücreler, paneth hücreleri, M hücreleri ve intraepitelyal inflamatuvar hücreler bulunmaktadır.

Absorbtif hücreler mukozal yüzeyin ve kriptlerin büyük kısmını kaplayan kolumnar hücrelerdir. Eozinofilik sitoplazmalarında ve apikalde küçük müsin dolu veziküller vardır.

Goblet hücrelerinin apikal sitoplazmalarında yoğun müsin damlaları bulunur. Endokrin hücreler sıklıkla kriptlerde yerleşirken, luminal nukleus ile bazalde koyu eozinofilik granüller bulunur. Paneth hücreleri de benzer şekilde kriptlerde bulunur ve bazal yerleşimli nukleus ile apikal yerleşimli yoğun, koyu eozinofilik granülleri ile tanınırlar. M hücreleri lenfoid folliküllerin üzerinde hem kolumnar hücrelerle hem de lenfoid hücrelerle ilişkide olan epitelyal hücrelerdir. İntraepitelyal lenfositler kolumnar hücreler ya da M hücreleri ile ilişkidir.

*Lamina Propria:* Bazal membrandan muskularis mukozaya dek uzanır. Lenfoid topluluklara ek olarak matür B lenfositler, plazma hücreleri, T lenfositler, eozinofiller, mast hücreleri ve makrofajlar gözlenir. Ayrıca miyofibroblastlar ile vasküler ve lenfatik kanalları içerir.

*Muskularis Mukoza:* İnce bir düz kas tabakasından oluşur. Submukozal plexus yolu ile innerve olur. Vasküler yapılar ve ince sinir dalları barındırabilir.

**Submukoza:**

Düz kas demetleri ile bağ ve yağ dokudan oluşur. Arada lokal enterik sinir sistemi, vasküler ve lenfatik yapılar bulunur. Submukozal düz kaslar gevşek demetler şeklinde uzanırlar ve Cajal hücreleri ile ilişkidirler. Submukozada Meissner ve Henle sinir pleksusları uzanır.

**Muskularis Propria:**

İçte sirküler, dışta longitudinal uzanan kas tabakalarından oluşur. Dış longitudinal kas tabakası tenya coli olarak adlandırılan üç kalın bant şeklinde uzanır. Auerbach pleksusu iki kas tabakası arasında yer alır. Arada interstisyel Cajal hücreleri, vasküler ve lenfatik yapılar izlenir. Subserozal alanda fibroadipoz doku vardır.

**Seroza:**

İnce-gevşek fibroelastik doku ile onu örten tek katlı yassı ya da küboidal mezotelyal hücrelerden oluşur. Vasküler ve lenfatik yapılar içerir (7, 12).

**KOLOREKTAL KARSİNOMLAR****İNSİDANS**

Batı ülkelerinde ve Amerika Birleşik Devletleri'nde en yüksek insidansa sahiptir. Asya ülkelerinde ise daha düşük insidansa sahiptir. Önemli mortalite oranına sahip olan KK'lar yeni kanser olgularının %8,5'ini oluşturmaktadır ve bu oran gittikçe artmaktadır. Ülkemizde Sağlık Bakanlığı'nın 2005 yılı verileri uyarınca KK insidansı kadınlarda %6,31 ve erkeklerde %8,69' dur (1, 2, 13).

**EPİDEMİYOLOJİ**

Kolorektal karsinomlar ülkemizde her iki cinsiyette de beşinci sıklıkta izlenmektedir. Sıklıkları giderek artmaktadır. Ayrıca erkeklerde görülme sıklığı daha yüksektir. Yaşla birlikte risk artmaktadır. Ortalama görülme yaşı 62'dir. Genetik bir zemin ya da ülseratif kolit gibi kronik inflamatuvar bir durum yoksa nadiren 40 yaş altında rastlanır (1, 2, 11) .

## ETİYOLOJİ

Kolorektal karsinom gelişiminde bazıları iyi tanımlanmış olan risk gruplarından söz edilmektedir. Bunlar çevresel faktörler, genetik faktörler ve premalign lezyonlar başlıkları altında incelenebilir.

### 1)Çevresel Faktörler:

**-Beslenme:** Kolorektal karsinomlar coğrafi dağılım farkı göstermektedir. Avrupa ve A.B.D’de daha sık, Asya’da daha seyrek izlenirken; Asya’daki sıklığı da artış göstermektedir. Bu durum batılı yaşam ve beslenme şeklinin yaygınlaşması ile açıklanmaktadır. Kırmızı et ve hayvansal yağ tüketiminin artmasının, safra asit salgısının artmasının yanısıra liften, vitaminden ve deniz ürünlerinden fakir beslenmenin insidansı arttırdığı düşünülmektedir. Özellikle kırmızı et ve hayvansal yağ tüketimi nitrozaminlerin miktarını arttırarak safra asit salınımında artışa ve barsakta anaerob flora artışına yol açmaktadır. Antioksidan özellikte vitaminlerden yoksun diyet ile bu karsinojenik aminlerin etkisizleştirilmesi azalır ve liften fakir diyet de gaytanın barsakta kalış süresini uzatarak bu etkiyi artırır. Tüm bu etkileşimlerin KK sıklığını arttırdığı düşünülmektedir (1, 3, 14).

**-Hormonal Durum:** Östrojen düzeyinin yüksekliğinin (endojen, hormonoterapi, obezite vs.) kolon karsinogenezinde etkili olduğu kabul edilmektedir (15,16).

**-Radyasyon:** Pelvik radyoterapi KK gelişimini kolaylaştırmaktadır.

**-İlaçlar:** Aspirin ve diğer non-steroid antiinflatuar ilaçlar ile yüksek lifli diyetin KK riskini azalttığı düşünülmektedir (17). Ayrıca folat, vitamin D ve kalsiyumun da aynı etkiye sahip olduğu sanılmaktadır.

**-Diğer:** Alkol, sigara ve asbest maruziyeti KK’ya zemin hazırlamaktadır.

### 2) Genetik Faktörler:

Kolorektal karsinomların %15-20’ sinin genetik zeminde geliştiği düşünüüyorsa da bunların ancak %5’ ten azı iyi tanımlanmış genetik sendromlarla birliktelik gösterir (11).

Genetik faktörler polipozis ve nonpolipozis sendromlar şeklinde iki ana başlık altında incelenir.

#### A)Hereditör Polipozis Kolorektal Kanserler:

Hereditör Polipozis Kolorektal Kanserler (HPPC) otozomal dominant geçiş gösteren ve KK gelişimine zemin hazırlayan sendromları içermektedir:

**-Familyal Adenomatöz Polipozis:** Otozomal dominant yolla aktarılan Familial Adenomatöz Polipozis (FAP) sendromunda APC geninde mutasyonlar görülür. Tümörlerin

%1'i bu zeminde gelişir. Kolonda çoğu tubüler adenom olan yüzlerce polip oluşur. Sonraki yıllarda KK gelişme riski gittikçe artar. Ayrıca başka intestinal ve ekstraintestinal manifestasyonları da bulunur. Bunlardan bazıları santral sinir sistemi (SSS), tiroid, sürrenal maligniteleri ile osteomlar, kutanöz kistler ve dental anomalilerdir (11, 18).

**-Gardner Sendromu:** Kolorektal adenomlara ek olarak belirgin ekstrakolonik özellikler bulunmaktadır (desmoid fibromatozis, pigmente retina epitelinde konjenital hipertrofi, epidermoid kist, osteom ve dental anomaliler) (1, 19).

**-Turcot Sendromu:** Malign SSS tümörlerinin izlendiği kalıtsal adenomatöz polipozis sendromu olup FAP varyantı olarak tanımlanır (20).

**-Juvenil Polipozis Sendromu:** Genetik olarak heterojen bir grup oluşturan bu sendromda kolorektal ya da kolon dışı juvenil polipler ve aile öyküsü bulunmaktadır. Cowden hastalığı ve Gorlin sendromu'nda juvenil polipozis önemli bir bileşendir (21).

### ***B)Hereditär Nonpolipozis Kolorektal Kanserler (HNPCC)***

Kolorektal karsinomların %1-2'sini oluşturmaktadır. Otozomal dominant yolla aktarılmaktadır. Erken yaşta KK, sağ taraf tümörlerinde baskınlık ve hızlanmış karsinogenez izlenmektedir. HNPCC'de DNA tamir genlerinde mikrosatellit instabilitesine yol açan mutasyonlar olur.

**-Lynch I Sendromu:** Kolon dışı tutulum bulunmamaktadır.

**-Lynch II Sendromu:** Endometrium, over, mide, ince barsak, hepatobiliyer sistem, pankreas, üreter, böbrek, beyin başta olmak üzere kolon dışı tümöral tutulum gözlenmektedir (22).

Tümörler sıklıkla kötü diferansiye özelliktedir. Müsinöz tümör görülme sıklığı artmakta ve tümör sınırlarında lenfositik infiltrasyona sıklıkla rastlanmaktadır.

### **3)Premalign Lezyonlar**

#### ***A)Aberran Kript Odağı:***

Mukozaya açılan genişlemiş değişken şekilli kriptler vardır. Epitel kalınlaşmış ve müsin içeriği azalmış olarak izlenmektedir. Histolojik ve fenotipik olarak hiperplastik ve displastik olmak üzere iki alt tipi bulunmaktadır (1, 11).

#### ***B)Adenomlar:***

Displastik kolon epiteli ve destekleyen stromadan oluşmaktadır. Kolorektal poliplerin en sık izlenen tipidir. Boyutça büyük, sayıca çok, sol taraf yerleşimli ve distalde yer alan adenomlarda daha yüksek oranda displazi saptanmaktadır. İki cm'den büyük olanlarda ve

villöz yapıda olanlarda displazi gelişme olasılığı daha yüksektir. Proksimal yerleşimli adenomlara KK için aile öyküsü pozitif olduğunda, özellikle de HNPCC varlığında daha sık rastlanmaktadır. Adenomlar boyut, makroskobik konfigürasyon, tubüler ya da villöz komponent oranı ve displazi derecesi temel alınarak sınıflandırılmaktadır (11).

Adenomlar baskın olan glandüler paternin histolojik yapısına göre sınıflandırılmaktadır:

**-Tubüler Adenomlar:** %80 oranında görülmektedir. Genellikle 1 cm'nin altında ve düzgün yüzeyli olarak izlenmektedirler. Mikroskobik olarak displastik glandüler yapı yüzeyin %80'den fazlasını kaplamaktadır.

**-Villöz Adenomlar:** %10 oranında görülmektedir. Büyük boyutlara ulaşabilirler. Mikroskobik olarak displastik glandüler epitel ile döşeli ince villöz uzanımlar yüzeyin %80'den fazlasını kaplamaktadır. Villöz uzanımlar normal kolorektal mukoza kalınlığının iki katı uzunluğa sahiptir .

**-Tübülovillöz Adenomlar:** Tubüler ve villöz komponentlerin %20'ye %80 veya %80'e %20 oranında bulunması ile tanımlanır ve adenomların %10'u bu grupta yer alır.

**-Hiperplastik (Metaplastik) Polipler:** Mukozal büyüme vardır. Üst kısmında epitelyal topluluklar, goblet hücreleri ve alt kısmında proliferen epitelin bulunduğu uzamış, birbirinden ayrılmış kriptler ile karakterizedir. Testere dişi şeklinde luminal yüzey gözlenir. Nükleus küçük, yuvarlak ve bazal yerleşimlidir. Sitoplazmada normal goblet hücrelerinden daha fazla mün bulunur. Bu polipler daha önce non-neoplastik olarak tanımlanmışsa da K-ras mutasyonuna sıklıkla rastlanır. Bu da hiperplastik poliplerin adenom-karsinom sekansından farklı bir yolla neoplastik olabileceğini düşündürmektedir (1).

### ***C)Kronik İnflamatuvar Barsak Hastalıkları (İBH):***

Mukozal immün sistemin uyumsuz aktivasyonundan kaynaklandıkları düşünülmektedir. Bunlardan başlıcaları Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığı'dır.

**-Ülseratif Kolit:** Karakteristik olarak sol kolonu tutar ve rektosigmoid bölgede başlar. Kolorektal karsinom sıklığı artar. Tüm KK olgularının %1'ini oluşturur. Uzun süren, erken başlayan, tüm kolonu tutan ve süreklilik gösteren olgularda risk daha yüksektir. Tümörler sıklıkla az diferansiye, münöz tipte ve infiltratif görünümde olup polipoid gelişim göstermezler (1, 3, 5).

**-Crohn Hastalığı:** Aslında ince barsak hastalığı olarak tanımlanır ancak kolonu da tutar. Kolorektal karsinom sıklığı üç kat artar. Uzun süre ve erken başlangıç riski artırır. Tümörler genellikle az diferansiyedir ve prognoz kötüdür (23).

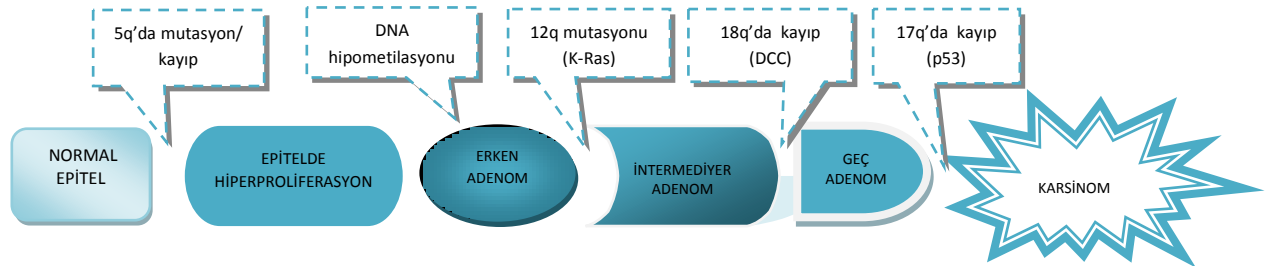
## KOLOREKTAL KARSİNOGENEZ

Kolorektal karsinogenezde bazı genetik değişiklikler ile genomik instabilitenin tipine bağlı olarak iki farklı moleküler gelişim modeli tanımlanır. Bunlardan ilki FAP/ $\beta$ -catenin yolağı, ikincisi mikrosatellit instabilite yolağıdır (3,5,24).

### 1)FAP/ $\beta$ -catenin Yolağı (Kromozomal İstabilite Yolağı):

Kolorektal karsinogenezin bu gelişim modelinde bazı onkogenler ile tümör supresor genlerin ardışık mutasyonuna bağlı olarak kromozomal instabilite gelişmektedir. Bu gelişim basamaklarına bazı morfolojik değişiklikler eşlik etmektedir. Bunlar en erken dönemde epitelde hiperproliferasyon, ardından adenom oluşumu, adenomda displazi ve son olarak invaziv karsinom gelişimi şeklinde açıklanabilir. Adenom-karsinom sekansı (AKS) olarak adlandırılan bu model Fearon ve Vogelstein tarafından tanımlanmıştır (3,5,24). Daha sonra 1970'lerde Knudson tarafından geliştirilmiştir. Kolorektal karsinomların büyük kısmının bu sekans üzerinden geliştiği kabul edilmektedir. HPCC gelişiminden sorumlu tutulmaktadır.

Bu yolakta ras onkogeni ile beşinci, 17. ve 18. kromozomlarda yer alan tümör baskılayıcı genler anahtar role sahiptir. DNA metil gruplarında kayıp ve bazı proteinlerin aşırı oluşumu da süreçte etkili olur (11, 25).



Şekil 1: Adenom – karsinom sekansında eş zamanlı genetik ve morfolojik değişiklikler.

Karsinogenezin en erken döneminde beşinci kromozomun kısa kolunda yerleşen bir tümör baskılayıcı gen olan FAP (APC) geninde mutasyon ya da kayıp gerçekleşir. FAP geni adezyon, migrasyon ve apoptozu düzenlemektedir. Bu protein  $\beta$ -catenin,  $\gamma$ -catenin, glikojen sentaz kinaz ve axin ile bağlanır.  $\beta$ -catenin bir yandan E-cadherin'in sitoplazmik ucuna bağlanarak adezyonu sağlar. Diğer yandan Wnt sinyal yolunun önemli bir bileşenidir. Bu yol hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonunu düzenlemektedir. Normal hücrelerde Wnt sinyal yolu inaktif durumda iken glikojen sentaz kinaz, FAP ve axin sitozoldeki serbest  $\beta$ -catenin'i yok eder. Ancak Wnt sinyal yolunun aktivasyonuna bağlı olarak bu gerçekleşmediğinde serbest  $\beta$ -catenin yok edilemez, hücrede birikir ve transkripsiyon faktörleri ile birleşerek nükleusa geçer (26, 27). Burada c-myc ve cyclin D1 protoonkogenlerini etkileyerek hücre proliferasyonunu artırır ve apoptozu inhibe eder (28, 29). Tüm bu adımların sonucunda yüzey epitelinde aşırı proliferasyon gelişir.

Proliferasyon sonucunda adenom gelişir. Erken adenom döneminde DNA metiltransferaz enziminin inaktivasyonu ile karsinojenik etki oluşur ve DNA metil grupları azalır. Öte yandan FAP geninin promoter bölgesinin hipermetilasyonunun bu genin işlevini bozarak karsinogeneze yol açtığı düşünülmektedir (25).

Erken adenom dönemindeki bir başka değişiklik ise K-ras onkogenindeki mutasyondur (3). Bu da FAP mutasyonu ile ilişkilidir ve adenom gelişiminde ilerletici etkiye sahiptir. K-ras mutasyonu KK'lı hastaların %50'den fazlasında vardır. Bu mutasyon sıklıkla 12. kromozomun uzun kolunda ortaya çıkar (3,30). K-ras GTP bağlayıcı bir proteindir. İntrensek GTPaz aktivitesi vardır. Ras proteini GTP'ye bağlı iken aktif, GDP'ye bağlı iken inaktiftir. K-ras onkogeninde oluşan tüm karsinojenik mutasyonlar GTP bağlayıcı ucu etkiler ve GTPaz aktivitesini azaltır. Sonuçta K-ras aktive halde kalır. Aktive K-ras, RAF proteinine bağlanır ve MAP kinaz kaskadını uyarır. Ardından nükleer transkripsiyon faktörleri transkribe olur (5). Mutant K-ras, aktive durumda kalarak mitozu uyarmayı sürdürür ve apoptozu engeller. Dolayısıyla K-ras mutasyonu sonucunda adenomda progresyon gerçekleşir.

Bu dönemde sıklıkla karşılaşılan 18q21 delesyonu 17p delesyonundan sonra KK'da en sık oluşan mutasyondur. Olguların yaklaşık %70'inde görülür. Erken adenomda %10-30, geç adenomda %60 oranında bulunur (25). Rekürrens, distal yerleşim, Müsinöz Adenokarsinom ve azalmış sağ kalım ile ilişkilidir (31). Bu bölgedeki tümör supresör gen "DCC" (deleted in colorectal cancer) adını alır. Görevi aksonal iletide görev alan adezyon molekülü benzeri bir reseptör bileşeni olan netrin-1'i kodlamaktır. Bu bölgedeki diğer iki

tümör supresör gen SMAD2 ve SMAD4'dür. İnhibitör Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ileti yolunda görev alırlar. Dolayısıyla hücre büyümesinin regülasyonu, diferansiyasyonu, matriks üretimi ve apoptozda etkilidirler. Bu genlerin kaybı hücre siklusu üzerindeki inhibitör etkiyi yok eder (25). Tüm bu mutasyonların sonucunda adenom progrese olur ve displastik özelliklerin şiddetlendiği geç adenoma dönüşür.

17. kromozomun kısa kolunda bulunan tümör supresor gen olan p53'ün kaybı insan kanserlerinde en sık karşılaşılan gen değişikliğidir. DNA tamirini ve transkripsiyonu denetler. Yokluğunda DNA onarımı yetersizdir ve apoptoz defektiftir. Adenomda KK'dan daha seyrek görüldüğünden karsinogenezin geç evresinde etkili olduğu düşünülmektedir (25).

Tablo I: Sporadik KK'da sık görülen genetik bozuklukların sıklığı.

| Sıklık (%)                         |                                 |               |
|------------------------------------|---------------------------------|---------------|
| Mutasyon/bozukluk                  | Adenom                          | Adenokarsinom |
| FAP                                | 59-82                           | 52-60         |
| 5q allel kaybı                     | 27-29                           | 36-56         |
| K-ras                              | <1cm'de 12-34<br>>1 cm'de 44-59 | 35-41         |
| p53 mutasyonu /<br>overekspresyonu | 4-26                            | 51-74         |
| 17p allel kaybı                    | 14                              | 71-75         |
| 18q allel kaybı                    | 11-70                           | 73            |

## 2) Mikrosatellit İnstabilite (MSİ) Yolağı:

MSİ, HNPCC sendromunda ve sporadik vakaların %10-15'inde bulunur. Burada da APC/ $\beta$ -catenin yolağındaki gibi mutasyonların birikimi söz konusudur. Ancak bu birikim belli bir morfolojik görünüme yol açmaz (5). İnsan genomundaki tekrarlayan sekans fragmanlarına mikrosatellit adı verilmektedir. Bu sekanslarda DNA replikasyonu sırasında yanlış dizilme eğilimi vardır ve bunu düzelten koruyucu genler DNA hatalı eşleşme genleridir. İnsanda tanımlanmış 5 adet hatalı eşleşme geni vardır (25). Bunların herhangi birindeki bozukluk ailesel HNPCC sendromuna yol açar. En sık MSH2 ve MLH1 mutasyonları izlenir. Bu genlerdeki defektler mikrosatellitlerde kararsızlığa yol açarlar.

Mikrosatellitler sıklıkla genlerin kodlanmayan bölgelerinde bulundukları halde bazen kodlanan alanlarda ya da promoter bölgelerinde bulunabilirler. Bu durumda mutasyonları anlamlı olur (5). Örneğin TGF- $\beta$  ve BAX'daki MSI sonucu TGF- $\beta$ 'nın kolon epitelindeki inhibitör etkisi ve BAX geninin apoptotik etkisi kaybolur (3,31).

MSI'ye bağılı olarak aberran kript odağı içeren hiperplastik polipler, ardından serrate adenom ve son aşamada invaziv karsinom gelişmektedir (24). MSI sonucu oluşan tümörler daha çok proksimal kolon yerleşimli olup müsinöz adenokarsinom morfolojisindedirler (3).

Defektif DNA hatalı eşleşme onarımı ile Wnt sinyal yolu arasında işlevsel bir ilişkinin olduğu düşünülmektedir. MSI'li sporadik KK'ların %25'inde axin2 geninde çerçeve kayması mutasyonları vardır. Bunlar  $\beta$ -catenin stabilizasyonu ile  $\beta$ -catenin/T hücre faktör aktivasyonuna yol açarlar. Sonuçta kolon eptelinde hiperproliferasyon gelişir (3).

## **BELİRTİ VE BULGULAR**

KK erken dönemde bulgu vermeyebilir. Çoğu olguda semptomlar tanıdan 3 ay önce başlar. En sık gözlenen bulgular başta defekasyon değişiklikleri olmak üzere, karın ağrısı ve hematokezyadır.

Sağ taraf tümörleri lümenin genişliğinden dolayı büyük boyuta rağmen sessiz seyredebilir. Ancak kronik gizli kanamaya bağılı olarak anemiye yol açabilirler. Gayta daha sıvı kıvamlıdır, obstrüksiyon sık değildir.

Sol taraf tümörleri küçük boyutlu oldukları halde daha çabuk bulgu verirler. Hematokezya, karın ağrısı, defekasyon değişiklikleri sık yakınmalardır. Tümörde lümeni sarar tarzda büyüme eğilimi olduğundan obstrüksiyona daha sık rastlanır.

Rektum yerleşimli tümörlerde özellikle geç dönemde tenezm bulunabilir. Kilo kaybı eşlik edebilir.

## **FİZİK MUAYENE**

Abdominal muayene tamamen olağan olabilir. Öte yandan distansiyon tek bulgu olabileceği gibi kimi olgularda obstrüksiyon hatta perforasyona bağılı bulgular gözlenebilir. Ayrıca kitlenin palpasyonu, portal hipertansiyon, metastatik supraklavikular LN varlığı saptanabilir.

## **TANI**

### ***Laboratuvar Bulguları:***

-Serumda karsino embriyonik antijen (CEA) yüksekliğine KK'lı hastaların %72-97'sinde rastlanır. Tümör rezeksiyonundan sonra azalır ve metastaz varlığında tekrar saptanır. İlerlemiş hastalıkta değeri yükselir (3).

-CA 19-9 ve CA-125 KK ile ilişkilidir.

-Gaytada gizli kan tarama tanıda yardımcı ve ucuz bir yöntemdir. KK tanısında sensitif, ancak spesifik olmayan bir yöntemdir. Pozitif olduğunda ileri tetkik önerilir.

-Yeni ve umut verici bir yöntem de gaytada ras ve APC gen mutasyonlarının ölçülmesidir. Ancak bu yolla polip ile karsinomun ayrımı yapılamamaktadır (3).

### ***Görüntüleme Yöntemleri:***

-Baryumlu kolon grafisi: Büyük tümörlerde daha tanısaldır. Hasta için daha rahat ve daha ucuz olmasına rağmen örnekleme ya da polipektomide kullanılamaz.

-Hava kontrastlı radyografi: Daha küçük tümörlerde de tanısal olarak yardımcıdır.

-BT, MR ve transrektal USG: Tümör invazyonunun derinliğine ve yakın/uzak metastaz durumuna göre değişen tanısal değere sahiptir.

-Proktosigmoidoskopi: İleri evre hastalığı saptayan diğer yöntemlerden farklı olarak uygun aralıklarda uygulandığında erken dönemde %50 olguda tanısaldır.

-Sintigrafi ve PET: Tanı ve evrelemede kullanılan yöntemlerdendir.

## **YERLEŞİM**

Tümörlerin yaklaşık yarısı rektosigmoid bölgede yerleşir. Son yıllarda özellikle daha ileri yaşlarda proksimal kolon tümörleri lehine bir artış izlenmektedir. Sağ taraf tümörleri yaşlılarda, HNPCC ya da divertiküler hastalığı olanlarda daha sıktır. Yüksek MSI ya da ras protoonkogen mutasyonunda çekum, çıkan kolon ve transvers kolon daha sık tutulur (1,3,14).

## **MAKROSKOBİ**

Makroskobik görünüm değişkendir. Küçük tümörler adenomdan ayırt edilemeyebilir. Adenomdan gelişen erken karsinomlar genellikle saplı ya da kalın tabanlı adenomatöz poliplere benzerler.

1-2 cm boyutlu tümörler karakteristik olarak yuvarlaktırlar ve keskin sınırları vardır. Santralde deprese ve periferde kabarıktırlar. Kenarda adenomatöz doku kalıntısı izlenebilir (11).

Daha büyük boyutlu tümörler makroskopik olarak ekzofitik, ülseratif/endofitik, diffüz infiltratif/linitis plastika ya da annuler tip olarak tariflenebilirler. Ancak sıklıkla mikst özelliktedirler. En sık görünüm ülseratif tip olarak tanımlanan sert, krater benzeri santral tümöral alan ile çevrede yumuşak, kabarık daha adenomatöz alandır. Bu tümör tipinin özel bir varyantı flat/deprese karsinomdur ve genellikle adenomdan malign transformasyonla değil, de novo yolla geliştiği düşünülmektedir. Bu tipte LVI'nin eşlik ettiği derin stromal invazyon eğilimi daha yüksektir (1,3).

Kolon proksimalinde gelişen tümörler ekzofitik büyüme eğilimi gösterirken transvers ve inen kolon tümörleri sıklıkla endofitik ve annüler gelişim gösterirler.

Kesit yüzü genellikle homojen görünümündedir. Bazen nekroz izlenebilir. Ülsere tümörlerde genellikle stromal desmoplaziyi yansıtan sert kıvam vardır. Ekzofitik tümörler ise daha yumuşak kıvamlıdır. Müsinöz tip adenokarsinomlarda sıklıkla makroskopik olarak saptanabilen müsin içeriği bulunur.

Kolon kesit yüzünün dikkatli incelenmesi; makroskopik ve mikroskopik tümör sınırları arasındaki uyumdan dolayı tümör derinliği hakkında yaklaşık bir fikir verir (3, 11).

## **MİKROSKOBİ**

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) sınıflamasında 1999 yılında Fransa'da toplanan Editöryal ve Konsensus Konferansı'na katılan çalışma grubunun görüşleri temel alınmaktadır. Bu histolojik sınıflamaya göre KK'lar şu alt gruplara ayrılmaktadır:

- Adenokarsinom
- Müsinöz adenokarsinom
- Taşlı yüzük hücreli karsinom
- Küçük hücreli karsinom
- Skumöz hücreli karsinom
- Adenoskumöz karsinom
- Medüller karsinom
- Undiferansiye karsinom

Kolorektal karsinom, kolon ya da rektumun malign epitelyal tümörü olarak tanımlanır. Bu bölgede yalnızca muskularis mukozayı geçerek submukozayı infiltre eden tümörler malign olarak kabul edilirler. Dağınık panet ya da nöroendokrin hücrelerin ve küçük skuamöz diferansiyasyon odaklarının varlığı adenokarsinom tanısı ile uyumludur (1). Tümörlerin %98'ini adenokarsinomlar oluşturmaktadır.

#### ***Adenokarsinomlar:***

Tümörlerin %80'ini iyi ve orta diferansiye adenokarsinomlar oluşturmaktadır. Tümörlerde değişik oranlarda müsün bulunur. Tümörler kolumnar ve goblet hücre kombinasyonundan oluşmaktadır. Panet ya da nöroendokrin hücreler bulunabilir. Özellikle tümör kenarında daha belirgin olan inflamatuvar ve desmoplastik reaksiyon gözlenir. İnflamatuvar hücrelerin çoğu T lenfositlerden oluşmaktadır; ancak B lenfositler, plazma hücreleri ve histiyositler de eşlik edebilir (11, 32).

Tümör komşuluğunda rezidüel polipi yansıtan uzun, kıvrıntılı, normal mukozaya göre daha fazla goblet hücresi içeren ve hiperplastik değişiklikler gösteren gland yapılarına daha sık rastlanır. Bu değişiklikler histokimyasal olarak tesbit edilebilen müsün varlığı ile beraberdır ve transizyonel mukoza olarak adlandırılır. Ancak bunun olasılıkla reaktif bir değişiklik olabileceği düşünülmektedir. Çünkü diğer tümör tiplerinin komşuluğunda ve non-neoplastik durumlarda da gözlenebilir (3).

#### ***Müsünöz (Kolloid) Adenokarsinom:***

Tümörlerin %11-19'unu oluşturur. WHO'ya göre tümörün %50'den fazlası müsinden oluşmalıdır ve taşlı yüzük hücrelerin baskın olduğu tümörler bu tanının dışında tutulmalıdır. Bu varyant ekstrasellüler müsün gölcükleri ile karakterizedir. Müsün gölcükleri içinde tümöral hücrelerden oluşan glandlar, şeritler ya da tek hücreler izlenebilir (11).

En sık proksimal kolonda, ardından rektosigmoid bölgede yerleşirler. 40 yaş altında, MSI varlığında, Lynch Sendromu, Ülseratif Kolit ve pelvik radyasyon zemininde gelişebilirler (33, 34).

Makroskobik olarak sapsız, nodüler kitle şeklinde izlenirler. Mikroskobik olarak uniloküler/multiloküler müsün gölcüklerini çevreleyen tek katlı/hafif papiller gelişim gösteren kolumnar/alçak küboidal epitel izlenmektedir. Diferansiyasyon azaldıkça tümörde solid odaklar artar. Tümör sınırları infiltratiftir. İnvazyona karşı stromal desmoplazi ve peritümöral inflamatuvar yanıt gibi doku reaksiyonu bulguları yoktur. Müsün içeriğinde MUC-2 saptanır (11).

Müsinöz adenokarsinomun prognozu non-müsinöz tiplere oranla daha kötüdür ve tanı anında daha ileri evrede saptanır.

#### ***Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom:***

Tümörlerin %1'ini oluşturur. Tümör hücrelerinin %50'den fazlasında belirgin intrastoplazmik müsin varlığı ile karakterizedir. Müsin vakuolü nükleusu kenara itip sitoplazmayı doldurarak taşlı yüzük görünümüne yol açar. Hücreler diffüz infiltratif olabilirler ya da ekstrasellüler müsin gölcükleri içinde yer alabilirler.

Sıklıkla 40 yaş altında ve İBH zemininde gelişiler. MSI ve HNPCC ile ilişkili olabilirler. Sağ taraf yerleşimi daha sıktır. Olgular tanı anında sıklıkla ileri evrededir (33, 34).

Makroskobik olarak kötü sınırlı, diffüz infiltratif ve ülsera görünümde tümörlerdir. Kesit yüzü mukoid ya da skiröz özellikte olabilir. Serozal yüzeylerde tümör implantlarına sıklıkla rastlanır. Multifokalite metastatik tutulumu düşündürür. Stromal reaksiyon değişikdir (11).

Bu tümörlerin çoğu midede ortaya çıkmaktadır. Ancak kolon ve rektumda da izlenebilir. Primer odağı tanımlamakta Sitokeratin 7 ve Sitokeratin 20 immünohistokimyasal boyaları kullanılır. Prognoz kötüdür (3).

#### ***Küçük Hücreli Karsinom:***

Tümörlerin %1'den azını oluşturur. Akciğerdeki eşdeğerine benzer mikroskobik görünümündedir. Çoğu sağ kolonda yerleşir. Hücrelerde Nöron Spesifik Enolaz (NSE) ve Synaptofizin ile boyanan sitoplazmik granüller bulunur. Tümörün tamamı bu özellikte olabileceği gibi fokal glandüler diferansiyasyon ve bazen eşlik eden müsin sekresyonu gözlenebilir (23).

Skuamöz diferansiyasyon bulunabilir. Bu tümörlerin bazıları özellikle villöz tip adenokarsinomdan köken alabilir. Prognozu kötüdür. Hemen tamamında LN ve karaciğere erken metastaz söz konusudur.

Organoid görünümün belirgin olduğu daha büyük hücreli nöroendokrin karsinomlar bulunabilir. Bunlar intermediate varyant küçük hücreli nöroendokrin karsinom, atipik karsinoid ya da yüksek dereceli nöroendokrin karsinom olarak adlandırılabilir (3, 23).

#### ***Skuamöz Hücreli Karsinom:***

Rektal skuamöz hücreli karsinom (SCC) tümörlerin %0,1'den azını oluşturur. Ortalama görülme yaşı 55 olup kadınlarda daha sık gelişir. Sigmoid kolon ve rektosigmoid bölge yerleşimi sıktır. Glandüler yapıların yokluğunu kanıtlamak için dikkatli ve çok

örnekleme yapılmalıdır. Ayırıcı tanılar arasında sekonder, kronik fistül traktından gelişen ve anal kanaldan yayılan SCC'ler vardır (11, 35). Etiyolojik faktörler arasında Schistosomiasis, amebiasis, HPV, İBH, kolonik duplikasyon, enterokutanöz fistüller ve radyoterapi bulunur (36). Prognoz klasik adenokarsinomda olduğu gibidir.

#### ***Adenoskuamöz Karsinom:***

Tümörlerin %0,06'dan azını oluşturur. Kombine skuamöz ve glandüler bileşenlerden oluşan tümörlerdir. Ortalama görülme yaşı 67'dir. Dentat hat yakınındaki epitel hem glandüler, hem de skuamöz epitele farklılaşma kapasitesine sahiptir. O yüzden rektumun alt kısmı ve anal kanal dışındaki kolon segmentlerinde gelişen tümörler bu gruba dahil edilirler (37). Kriptlerin bazalinde yer alan pluripotent kök hücrelerinden çok yönde diferansiyasyonla, kronik irritasyon etkisinde glandüler epiteldeki skuamöz metaplazi odaklarından ya da adenom/adenokarsinomlardan skuamöz diferansiyasyonla geliştikleri düşünülmektedir (11, 38).

En sık çekum ve çıkan kolonda gözlenirler. Genellikle ileri evrede saptanırlar. Glandüler bileşen sıklıkla kötü diferansiye iken, skuamöz komponentte diferansiyasyon değişkendir.

Adenoakantom olarak adlandırılan alt grupta benign sitolojik görünümde skuamöz moruller gözlenir ve agresif seyirlidir.

Camsı hücreli karsinom kumlu cam sitoplazmalı, pleomorfik dev hücrelerden oluşan agresif seyirli bir varyanttır (11).

#### ***Medüller Karsinom:***

Tümörlerin %2'sini oluşturur (39). Sıklıkla kadınlarda ve genellikle çekum ya da çıkan kolonda gözlenir. Özellikle de genç hastalarda saptandığında HNPCC olasılığı araştırılmalıdır. Değişmez olarak MSI ile ilişkilidir (1).

Mikroskopik olarak minimal gland formasyonu ile uniform, poligonal hücrelerin oluşturduğu yuvalar ya da trabeküller şeklinde gelişir. Hücreler veziküle nükleuslu, belirgin nükleoluslu, bol eozinofilik sitoplazmalıdır ve intraepitelyal lenfositik infiltrasyon skıtır. Ayrıca belirgin PTİ ve taşlı yüzük hücrelerini andıran intrasitoplazmik müsin birikimi eşlik eder (11). Bu görünüme karşın nöroendokrin diferansiyasyon immünohistokimyasal olarak gösterilemez. Bununla birlikte intrasitoplazmik müsinin gösterilmesi ve CEA reaktivitesi adenokarsinomatöz diferansiyasyonu destekler niteliktedir (39). Ayrıca CDX2 reaktivitesi intestinal diferansiyasyonu işaret eder (40).

### ***Undiferansiye Karsinom:***

Seyrek görülür. Epitelyal bir tümör olduğuna dair morfolojik bulgular dışında herhangi bir diferansiyasyon kanıtı yoktur. Değişken histolojik görünüme sahiptir. Undiferansiye görünüme karşın genetik olarak farklılık gösterir. Tipik olarak MSI ile ilişkilidir (1).

Skumöz, trofoblastik ya da endokrin diferansiyasyon tariflenebilir. Seyrek görülen KK varyantları sarkomatoid karsinom, karsinosarkom, dev hücreli karsinom, koryokarsinom, pigmente karsinom, berrak hücreli karsinom, stem cell karsinom ve kript hücreli karsinomdur (1,3).

### **YAYILIM-METASTAZ**

KK direkt invazyonla ve lenfatik ya da hematojen yolla yayılır. Direkt invazyonla submukoza ve daha derin tabakalara, ardından çevre dokularla peritoneal yüzeye yayılabilir.

Submukoza invazyonu öncesinde hematojen ya da lenfatik yolla metastaz beklenmezken invazyon derinliği arttıkça bu oran da artar.

Karaciğere metastaz kolon ve proksimal rektum tümörlerinde sıktır ve portal venöz sistem yoluyla gerçekleşir. Orta ve distal rektum tümörleri ise portokaval sistemden vena cava aracılığı ile doğrudan akciğere metastaz yapabilirler (11).

Lenfatik yolla metastaz az diferansiye ve yoğun infiltratif paternli tümörlerde daha sıktır (3). LN metastazı prognostik öneme sahiptir.

Karaciğer ve lenf nodları dışında periton, akciğer ve overlere de metastaz sık olur. Over metastazları özellikle postmenopozal kadınlarda kolorektal tümörün rezeksiyonu sırasında ooferektomiye gerektirecek kadar yüksektir. SSS, kemik, testis, uterus ve oral kavite seyrek metastaz olan yerlerdir (3).

### **HİSTOKİMYASAL, İMMÜNHİSTOKİMYASAL VE ELEKTRON MİKROSKOBİK ÖZELLİKLER**

Histokimyasal olarak KK'ların çoğu müsin boyaları ile olumlu boyanma gösterir. PAS ile alt intestinal sistem adenokarsinomlarındaki müsin pozitif boyanır. Ancak diğer bölgelerdeki intestinal tip karsinomları da boyadığından tanısal değeri azalır (3).

İmmünohistokimyasal olarak KK'lardaki müsin içeriği MUC1 ve MUC3 ile saptanabilir. Müsinöz adenokarsinomlarda ise MUC2 pozitifdir. Pankreatikobiliyer sistem tümörlerinin tersine MUC5 ile boyanma olmamaktadır (3,41).

KK'lar sitokeratin için değişmez olarak pozitifdir. Sitokeratin 7 ile negatif, sitokeratin 20 ile pozitif boyanma paterni yaygındır (41).

CEA ile pozitif boyanma kuraldır. CEA ile negatif boyanma varsa tümör olasılıkla kolorektal kökenli değildir. CEA ile hücre yüzeyi çoğu olguda eşit olarak boyanırken, normal mukoza ve iyi diferansiye tümörlerde kutupsal dağılım izlenir. Ayrıca serum seviyesi ile immünohistolojik patern arasında iyi bir korelasyon vardır (3).

CDX2 intestinal epitel hücrelerinde proliferasyon ve diferansiyasyonda etkili bir transkripsiyon faktörüdür. KK'ların çoğunda CDX2 ile reaktivite vardır (40). Ancak overin ve mesanenin primer müsinöz tümörlerinde de reaktivite gözlenebilir (41).

TAG-72 tümör ilişkili bir glikoproteindir. KK'ların tamamında, hiperplastik ve adenomatöz poliplerin çoğunda hatta olağan mukozada reaktivite gözlenebilir. Patern ve yoğunluk duruma göre değişir.

LEA (Büyük Eksternal Antijen) tümör ilişkili bir antijendir ve KK olgularında saptanır.

Kan grubu izoantijenleri ve HLA A, B, C için özellikle az diferansiye tümörlerde belirgin reaktivite saptanır.

Villin, villüslerin fırçamsı kenarındaki aksial mikroflaman demetleri ile ilişkili bir proteindir. Diferansiyasyonla ilişkisiz olarak KK'larda ekspresse olur.

Lizozomal sistein proteinazı olan Katepsin B ekspresyonu özellikle ileri hastalıkta artar.

Kalretinin ile özellikle undiferansiye KK'larda reaktivite gözlenir. Ancak bu durumda mezotelyoma ayırıcı tanı olarak akılda tutulmalıdır.

Human koryonik gonadotropin (hCG) reaktivitesi özellikle müsinöz tip ve az diferansiye KK'larda gözlenir (3).

Plasental alkalen fosfataz (PLAP) immünoreaktivitesi KK'larda %10 oranında saptanır.

Östrojen ve progesteron reseptörleri için reaktivite beklenmez.

Ultrastrüktürel olarak mikroflamanların hücre membranına dik yerleşmesi ve fırçamsı kenarlara girmesi kolorektal karsinomların belirgin bir özelliğidir. Bu özellik tanıya

yardımcıdır ama kesin tanı koydurmaz. Mide, ince barsak, safra kesesi ve pankreasın intestinal tip karsinomlarında da gözlenebilir (3).

### HİSTOLOJİK DERECELENDİRME (GRADE)

KK’larda histolojik derecelendirme oldukça subjektif olarak yapılır. Bazı sistemlerde gland formasyonu temel alınırken, diğerlerinde daha çok özellik değerlendirilir. Çoğu sisteme göre tümörler 3/4 dereceye ayrılır (41).

Tablo II: Histolojik grade (41).

|         |                           |
|---------|---------------------------|
| Grade 1 | İyi diferansiye           |
| Grade 2 | Orta derecede diferansiye |
| Grade 3 | Az diferansiye            |
| Grade 4 | Undiferansiye             |

KK’da histolojik derece evreden bağımsız prognostik bir faktördür. Tümörde heterojenite varlığında derecelendirme subjektifleşir. Zorlukları azaltmak amacıyla College of American Pathologists (CAP) tarafından önerilen 2 basamaklı bir derece sistemi kullanılır (41).

Tablo III: CAP’e göre derecelendirme.

|                 |                                  |
|-----------------|----------------------------------|
| Düşük dereceli  | İyi ve orta derecede diferansiye |
| Yüksek dereceli | Az diferansiye ve undiferansiye  |

Karsinomda heterojenite varsa grade en az diferansiye olana göre verilmelidir.

Tablo IV: Grade belirlemede glandüler yapı oranı (1).

| Grade | Diferansiyasyon | Glandüler yapı oranı |
|-------|-----------------|----------------------|
| I     | İyi             | >%95                 |
| II    | Orta            | %50-95               |
| III   | Az              | %5-50                |
| IV    | Yok             | <%5                  |

İyi diferansiye tümörler: %10-20 oranında bulunurlar. Büyük/orta boyutlu, köşeli/yuvarlak yapıda, tek katlı uzun kolumnar epitelle döşeli glandlar vardır. Gland yapıları tümörün %95'den fazlasını oluşturur. Bunlar yerleşimleri dışında displastik mukozadan ayırt edilemeyebilir. Glandlarda kompleks yapılanma yoktur. Seyrek mitoz izlenir.

Orta derecede diferansiye tümörler: %70 oranında bulunurlar. Daha kompleks yapılı ancak iyi tanımlanan glandüler yapılar vardır. Glandlar tümörün %50-95'ini oluşturur ve küboidal/alçak kolumnar hücrelerle döşelidir. İnfiltratif özellikte kribriform bezler vardır. İntraluminal nekrotik debris gözlenir. Hücrelerde orta derecede pleomorfizm, belirgin nükleol ve sık mitoz bulunur. Belirgin desmoplastik stromal reaksiyon ve lenfoid infiltrasyon eşlik eder (11).

Az diferansiye tümörler: Olguların yaklaşık %10'unu oluştururlar. Oval ya da küboidal şekilli hücrelerde belirgin polarite kaybı vardır. Gland formasyonu çok azdır ya da yoktur. Hücresel atipi fazladır.

Müsinöz adenokarsinom ve taşlı yüzük hücreli karsinomlar grade 3 tümörlerdir.

Undiferansiye tümörler: Seyrek görülürler. Epitelyal bir tümör olduklarına dair morfolojik bulgular hariç herhangi bir diferansiyasyon kanıtı yoktur. Glandlar tümörün %5'ten azını oluşturur. MSI'li medüller karsinom undiferansiye görünümündedir (1).

### **EVRELEME (STAGE)**

KK'ların prognozunun ön görülmesinde en uygun yol rezeksiyon materyalinde tümörün anatomik yayılımının değerlendirilmesidir (41). Günümüzde kullanılan patolojik evreleme sistemleri 1932 yılında Dukes tarafından rektal karsinomlar için oluşturulan ancak daha sonra kolon kanserleri için de kullanılan prognostik evreleme sisteminin geliştirilmesi yoluyla elde edilmişlerdir (11).

Dukes, hastaların sağ kalım beklentilerinin tümörün barsak duvarındaki direkt penetrasyon derinliğine ve bölgesel lenf nodlarında tümör metastazı durumuna bağlı olduğunu düşünmüştür (1, 3, 11).

Tablo V: 1932 Dukes evreleme sistemi.

| Evre | Tümör tutulumu                                                                                        |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A    | Kolon duvarına sınırlı, muskularis propria aşılmamış                                                  |
| B    | Tüm kolon duvarını tutmuş, kolonda serozayı, rektumda perirektal dokuyu invaze etmiş, LN tutulumu yok |
| C    | Derinliği ne olursa olsun, LN metastazı olan tümörler                                                 |

Bu evrelerde prognoz açısından değişik alt grupların bulunması sebebiyle Dukes 1937 yılında sınıflandırmasını geliştirmiştir.

Tablo VI: 1937 Dukes evreleme sistemi.

| Evre | Tümör tutulumu                                                                                        |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A    | Kolon duvarına sınırlı, muskularis propria aşılmamış                                                  |
| B    | Tüm kolon duvarını tutmuş, kolonda serozayı, rektumda perirektal dokuyu invaze etmiş, LN tutulumu yok |
| C    | LN metastazı var                                                                                      |
| C1   | Bölgesel LN’da metastaz                                                                               |
| C2   | Mezenterik kan damarları arasındaki LN’larında metastaz                                               |

Bu sınıflamaya 1967 yılında Tumbull tarafından uzak metastaz varlığını gösteren Evre D eklenmiştir.

1954 yılında Astler ve Coller tarafından, Kirkin’in modifiye ettiği farklı bir evreleme sistemi geliştirmiştir. Bu sistemin farkı LN tutulumu olan tümörleri farklı alt gruplara ayırmasıdır.

Tablo VII: 1954 Astler-Coller evreleme sistemi.

| Evre | Tümör tutulumu                                      |
|------|-----------------------------------------------------|
| A    | Mukozada sınırlı                                    |
| B    |                                                     |
| B1   | Tümör muskularis propriaya sınırlı, LN tutulumu yok |
| B2   | Tümör muskularis propriayı aşmış, LN tutulumu yok   |
| C    |                                                     |
| C1   | Tümör propriaya sınırlı, LN tutulumu var            |
| C2   | Tümör muskularis propriayı aşmış, LN tutulumu var   |

Tablo VIII: Modifiye Astler-Coller evreleme sistemi (MAC).

| Evre | Tümör tutulumu                                      |
|------|-----------------------------------------------------|
| A    | Mukozada sınırlı                                    |
| B    |                                                     |
| B1   | Tümör muskularis propriaya sınırlı, LN tutulumu yok |
| B2   | Tümör muskularis propriayı aşmış, LN tutulumu yok   |
| C    |                                                     |
| C1   | Tümör propriaya sınırlı, LN tutulumu var            |
| C2   | Tümör muskularis propriayı aşmış, LN tutulumu var   |
| D    | Uzak metastaz var                                   |

Günümüzde en yaygın kullanılan evreleme sistemleri MAC ve TNM evreleme sistemleridir. TNM sistemi de 1954 yılında oluşturulmuş ve Dukes evreleme sisteminden esinlenmiştir. TNM sistemi Union Internationale Contre le Cancer (UICC) ve American Joint Commission on Cancer (AJCC) tarafından benimsenmiştir (3, 11). Duke evreleme sistemine ek olarak tümör invazyonunun derinliği, bölgesel LN'larının durumu ve uzak metastaz durumu değerlendirilebilir.

Tablo IX: 2002 TNM evreleme sistemi (42).

| Evre | Tümör derinliği | LN durumu      | Uzak metastaz |
|------|-----------------|----------------|---------------|
| 0    | Tis             | N0             | M0            |
| I    | T1              | N0             | M0            |
|      | T2              | N0             | M0            |
| II   | T3              | N0             | M0            |
|      | T4              | N0             | M0            |
| III  | Herhangi bir T  | N1             | M0            |
|      | Herhangi bir T  | N2             | M0            |
| IV   | Herhangi bir T  | Herhangi bir N | M1            |

### **T -Primer Tümörün Derinliği**

**TX:** Primer tümör bilinmiyor

**T0:** Primer tümör yok

**Tis:** Karsinoma in situ

**T1:** Tümör submukozaya invaze

**T2:** Tümör muskularis propriaya invaze

**T3:** Tümör subseroza ya da perikolik/perirektal dokuya invaze

**T4:** Tümör komşu organ/yapılara ve/veya visseral peritona invaze

### **N- Bölgesel LN Durumu**

**NX:** Bölgesel LN değerlendirilemiyor

**N0:** Bölgesel LN metastazı yok

**N1:** 1-3 bölgesel LN’nda metastaz

**N2:**  $\geq 4$  bölgesel LN’nda metastaz

### **M-Uzak Metastaz Durumu**

**MX:** Uzak metastaz değerlendirilemiyor

**M0:** Uzak metastaz yok

**M1:** Uzak metastaz var

TNM evreleme sisteminde 2009 yılında bazı düzenlemeler yapılmıştır (43). Temel kategoriler değişmemekle birlikte alt başlıklar genişletilmiştir. Buna göre:

**T -Primer Tümörün Derinliği**

**T4:** Tümör komşu diğer organ/yapılara ve/veya visseral peritona invaze

**T4a:** Visseral peritona invaze

**T4b:** Diğer organ/yapılara doğrudan invaze

**N- Bölgesel LN Durumu**

**N1:** 1-3 bölgesel LN'nda metastaz

**N1a:** 1 LN'nda metastaz

**N1b:** 2-3 LN'nda metastaz

**N1c:** Bölgesel LN tutulumu olmaksızın subserozal satellitler (Bölgesel LN metastazı olmaksızın subserozadaki ya da nonperitonealize perikolik/perirektal yumuşak dokudaki tümör satellitleri)

**N2:**  $\geq 4$  bölgesel LN'nda metastaz

**N2a:** 4-6 LN'nda metastaz

**N2b:**  $\geq 7$  bölgesel LN'nda metastaz

LN'nun yerini tamamen almış düzgün kontürlü bir nodül saptanması durumunda pozitif LN olarak kabul edilmesi ve N1a-b ya da N2a-b olarak değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiş.

**M-Uzak Metastaz Durumu**

**M1:** Uzak metastaz var

**M1a:** Bir organa metastaz

**M1b:** Birden fazla organa veya peritona metastaz

**Perinöral (Pn) invazyon durumu:** Başka bir temel kategori olarak kabul edilmiştir:

**PnX:** Perinöral invazyon değerlendirilemiyor

**Pn0:** Perinöral invazyon yok

**Pn1:** Perinöral invazyon var

Tablo X: 2002 TNM evreleme sistemindeki değişiklikler (43).

| Evre | Tümör derinliği | LN durumu      | Uzak metastaz |
|------|-----------------|----------------|---------------|
| 0    | Tis             | N0             | M0            |
| I    | T1<br>T2        | N0<br>N0       | M0<br>M0      |
| II   | T3, T4          | N0             | M0            |
| IIA  | T3              | N0             | M0            |
| IIB  | T4a             | N0             | M0            |
| IIC  | T4b             | N0             | M0            |
| III  | Herhangi bir T  | N1, N2         | M0            |
| IIIA | T1, T2          | N1             | M0            |
|      | T1              | N2a            | M0            |
| IIIB | T3, T4a         | N1             | M0            |
|      | T2, T3          | N2a            | M0            |
|      | T1, T2          | N2b            | M0            |
| IIIC | T4a             | N2a            | M0            |
|      | T3, T4a         | N2b            | M0            |
|      | T4b             | N1-2           | M0            |
| IV   | Herhangi bir T  | Herhangi bir N | M1            |
| IVA  | Herhangi bir T  | Herhangi bir N | M1a           |
| IVB  | Herhangi bir T  | Herhangi bir N | M1b           |

Jass tarafından PTİ ve tümöral büyüme paternini de içeren bir evreleme sistemi önerilmiştir (3, 11).

### PROGNOZ

KK'larda küratif rezeksiyon sonrası beş yıllık sağ kalım süresi %40-60 arasında değişir. Lokal rekürrens ve/veya bölgesel LN metastazı başarısız olguların %90'dan fazlasında görülür. Rekürrenslerin %71'i ilk iki yılda, %91'i ilk beş yılda gerçekleşir. Prognozu belirlemede AJCC ve CAP bazı kategoriler oluşturmuştur. Her iki grupta da tümör evresi en önemli göstergedir.

### **Prognostik Faktörler:**

**1) Yaş:** Çok genç ve çok yaşlı olgularda tümör kötü prognozludur. Çok genç yaşta izlenen tümörler Ülseratif Kolit ile ilişkili olabilir, müsinöz/taşlı yüzük hücreli tümörler daha sık gözlenir ve olgular daha ileri evrede tanı alır. Yaş rektal tümörlerde daha önemlidir.

**2)Cinsiyet:** Prognoz kadınlarda erkeklerden daha iyidir.

**3)Serum CEA Seviyesi:** 5 ng/ml'den fazla olduğunda kötü prognoz göstergesi olan bağımsız bir faktördür. Tümör rezeksiyonundan sonra azalır ve metastaz varlığında tekrar artar (3). Pozitif peritoneal sitoloji ve yüksek peritoneal CEA seviyelerinde olguların %85'inde lokal rekürrens beklenir (44).

**4)Tümör Lokalizasyonu:** Tartışmalı bir konu olmakla birlikte sol taraf yerleşimli tümörlerin daha iyi prognoza sahip oldukları düşünülmektedir.

**5)Tümör Sayısı:** Senkron ya da metakron tümörlerle soliter tümörlerin sağ kalım süresi benzerdir.

**6)Lokal Yayılım:** Tümör bir polipte insidental olarak saptanırsa, özellikle de fokal ise ve mukoza ya da submukozada sınırlıysa prognoz mükemmeldir. Ancak tümör bölgesel lenf nodlarına metastaz yapmışsa, barsak duvarını aşmışsa prognoz kötüdür (3).

**7)Tümör Boyutu:** Tümör boyutu invazyon derinliği ile ilişkilendirilmişse de güvenilir bir prognostik faktör değildir. (11, 41).

**8)Tümör Kenarları:** Nonpolipoid kenarlı ilerlemiş tümörler, polipoid olanlara oranla daha kötü sınırlıdır.

**9)Obstrüksiyon:** Tartışmalı bir faktördür. Bazı çalışmalarda Duke sınıflamasından bağımsız bir faktör olarak tanımlanırken diğerlerinde etkisiz olduğu düşünülmüştür.

**10)Perforasyon:** Barsak duvarının tümöral invazyonundan kaynaklandığında kötü prognoz göstergesidir.

**11)Tümör Sınırları ve İnflamatuvar Reaksiyon:** İtici sınırları olan ve peritümöral inflamatuvar infiltratın bulunduğu tümörlerin prognozu daha iyidir (11, 41). Ancak tümörlerin yalnızca %20'sinde itici sınırlar vardır. Sınır özelliğinin Dukes sınıflamasını geliştirmede kullanılabileceğini düşündüren çalışmalar vardır (11).

Peritümöral eozinofil lökosit infiltrasyonu ve S-100 pozitif dendritik hücreler iyi prognozla ilişkilendirilmişse de bu konuda tartışmalı veriler bulunmaktadır. Peritümöral inflamatuvar hücre yoğunluğunun prognozu etkilediği kabul edilmektedir (1, 45).

Ayrıca PTİ'nin müsin oranına bağlı olmaksızın müsinöz karsinomda azaldığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (46).

**12)Vasküler İnvazyon:** Venöz invazyon evreden bağımsız prognostik bir faktör olarak kabul edilmektedir ve ektramural damarlarda tutulum olduğunda daha önemlidir (3). Venöz tutulum varlığı artan tümör derinliği, derecesi ve nodal tutulum ile ilişkilidir. Metastaz gelişme olasılığını arttırmakta ve sağ kalım süresini azaltmaktadır. Kalın duvarlı damarlar tutulduğunda ve buna komşu konak reaksiyonu olmadığında daha önemlidir (11).

CAP'a göre doğru bir değerlendirme için tümörün en derin uzanımının olduğu bölgeden tümör komşuluğunu da içeren en az üç blok incelenmelidir (41).

Lenfatik invazyon venöz tutulumdan daha az önemli olmakla birlikte özellikle ilerlemiş hastalıkta olumsuz bir prognostik faktördür. Nodal tutulumun varlığı ve sayısı ile orantılı bağımsız bir faktördür ve azalmış sağ kalım göstergesidir (11).

**13)Perinöral İnvazyon:** İlerlemiş hastalığı ve infiltratif büyümeyi gösterir. Kötü prognoz yönünde bağımsız bir faktör olduğu düşünülmektedir (41). Artmış lokal rekürrens, metastatik yayılım ve azalmış sağ kalım ile ilişkilidir. 2009 yılında yapılan düzenlemeler sonrasında TNM evrelemesine dahil edilmiştir.

**14)Cerrahi Sınırlar:** Primer tümörün komplet rezeksiyonu prognozu etkiler (11). Tümörün distal ya da proksimal cerrahi sınırdan uzaklığı rekürrensi ön görmede önemlidir. Cerrahi sınıra 5 cm'den uzak yerleşen tümörlerin rezeksiyonundan sonra anastomoz ağzında rekürrens beklenmez. Alçak anterior rektal rezeksiyonda bu mesafeyi sağlamak zor olduğundan 2 cm'lik bir uzaklık yeterli olarak kabul edilir.

Radial sınır, tümörün en derin yerleştiği alandaki retroperitoneal ya da perineal adventisyal yumuşak doku sınırı şeklinde tanımlanabilir. Radial sınır ile tümör arasındaki mesafenin 0-1 mm olması durumunda sınırın pozitif olarak kabul edilmesini öneren çalışmalar bulunmaktadır (41).

**15)Tümör Kalınlığı:** Tümör santralindeki deprese alanın kalınlığı, lenf nodu ve karaciğer metastazı ile ilişkilidir ve prognoz üzerinde etkilidir (3).

**16)Tümörün Mikroskopik Tipi:** Taşlı yüzük hücreli karsinom ve küçük hücreli karsinom kötü prognozludur. Medüller karsinom iyi prognoz göstergesi olarak kabul edilmektedir. Müsinöz karsinom ise değişken davranışlıdır ve MSI varlığında iyi prognozludur (3, 41).

**17)Asiner Morfoloji:** Mikroasiner patern kötü prognozla ilişkilidir ancak bağımsız bir prognostik faktör değildir (3).

**18)Nöroendokrin Hücre Varlığı:** Tartışmalı veriler mevcuttur (3).

**19)Tümör Anjiogenezi:** Neovaskülarizasyon yeni damar oluşumu olarak tanımlanır ve tümör gelişiminde önemli role sahiptir (45). Çok sayıda çalışma anjiogenezin rekürrenste artış ve sağ kalımda azalma ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

**20)Müsin İlişkili Antijenler:** MUC1, sialyl-Tn ve sialyl-Lewis(x) ekspresyonunun agresif seyir ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca MUC1'in bağımsız bir faktör olduğunu düşündüren çalışmalar mevcuttur (3).

**21)HLA-DR Ekspresyonu:** Aynı Dukes evresinde sınıflanan tümörlerden HLA-DR pozitif olanlarda sağ kalım süresi daha uzundur. HLA-A ekspresyonunda azalma iyi prognoz göstergesi olarak değerlendirilmektedir (3).

**22)hCG Ekspresyonu:** hCG immünreaktivitesinin olumsuz bir prognostik faktör olmadığı düşünülmektedir (3).

**23)Bcl-2 Ekspresyonu:** Bazı çalışmalarda bcl-2 ekspresyonunun iyi prognozla ilişkili olduğu belirtilmektedir (3, 47).

**24)DNA Ploidi:** Flow sitometrik bulgular Dukes evresi, tümör progresyonu ve diferansiyasyon ile ilişkilidir. Tümörler genellikle homojen DNA paterni göstermektedir ancak bazı çalışmalar özellikle rektal tümörlerde anöploidi ile sağ kalım süresi ve rekürrens riski arasında ilişki olduğunu göstermektedir (47).

**25)Hücre Proliferasyonu:** Sağ kalım ile ilişkilendirilmektedir.

**26)Kromozom 18q'da Allel Kaybı:** Prognozu olumsuz etkilemektedir.

**27)TGF- $\beta$ 1 Mutasyonu:** MSI olan tümörlerde TGF- $\beta$ 1 reseptöründe mutasyon varlığı iyi prognoz göstergesidir (3).

**28)Onkogen Ekspresyonu:** K-ras mutasyonu rekürren hastalığı olan olgularda daha sık bulunur. Bu durum özellikle immünohistokimyasal olarak saptanabilen p21 proteininin aşırı ekspresyonunda geçerlidir. Bu protein hücre dışı mitojenik sinyalleri ileterek hücre büyüme ve farklılaşmasında görev alan K-ras tarafından kodlanan bir protoonkogendir (3).

p53 overekspresyonu ile ilgili farklı çalışmalar ve veriler bulunmaktadır. Bir çalışmada sağ kalım açısından bağımsız bir etken olduğu belirtilirken başka bir çalışmada müsinöz karsinomlarda daha az eksprese olduğu vurgulanmaktadır. Öte yandan KK'larda

başka klinikopatolojik parametrelerle ilişkisiz bulunurken, sağ kalımı olumsuz etkilediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (3, 46, 47).

c-myc onkogen ekspresyonu tümör diferansiyasyonu ile ilişkilidir..

Bazı KK'larda MSI olarak adlandırılan ve intrinsek olarak instabil olan tekrarlayan DNA sekansları mevcuttur. MSI-H karakteristik olarak HNPCC olgularında saptanır ve sporadik KK'ların %15'sini oluşturur (1). Bazı çalışmalarda MSI-H tümörlerde beş yıllık sağ kalım beklentisinin daha yüksek olduğu saptanırken başka bir çalışmada ise kemoterapi (KT) yararlanımlarının daha düşük olduğu gösterilmiştir (3).

**29)Lenf Nodu Tutulumu:** Tümör prognozunu ve evresini belirlemede en etkili faktörlerden biridir. Tüm evreleme sistemlerinin önemli bir bileşenidir. LN tutulumu sağ kalımı belirgin olarak azaltmakta ve ayrıca adjuvan sistemik KT gereksinimini belirlemektedir (48, 49, 50). LN tutulumunun yeri ve miktarı önemlidir. LN sayısı hastanın yaşı, tümörün lokalizasyonu ve barsak rezeksiyonunun uzunluğuna bağlıdır (50). Tümöre yakın LN dışındakilerin tutulumunda sağaltım oldukça seyrek. Özellikle apikal LN tutulumu kötü prognoz göstergesidir. Sayı arttıkça prognoz kötüleşir (3). LN tutulumu sıklıkla 5 mm'den küçük olanlarda izlendiğinden dikkatli bir arama ve histopatolojik inceleme önem kazanır. İncelenmesi gereken LN sayısı kesin olarak belirlenmemiştir (49). Ancak en az 12 adet lenf nodunun incelenmesi ile negatif tutulumdan söz edilebilir. Bölgesel LN'ları ayrıca değerlendirilmelidir. Çünkü bunların tutulumu pN şeklinde değerlendirilirken, bölgesel LN dışındakiler pM1 olarak kabul edilir (41).

Aynı şekilde nodal mikrometastazlar da azalmış sağ kalım ile ilişkilidir (3). 2 mm'den küçük ancak 0,2 mm'den büyük nodal metastazlar mikrometastaz olarak tariflenir. Bunlar pN1 ya da pN2 olarak değerlendirilir. Aksine metastatik odak 0,2 mm'den küçükse ya da immünohistokimyasal/moleküler yöntemle saptanan izole tümör hücreleri varsa pN0 olarak raporlanmalıdır (41).

Ekstramural yağ dokusu içindeki tümör nodülleri lenf nodunun yerini alıyor ve rezidü lenfoid doku saptanamadığından LN tutulumu olarak değerlendirilemiyorsa özellikle sorunsaldır. AJCC bu durumda daha önceleri boyuttan yararlanmaktaydı. Buna göre 3 mm'den büyük ekstramural tümör nodülü var ancak lenf noduna dair bir bulgu yoksa hastalık pN ve 3 mm'den küçükse pT3 olarak kabul edilmekteydi. Ancak boyuta bağlı bu değerlendirme günümüzde terk edilmiştir. Düzgün sınırlı ekstramural tümör nodülü boyuttan bağımsız olarak pozitif LN kabul edilir ve evre pN olarak değerlendirilir (41).

**30)Lenf Nodu Reaksiyonu Paterni:** Parakortikal imm nobl stların arttığı ya da sinüs histiyositozisin izlendiği LN'larının bulunduğu hastalarda sağ kalım daha uzundur (3).

**31)Evreleme:** En önemli prognostik faktördür. Tüm evreleme sitemleri tümör derinliği ve LN tutulumu hakkında bilgi verirken, Dukes ve Astler-Coller sistemlerinde bunların sayısı belirtilmemektedir. Ancak TNM sisteminde tutulan LN sayısı önem kazanmaktadır.

**32)Mikroskopik Derece:**  zellikle tümör yüksek ya da düşük dereceli olarak değerlendirildiğinde prognoz ile kesin olarak ilişkilidir. Derecelemenin en yaygın paterne göre değil, en kötü paterne göre yapılması önerilmektedir.

Tablo XI: Prognostik faktörler (11).

|                  | <b>Bağımsız Prognostik Faktörler</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | <b>Ek Potansiyel Prognostik Faktörler</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Klinik</b>    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Barsak obstrüksiyonu</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Erkek cinsiyet</li> <li>• Preoperatif CEA seviyesi</li> <li>• İleri yaş</li> <li>• Tümör ilişkili semptomlar</li> <li>• Perforasyon</li> </ul>                                                                                                                                                                                  |
| <b>Patolojik</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• İnkomplet rezeksiyon</li> <li>• Uzak metastaz</li> <li>• İnvazyon derinliği</li> <li>• İnfiltratif tümör sınırları</li> <li>• Ekstrakolorektal invazyon</li> <li>• Bölgesel LN metastazı</li> <li>• Üçten fazla LN’nda tutulum</li> <li>• Diferansiyasyon/grade</li> <li>• Viseral periton penetrasyonu</li> <li>• İntramural yayılım</li> <li>• Ekstramural venöz invazyon</li> <li>• PNI</li> <li>• Peritümöral ‘crohn’ benzeri lenfoid reaksiyon</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ekzofitik konfigürasyon</li> <li>• Çepeçevre büyüme</li> <li>• Apikal LN’nda metastaz</li> <li>• Lenfatik invazyon</li> <li>• PTİ</li> <li>• İnfiltratif / itici tümör sınırları</li> <li>• Makroasiner / mikroasiner</li> <li>• Nöroendokrin subtip</li> <li>• Müsinöz subtip</li> <li>• Taşlı yüzük hücreli subtip</li> </ul> |
| <b>Moleküler</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• DNA anöploidisi</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bölgesel LN’nda tümör ilişkili mRNA ya da DNA mutasyonları</li> <li>• 17 p13 loküste allelik kayıp</li> <li>• p53 mutasyonu</li> <li>• RER<sup>+</sup> fenotipi</li> <li>• 18q21’de allel kaybı</li> <li>• Peritümöral stromada CD44 +</li> </ul>                                                                               |

## **TÜMÖR ANJİOGENEZİ VE NEOVASKÜLARİZASYON**

Anjiogenez ya da neovaskülarizasyon, var olan vasküler yapıların endotelinden yeni damar oluşumu olarak tanımlanır (6). Tümör büyümesinin yanı sıra kronik inflamasyon, yara iyileşmesi, fizyolojik anjiogenez ve diyabetik retinopatide gözlenir (5, 45). Bir tümör 1-2 mm'lik boyuta ulaştığında büyüme ve yayılma için yeni damar oluşumuna gereksinim duyar. Bazı çalışmalarda anjiogenez prognostik bir faktör olarak tanımlanır (6, 51).

Tümör anjiogenezi karmaşık, multifaktöryel ve büyüme faktörleri ile ekstrasellüler matriks enzimlerini gerektiren çok aşamalı bir süreçtir. Bu aşamalar hücre dışı matriksin yeniden şekillenmesini, endotelial hücrelerin göçünü-çoğalmasını ve küçük damarların yeniden gelişimini içermektedir (6).

Hipoksi sonucunda oluşan nitrik oksit yol açtığı vazodilatasyon ve VEGF aracılı geçirgenlik artışı ilk basamaktır. Bunu metalloproteinazların bazal membranı yıkması ve plazminojen aktivatörlerinin endotel hücre bağlantılarını bozması izler. Ardından endotel hücreleri göç eder ve geride kalanlar proliferer olur. Son olarak büyüme durur, kapillerler yeniden şekillenir. Periendoelial hücrelerin eklenmesi ile matürasyon gelişir ve süreç tamamlanır. Stabilizasyon perisitlerin ve düz kas hücrelerinin toplanması, ekstrasellüler matriks proteinlerinin depolanması yoluyla gerçekleşir. Bu süreçte anjiopoetin 1-2, TGF- $\beta$  ve Platelet Derived Growth Faktör (PDGF) etkili olur (3).

Her ne kadar anjiogenez tek başına metastaza neden olmuyorsa da yeni oluşan kapillerler fragmant bazal membranlara sahiptir ve malign hücrelerin kan dolaşımı boyunca taşınmasına izin verir. İyi gelişmiş vasküler bir ağ hematojen metastaz ve rekürrens olasılığını artırır (6, 52).

Anjiogenezin tümöral büyümenin erken döneminde uyarılmadığı düşünülmektedir. Ancak tümör 1-2 mm'lik boyuta ulaşınca "anjiogenik switch" olarak adlandırılan değişimle bazı tümör hücreleri anjiogenik özellik kazanır. Bunun p53 mutasyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. p53, antianjiogenik trombospondin-1 sentezini uyararak VEGF ve Hipoksik İndüklenebilir Faktör (HIF-1) üretimini azaltır ve anjiogenezi inhibe eder. p53 mutasyonu varlığında bu durum tersine döner ve anjiogenez uyarılır (5).

Tümör anjiogenezi ile oluşan damarlar düzensiz şekilli ve kıvrıntılıdır. Hücreler dayanıksız ve sızıntı yapan bir ağ oluşturur (6). Yeni oluşan damarlar oldukça frajildir ve

stabil değildir. Ayrıca olağan dokudaki arter-kapiller-ven geçişi bulunmaz, zor tanımlanan damar yapıları bulunur (5).

Anjiogenez tümör büyümesinde iki yolla etki gösterir: Besin maddeleri ve oksijen gereksinimini sağlayan perfüzyonu sağlar ve tümör hücrelerinin büyümesini uyarır (52). Yeni endotelial hücreler insülin benzeri büyüme faktörü ve PDGF salgılayarak büyümeye katkıda bulunur.

Tümör hücrelerince anjiogenik ve antianjiogenik faktörlerin üretimi uyarılır. Tümör ilişkili en önemli anjiogenik faktörler VEGF ve Basic Fibroblast Growth Faktör'dür (bFGF). VEGF, endotel hücrelerinin proliferasyon ve motilitesini uyararak yeni kapiller tomurcuklanmasına yol açar. FGF-2 bu etkiyi arttırabilir. Ancak en önemli faktör VEGF'dir . Bunun dışında TGF- $\alpha$  ve  $\beta$ , Epidermal Growth Faktör, Angiogenin, Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$  ve İnsülin benzeri büyüme faktörü de anjiogenezi uyarır (5).

Anjiogenez endotel hücre motilite ve göçü sonucu oluşmaktaysa da bunu kontrol eden protein moleküller bulunur. Bunlar integrinler, matrisellüler proteinler ve proteinazlardır. İntegrinler neovaskülarizasyonun sağlanması ve devamı için gereklidir. Trombospondin-1, tenascin-C ve SPARC'ı (Sisteinden Zengin Salgılanan Asit Protein) içeren matrisellüler proteinler hücre-matriks etkileşimini değiştirirler. Plazminojen aktivatör ve matriks metalloproteinazları dokuların remodelizasyonunda etkili oldukları gibi, endostatin gibi anti-anjiogenik faktörlerin de salınmasına neden olurlar.

Tümör hücreleri anti-anjiogenik faktörlerin salınımını da uyarırlar. Bunlar trombospondin-1, anjiostatin, endostatin ve tumstatindir. Diğer bazı anti-anjiogenik moleküller laminin, fibronektin, prolaktin, plazminojen ve kollajen olarak sıralanabilir. Böylece anjiogenez aktivatör ve inhibitör etkenlerin arasındaki denge uyarınca gerçekleşir (5).

Anjiogenezle klinik seyirin ilişkisi meme kanserinden sonra en sık KK'da incelenmiştir. İntratümöral anjiogenezi değerlendirmede en sık mikrodamar yoğunluğu (MDY) değeri kullanılır. MDY ilk olarak Weidner tarafından 1991'de kullanılmıştır (53). MDY arttıkça tümörün metastaz yapma olasılığı artmaktadır ve prognoz daha olumsuz etkilenmektedir. Kan damarları immünohistokimyasal olarak FVIIIa (von Willebrand Faktör), VEGF, CD31, CD34 ve CD105 ile işaretlenir (53, 54). Vasküler yapıların en yoğun olarak işaretlendiği belli sayıda sıcak alan (hot spot) baz alınarak sayım yapılır ve ortalama alınır.

### ***VEGF***

Vasküler endotelial büyüme faktörü olarak bilinen molekül anjiogenik moleküllerden en önemlisi ve en bilinenidir. Yaşamın erken döneminde vaskülogenezdeki ve yetişkin yaşta anjiogenezdeki rolü önemlidir. VEGF, endotelial hücrelerde mitojenik etkili olup hücre göçünü uyarır (5, 55). Tümöral gelişimde anjiogenezi yönlendirir.

Kalp ve miyositlerde ve böbrekte podositlerde yoğun olarak üretilen bu molekül, başka çeşitli dokularda da düşük düzeyde bulunmaktadır. Üretimi hipoksi, TGF- $\beta$ , TGF- $\alpha$ , FGF, İnterlökin-1 $\beta$  ve PDGF tarafından uyarılmaktadır.

VEGF'nin kötü prognozu gösteren bağımsız bir gösterge olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca hastalık seyrinde metastaz oluşumu ile ilişkili olduğunu vurgulayan çalışmalar bulunmaktadır (56).

Serum VEGF düzeyinin yüksek olmasının malignite açısından uyarıcı olabileceğini düşündüren çalışmalar mevcuttur. Ayrıca VEGF ekspresyonu ile MDY arasında orantılı bir ilişki bulunmaktadır ancak tümör evresi ile bağlantısızdır (57). Tümöral hücrelerdeki VEGF ekspresyonu tümör diferansiyasyonu azaldıkça artmaktadır (58).

### ***CD31***

Endotel hücrelerinde ve trombositlerde bulunan glikoprotein yapısında bir integral membran proteindir. 130 kilodalton (kDa) ağırlığındadır. Platelet endotelial hücre adezyon molekülü-1 (PECAM-1) olarak da bilinir ve hücre-hücre adezyonu ile transendotelial hücre migrasyonunda görev alır (5, 6).

Endotelial hücrelerin yüzeyi ile zayıf olarak lökosit ve plateletlerde eksprese olur. Ayrıca kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerde de bulunur. Anjiogenezde endotelial hücrelerde saptanır (5).

CD31, faktör VIII ve CD34 ile karşılaştırıldığında damar yapılarını belirlemede daha başarılıdır. Ancak tümöral dokuda inflamatuvar hücreleri de işaretleyebilmektedir. Bu sebeple spesifikite ve sensitivitesinin CD105'e oranla daha düşük olduğu belirtilmektedir (59). Ayrıca vasküler yapıları hem olağan hem de tümöral dokuda eşit yoğunlukta işaretlemektedir (51).

### ***CD105 (ENDOGLİN)***

Bir membran glikoproteini ve TGF- $\beta$ 1 reseptör kompleksinin üyesidir (51,60). 180 kDa ağırlığındadır. Özellikle tümöral faktörlerce neovaskülarizasyon için uyarılan aktive endotelial hücreleri işaretlemektedir (6, 60). Tümöral doku ve tümör çevresindeki damarları

belirlerken, olağan dokuda ise ekspresyonu zayıf ya da belirsizdir. Ayrıca tümördeki inflamatuvar ya da stromal hücreleri boyamadığından vasküler yapılar için yalancı pozitiflik oranını azaltmaktadır. Bu sebeple tümöral dokuda anjiogenez için diğer panendotelyal belirleyicilere göre daha spesifik ve sensitif olduğu öne sürülmektedir (59, 61). CD105 pozitif vasküler yapıların fazlalığında metastatik hastalık gelişme olasılığının arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (6 ).

CD105 ile Siklin A ve Ki-67 gibi proliferasyon belirleyicilerinin ekspresyon seviyeleri arasında korelasyon bulunmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı tedavide yararlanmak amacıyla anti-CD105 monoklonal antikor kullanımının endotelyal proliferasyonu inhibe etme yeteneği araştırılmaktadır (62).

### **ADEZYON KAYBI VE METASTAZ**

Kolorektal karsinomlu hastaların %90'ı primer tümörün metastatik yayılımı nedeniyle kaybedilmektedir. Dolayısıyla metastaz en önemli prognostik faktör olarak karşımıza çıkmaktadır.

Ayrılma, yani adezyonun kaybı metastaz gelişimindeki en önemli basamaktır. Metastatik hücrelerin adezyonu kusurludur. Bu sebeple yayılabilir ve vasküler yapıları aşabilirler. Ayrıca yerleştikleri dokularda proliferere olabilirler.

Normalde hücreler birbirleri ve ekstrasellüler matriks (ESM) ile yakın ilişkidirler. ESM, hücreleri çevrelemektedir. Fibröz yapısal proteinler, adeziv glikoproteinler, proteoglikanlar ve hiyalüronik asitten oluşmaktadır. Ek olarak büyüme faktörlerini içermektedir. Dolayısıyla ESM, hücre göçü ve farklılaşmasında etkilidir. ESM'deki hücre adezyon molekülleri immünglobulinler, integrinler, selektinler ve kaderinlerden ibarettir. Bu proteinler hücre membranında ya da sitoplazmasında yer alır. Hücreler arası ilişkiyi sağlarlar (5).

Adezyon moleküllerinden kaderinler, benzer hücreler arasındaki ilişkiyi sağlayan transmembran proteinlerdir. İntegrinler ise hücre-ESM ve hücre-hücre ilişkisinde etkilidir. Kaderinler ile birlikte aktin ve intermedier flamanlara bağlanırlar. Bu yolla hücre yüzeyi ve iskeletini birleştirirler. Kateninler ise bazı membran reseptörlerini ve adezyon moleküllerini hücre iskeletine bağlayan sitoplazmik proteinlerdir.

$\beta$ -catenin, E-cadherin'in sitoplazmik kısmına bağlanır ve bu yolla hücre adezyonunu güçlendirir (45). Öte yandan serbest  $\beta$ -catenin, kaderinlerden bağımsız olarak

hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonunu düzenleyen Wnt sinyal yolunun en önemli bileşenidir (63). Bu yolun aktivasyonunda  $\beta$ -catenin nükleusa geçerek transkripsiyon regülasyon proteinleri ile birleşir ve proliferasyonu uyarır (29,64).

E-cadherin ve  $\beta$ -catenin'in değişmiş ekspresyonları malignite gelişimi ve metastatik hastalık ile ilişkilendirilmektedir (65). E-cadherin'in azalmış ekspresyonunda adezyon kaybı ve invazyon artışı beklenmekteyken artmış  $\beta$ -catenin ekspresyonunda metastatik hastalık oranı artmaktadır (64).

### ***E-CADHERİN***

Adezyon moleküllerinin alt grubu olan kaderinler arasında yer alan glikoprotein yapısında bir transmembran proteinidir. 120 kDa ağırlığındadır (66). Geni 16. kromozomun kısa kolunda yer alır. Buradaki homozigot kayıplar bazı epitelyal tümörlerde saptanmıştır (67).

Doku dağılımına göre adlandırılan 10'dan fazla alt grubu vardır (66). Yapısal olarak benzerlik gösterirler. Tekrarlayan domainlerden oluşurlar. Kalsiyuma bağlanan hücre dışı N-ucu, kateninlerle bağlanan sitoplazmik kısım ve transmembran kısımdan oluşurlar (68).

E-cadherin, epitelyal hücreler arasındaki bağlantının işlevsel kısmını oluşturur (66). Epitelyal bütünlüğün korunmasında görev alan, kalsiyum bağımlı bir moleküldür (67). Benzer hücreler arasında adezyonu sağlamakla birlikte komşu hücreler arası haberleşmede de etkilidir (69). Ekspresyonunun azalması sonucunda sitoplazmik ucuna bağlı olan  $\beta$ -catenin serbestlenir (70).

Normal kolon epitelinde hücre membranında kuvvetle eksprese olur (66). KK'ların çoğunda ise membranöz ekspresyonu azalır (71). Buna karşı sitoplazmik ekspresyon çoğu KK'da mevcuttur (63). Ekspresyon farkı olağan işlevin kaybını, dolayısıyla adezyon azalmasını ya da yokluğunu işaret eder. Bu ise malign hücrelerin invazyonunu ya da primer tümörden ayrılarak metastazını kolaylaştırır.

Sonuçta E-cadherin ekspresyonunda azalma/değişiklik, metastaz yeteneği ve diferansiyasyon kaybı ile ilişkilidir (72). Dolayısıyla hastalığın prognozunu belirlemede ve sağ kalımın değerlendirilmesinde belirleyici olabilir. Ayrıca tedavinin kararlaştırılmasında da yararlanılmaya çalışılmaktadır.

### ***$\beta$ -CATENİN***

Kateninler, membran reseptörlerinin intrasellüler uçlarını ve adezyon moleküllerini hücre iskeletine bağlayan sitoplazmik proteinlerdir (66). Bu grupta yer alan  $\beta$ -

catenin 83-102 kDa ağırlığındadır. Normalde  $\beta$ -catenin hücre iskeletinin bir bileşenidir ve membranöz yerleşimli E-cadherin'in sitoplazmik ucuna bağlanır. Bu yolla hücreler arası bağlantıyı sağlamlaştırır (70,73).

Adezyondaki rolünün yanı sıra serbest  $\beta$ -catenin, kaderinlerden bağımsız olarak Wnt sinyal yolunun en önemli bileşenidir (63, 64). Wnt sinyal yolu hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonunu düzenler. Ayrıca aralarında KK'ların da bulunduğu değişik tümörlerin gelişimini başlatmada etkilidir (74). Bu yolun aktivasyonunda  $\beta$ -catenin nükleusa geçerek transkripsiyon regülasyon proteinleri ile birleşir ve proliferasyonu uyarır (29,64).

Wnt sinyal yolunun aktivasyonuna ait ipuçlarından biri nükleer  $\beta$ -catenin birikimidir. Normal hücrelerde membranöz  $\beta$ -catenin hızla fosforilize olur,  $\alpha$ -catenin ve E-cadherin'den ayrılarak sitoplazmaya geçer. Sitoplazmik  $\beta$ -catenin azalabilir ya da nükleusa geçebilir. Wnt stimülasyonunun yokluğunda axin, glikojen sentaz kinaz ve APC'den oluşan bir kompleks  $\beta$ -catenin'i fosforilize ederek azaltır. Karsinogenez sırasında ise Wnt yolundaki mutasyonlar bu azalmayı önler (74). Bağlı olarak sitoplazmada yerleşen molekül nükleusa geçerek transkripsiyon regülasyon proteinleri ile kompleks oluşturur (64). Burada Siklin D1 aracılığı ile proliferasyonu uyarır.

Normal epitelde  $\beta$ -catenin hücre membranında eksprese olur ve nükleer ekspresyon izlenmez (75). Tümörlerde ise membranöz, sitoplazmik ve nükleer ekspresyon izlenebilir. Nükleer ekspresyon artışı metastaz ve kötü prognoz ile ilişkilidir (63). Ayrıca diferansiyasyon kaybı, ileri evre ve lenf nodu metastazı ile ilişkilendirilmektedir (70).

## **MATERYAL-METOD**

Bu çalışmaya Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilimdalı'nda 2001-2008 yılları arasında kolorektal adenokarsinom tanısı alan 73 olgu dahil edildi.

### **Değerlendirme:**

Her olguya ait hematoksilen-eozin (HE) boyalı kesitler tekrar değerlendirildi. Tümör-olağan mukoza ilişkisini en iyi gösteren kesit ile ona ait parafin blok seçildi. Seçilen doku örneğine ait arşiv bloğu, Leica rotary mikrotomda 4 mikron kalınlığında kesildi ve HE ile boyandı. Boyalı preparatlar Olympus BX50 ışık mikroskopunda değerlendirildi. Yeniden değerlendirilen olgular orijinal raporları ile karşılaştırıldı.

Olgular yaş, cinsiyet, tümör çapı, lenf nodu metastazı, PNI, LVI, diferansiyasyon, TNM evresi, Astler-Coller evresi ve PTİ gibi prognostik faktörler açısından değerlendirildi.

Evreleme için Modifiye Astler-Coller ve TNM evreleme sistemleri kullanıldı. Tip ve histolojik grade için 1999 WHO sınıflaması dikkate alındı.

### **İmmünohistokimyasal Yöntem:**

İmmünohistokimyasal boyama Avidin-Biotin kompleks sistemi (ABC) kullanılarak yapıldı. İmmünohistokimyasal yöntem için bloklardan hazırlanan kesitler poly-L-lysin (MicroSlides Snowcoat X-tra, Surgipath, Richmond, IL, USA) kaplı lamlara alınarak oda ısısında bekletildi.

Seçilen kesitlere immünohistokimyasal CD31, CD105, VEGF, E-cadherin ve  $\beta$ -catenin boyaları uygulandı.

### **Kullanılan Antiserumlar:**

CD31: CD31/PECAM-1 (Endothelial Cell Marker) Ab-1 [JC/70A], Kod no: MS-353-R7, Fremont CA-USA, Thermo Scientific

CD105: CD105/Endoglin/TGF-beta 1/3 receptor Ab-3 [CloneSN6h], Kod no: MS-1290-R7, Fremont CA-USA, Thermo Scientific

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Ab-7 [Clone VG1], Kod no: MS-1467-P1, Fremont CA-USA, Thermo Scientific

E-cadherin: Cadherin E/E-Cadherin [SPM471], Kod no: MS-9470-P1, Fremont CA-USA, Thermo Scientific

$\beta$ -Catenin: Catenin-beta Ab-3 [17C2], Kod no: MS-1763-R7, , Fremont CA-USA, NeoMarker

Universal Kit: Super sensitive Link Label QP300-XAK, Biogenex 35

### **İmmünohistokimyasal Boyama:**

Poly-L-lysin kaplı lama alınan kesitler bir gece 37°C'lik etüvde bekletildi. Ardından 30 dakika (dk) 56°C'lik etüvde bulunan ksilolde ve 15 dk oda sıcaklığındaki ksilolde deparafinize edilen kesitler azalan oranlarda alkol serilerinde rehidrate edildi. Kesitler bu işlemde sonra önceden hazırlanmış olan pH: 7.2 olan phosphate buffered saline (PBS) solüsyonunda 5 dk bekletildi.

Ardından 5 dk boyunca endojen peroksidaz aktivitesini bloke eden %3'lük hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) damlatılarak bekletildi ve 5 dk boyunca PBS solüsyonunda yıkandı. VEGF, E-cadherin ve  $\beta$ -catenin ile işaretlenecek olan kesitler Sitrat Buffer (pH:6.0) solüsyon dolu kaplara; CD31 ile işaretlenecek olan kesitler ise EDTA (pH: 8.0) solüsyonu dolu kaplara yerleştirilerek mikrodalga fırında 750 watt'da 5 dk, 500 watt'da 2x5 dk süre ile inkübasyon işlemi uygulandı. Böylece antijenin açığa çıkması sağlandı. Bu işlemde sonra uygulanan kaynatmanın ardından kesitler oda ısısında soğumaya bırakıldı. Ancak CD105 ile işaretlenecek olan kesitler Trypsin damlatıldıktan sonra 37°C'lik etüvde 20 dk bekletilerek antijen açığa çıkartıldı ancak kaynatılmadı. Tüm kesitler soğumayı takiben 5 dk PBS solüsyonunda yıkandı ve kurulandı. E-cadherin ve VEGF 1/100 oranında dilüe edilirken, diğer antikorlar herhangi bir işleme tabi tutulmadı ve her bir kesitin üzerine primer antikor solüsyonu dokuyu tamamen örtecek şekilde damlatılarak 1 saat bekletildi. Bağlanmamış antikorlar 5 dk PBS solüsyonunda yıkanarak uzaklaştırıldı ve biotine bağlayıcı sekonder antikor (Spring Bioscience) eklenerek 10 dk bekletildi. Takiben kesitler 5 dk PBS solüsyonunda yıkanarak kurulandı. Kesitlere Streptavidin Peroksidaz solüsyonu (Spring Bioscience) damlatılarak 10 dk beklendi ve ardından tekrar 5 dk PBS solüsyonunda yıkandı. Renk verecek görüntüyü sağlamak amacı ile Diaminobenzidin tetraklorid (DAB, Spring Bioscience) damlatıldı ve kahverenk gözlenene kadar beklendi. Renk oluşunca çeşme suyunda 5 dk yıkandı ve zemin boyanması için kesitlere hematoksin ile zıt boyanma yapılarak ardından yine çeşme suyunda 5 dk yıkandı. Yıkama sonrası dehidratasyon için kesitler sırası ile yükselen oranlarda alkol serilerinden geçirildi ve ksilolde saydamlaştırma sonrası balsam ile kapatıldı.

### **İmmünreaktivitenin Değerlendirilmesi:**

Angiogenезin değerlendirilmesi amacıyla immünohistokimyasal olarak uygulanan CD31 ve CD105 boyalı kesitler değerlendirildi. Her iki belirleyici benzer şekilde

değerlendirildi. Bunun için ilk olarak Weidner tarafından tanımlanan ve son olarak uluslararası konsensus tarafından belirlenen intratümöral MDY'yi saptama metodu kullanıldı (6,76). Çevredeki tümöral alanlardan, vasküler yapılardan ve komşu bağ doku elemanlarından açıkça ayrılan, lümeni izlenen ve CD31-CD105 ile boyanan hücre toplulukları mikrodamar olarak kabul edildi (60). Tümöral alanlarda tariflenen şekilde izlenen mikrodamardan en yoğun alanlar olan “sıcak noktalar” işaretlendi. Bu noktaları belirlerken ayrıca nekroz ve inflamatuvar infiltratın bulunmamasına dikkat edildi. Çalışmamızda CD31 ve CD105 ile MDY hem intratümöral (İT) hem de tümörün en invaziv olduğu alandaki peritümöral (PT) dokuda saptandı. Değerlendirme için üç sıcak nokta belirlendi. Bu noktalar belirlenirken önce küçük büyütme (x40) kullanıldı. Ardından x200'lük büyütmede bu üç alandaki mikrodamarlar sayıldı. Son olarak ortalamaları alındı.

Angiogenezele ilişkili diğer belirleyici olan VEGF, yine immünohistokimyasal olarak boyanmış kesitlerde değerlendirildi. Boyanma yoğunluğu göz önüne alınarak negatif (0), zayıf (1+) ve kuvvetli boyanma (2+) şeklinde skorlandı. Hiç hücre boyanmamış ya da %20'den az hücrede zayıf boyanma var ise negatif boyanma olarak değerlendirildi. %20'den fazla hücrede zayıf boyanma varlığında 1+ ve %20'den fazla hücrede kuvvetli boyanma varlığında 2+ olarak değerlendirildi (59,60).

Adezyon molekülleri olan E-cadherin ve  $\beta$ -catenin ekspresyonları aynı hastanın normal epitelyal hücreleri ile tümör hücrelerindeki boyanma paterninin karşılaştırılması ile belirlendi. Buna göre normal epitelyal hücrelerdeki kuvvetli membranöz ve zayıf sitoplazmik boyanma, olağan boyanma paterni olarak kabul edildi. Membranöz boyanmada azalma ya da kayıp, sitoplazmik boyanmada artma ve nükleer boyanma varlığı anormal olarak kabul edildi (63,71). Çalışmamızda tümöral hücrelerde E-cadherin ve  $\beta$ -catenin boyanması membranöz, sitoplazmik ve nükleer boyanmalar şeklinde ayrı ayrı değerlendirildi. Sonuçlar normal (0) ve anormal (1) şeklinde skorlandı.

#### **İstatistiksel Analiz:**

İstatistiksel analizler PASW Statistics V18.0 paket programı ile yapıldı. Tanımlayıcı bulgular için sayım verilerinde (tümör çapı ve LN metastazı varlığı), yüzde dağılımları verildi. Ölçüm verilerinde (yaş, CD31 İT, CD31 PT, CD105 İT ve CD105 PT); ortalama ve standart sapma değerleri verildi. Anjiogenezin prognostik faktörlerle, adezyon moleküllerinin prognostik faktörlerle ve kendi aralarındaki ilişkiler Pearson korelasyon testi ile değerlendirildi. Korelasyon katsayısı olan r değerine göre aradaki ilişki zayıf ( $r = 0,00-$

0,24), orta ( $r = 0,24-0,49$ ), güçlü ( $r = 0,50-0,74$ ) ve çok güçlü ( $r = 0,75-1,00$ ) olarak değerlendirildi. Prognostik faktörler kendi aralarında ve immünohistokimyasal belirleyicilerle karşılaştırılırken sayım değerleri için Ki-kare testi, ölçüm değerleri için One-way ANOVA testi uygulandı. Fark saptanan gruplarda farkın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak için Bonferroni testi yapıldı. Tüm değerlendirmelerde “p” anlamlılık değeri %95 güven aralığında %5 hata payı ile 0,05 olarak alındı.

## BULGULAR

Bu çalışmaya Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilimdalı'nda 2001-2008 yılları arasında kolorektal adenokarsinom tanısı alan 73 olgu dahil edildi. Olgular yaş, cinsiyet, tümör çapı, lenf nodu metastazı, PNI, LVI, diferansiyasyon, TNM evresi, Astler-Coller evresi ve PTİ gibi prognostik faktörler açısından değerlendirildi. Ayrıca bu faktörlerin VEGF, CD31, CD105 ve E-cadherin ve  $\beta$ -catenin ile ilişkileri araştırıldı.

### Klinikopatolojik ve İmmünohistokimyasal Bulgular

•**Yaş:** Olguların yaşları 31 ile 99 arasında değişmekte olup ortalama yaş  $64,39 \pm 12,30$  olarak bulundu. Olguların 61'i (%83,57) 50 yaş ve üzerinde iken 12'si (%16,43) 50 yaş altında idi.

•**Cinsiyet:** Çalışmaya dahil edilen 73 olgudan 50'si (%68,5) erkek, 23'ü (%31,5) kadındı. Görülme oranı E / K=2,08 olarak hesaplandı.

Tablo XII: Olguların yaş açısından değerlendirilmesi.

| Cinsiyet | Yaş aralığı | 50 yaş ve üzeri | 50 yaş altı | Ortalama yaş |
|----------|-------------|-----------------|-------------|--------------|
| E        | 31-90       | 41              | 9           | 63,44        |
| K        | 42-99       | 20              | 3           | 66,47        |
| E ve K   | 31-99       | 61              | 12          | 64,39        |

•**Tümör çapı:** Tümör çapının en küçük değeri bir cm ve en büyük değeri 15 cm olup, ortalama çap  $5,52 \pm 2,58$  cm olarak bulundu.

•**Histolojik grade:** Tümörlerin 12'si (%16,4) iyi diferansiye, 54'ü (%74) orta derecede diferansiye, yedisi (%9,6) az diferansiye grupta idi. Az diferansiye tümörlerin beşi (%71,4) müsinöz adenokarsinom morfolojisinde idi.

Tablo XIII: AJCC evresine göre tümörlerin diferansiyasyon dağılımı.

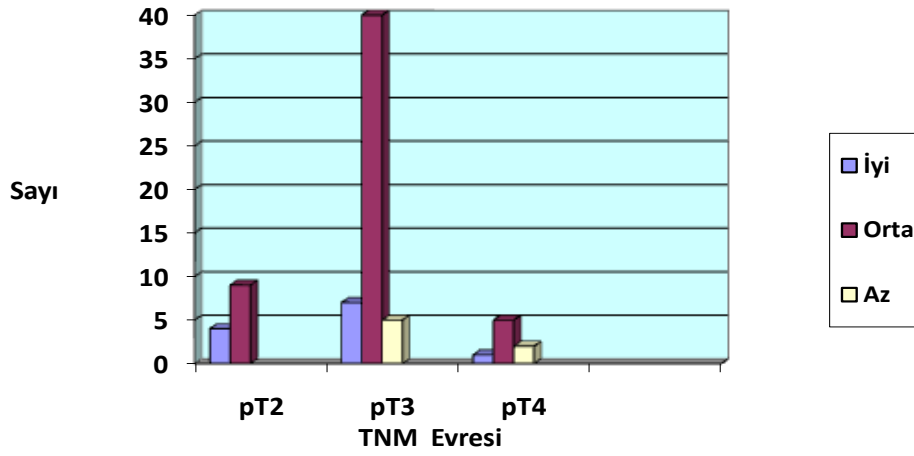
| AJCC Evre / Diferansiyasyon | İyi Diferansiye Tümör | Orta Derecede Diferansiye Tümör | Az Diferansiye Tümör | Toplam |
|-----------------------------|-----------------------|---------------------------------|----------------------|--------|
| pT2                         | 4 (%33,3)             | 9 (%16,7)                       | -                    | 13     |
| pT3                         | 7 (%58,4)             | 40 (%74)                        | 5 (%71,4)            | 52     |
| pT4                         | 1 (%8,3)              | 5 (%9,3)                        | 2 (%26,8)            | 8      |
| Toplam                      | 12 (%100)             | 54 (%100)                       | 7 (%100)             | 73     |

Tablo XIV: LVİ, PNİ ve PTİ'nin tümörlerin diferansiyasyon derecesine göre dağılımı.

|           | İyi Diferansiye Tümör | Orta Derecede Diferansiye Tümör | Az Diferansiye Tümör | Toplam    |
|-----------|-----------------------|---------------------------------|----------------------|-----------|
| LVİ       | 4 (%8,5)              | 39 (%83)                        | 4 (%8,5)             | 47 (%100) |
| PNİ       | 2 (%11,1)             | 15 (%83,3)                      | 1 (%5,6)             | 18 (%100) |
| PTİ       | 8 (%16,3)             | 39 (%79,6)                      | 2 (%4,1)             | 49 (%100) |
| LVİ + PNİ | 2 (%11,8)             | 14 (%82,3)                      | 1 (%5,9)             | 17 (%100) |

Oniki iyi diferansiye KK'nın üçünde (%25), 54 orta derecede diferansiye olgunun dokuzunda (%16,7) ve yedi az diferansiye olgunun üçünde (%42,8) dört ve üzeri LN tutulumu var idi.

•**AJCC, UICC Evreleme Sistemi (İnvazyon Derinliği):** Onüç olguda (%17,8) tümörün muskularis propriaya (pT2), 52 (%71,2) olguda subserozaya (pT3) ve sekiz olguda (%11) serozaya (pT4) invaze olduğu tesbit edildi.



Şekil 2: Tümör evresine göre diferansiyasyon dağılımı.

Beş müsinöz karsinomlu olgudan dördü (%80) subserozaya, biri (%20) seroza / komşu yapılara invaze idi. Uzak metastaz yapan iki tümörden biri subserozaya (pT3) ve diğeri serozaya / komşu yapılara (pT4) invaze idi.

Tablo XV: Evreye göre tümörün çapı.

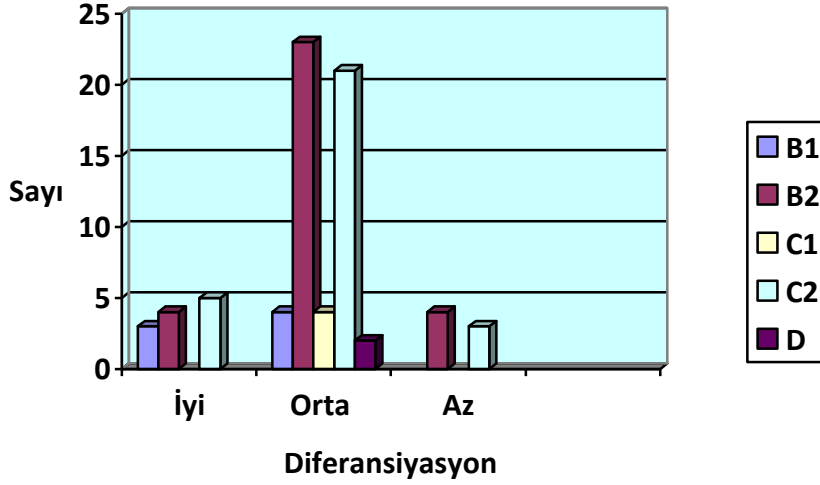
|     | Tümör çapı < 5 cm | Tümör çapı > 5 cm |
|-----|-------------------|-------------------|
| pT2 | 5 (%38,5)         | 8 (%61,5)         |
| pT3 | 21 (%40,4)        | 31 (%59,6)        |
| pT4 | 2 (%25)           | 6 (%75)           |

•**LVİ ve PNI:** Kırkyedi (%64,4) olguda LVİ, 18 (%24,7) olguda PNI gözlendi. Bu olgulardan 17'sinde LVİ ve PNI'nin her ikisi de mevcuttu.

•**Lenf Nodu Tutulumu:** Tutulan lenf nodu sayısı en az sıfır ve en çok 17 olup ortalama değer 1,98 idi. Olguların 34'ünde (%46,5) lenf nodu metastazı mevcut olup bu olgulardan 15'inde (%44,1) metastaz dört ve üzeri lenf nodunda idi.

•**PTİ:** Kırkdokuz olguda (%67,1) var iken 24 olguda (%3,9) saptanmadı.

• **MAC Evreleme Sistemi:** Olgulardan yedisi (%9,6) Evre B1, 31'i (%42,5) Evre B2, dördü (%5,5) Evre C1, 29'u (%39,7) Evre C2 ve ikisi (%2,7) Evre D olarak saptandı.



Şekil 3: MAC Evresine göre tümör diferansiyasyon derecesinin dağılımı.

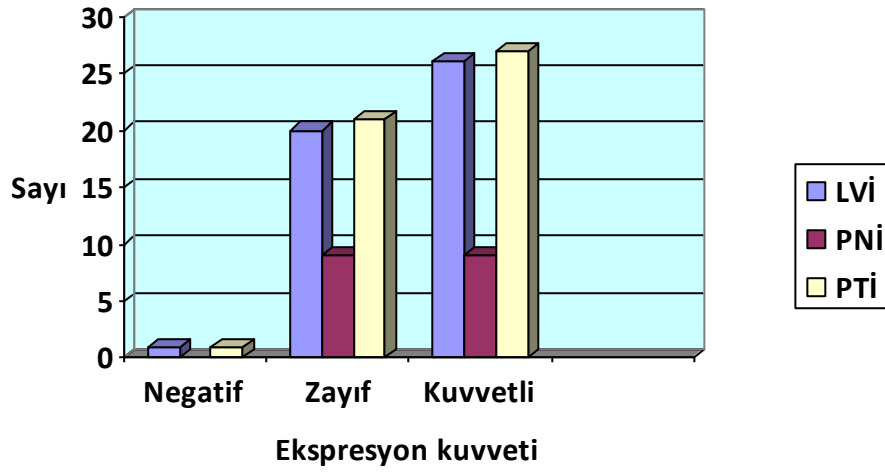
• **VEGF:** Olgulardan ikisi (%2,7) ile negatif, 31'i (%42,5) ile zayıf ve 40'ı (%54,8) ile de kuvvetli boyanma göstermekte idi.

Tablo XVI: Yaşa göre VEGF ekspresyon kuvveti.

|                 | Negatif VEGF | Zayıf VEGF | Kuvvetli VEGF | Toplam    |
|-----------------|--------------|------------|---------------|-----------|
| 50 yaş altı     | 1 (%8,3)     | 9 (%75)    | 2 (%16,7)     | 12 (%100) |
| 50 yaş ve üzeri | 1 (%1,6)     | 22 (%36,1) | 38 (%62,3)    | 61 (%100) |
| Toplam          | 2 (%2,7)     | 31 (%42,5) | 40 (%54,8)    | 73 (%100) |

VEGF ile negatif boyanan bir (%2,1), zayıf boyanan 20 (%42,6) ve güçlü boyanan 26 (%55,3) olguda LVİ izlendi. Ayrıca zayıf boyanan dokuz (%50) olguda ve güçlü boyanan dokuz (%50) olguda PNİ var idi.

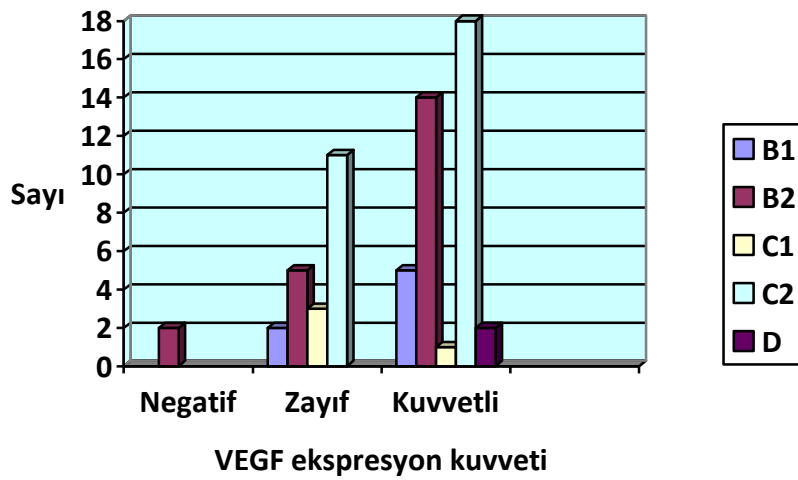
PTİ negatif boyanan bir olguda (%2), zayıf boyanan 21 (%42,9) olguda ve güçlü boyanan 27 (%55,1) olguda saptandı.



Şekil 4: VEGF ekspresyon kuvvetinin PNI, LVI ve PTI'ye göre dağılımı.

Tablo XVII: Ekspresyon kuvvetine göre LN tutulumu.

|                 | Negatif VEGF | Zayıf VEGF | Kuvvetli VEGF | Toplam    |
|-----------------|--------------|------------|---------------|-----------|
| LN tutulumu yok | 2 (%5,1)     | 17 (%43,6) | 20 (%51,3.)   | 39 (%100) |
| < 4 LN tutulumu | -            | 8 (%42,1)  | 11 (%57,9)    | 19 (%100) |
| ≥ 4 LN tutulumu | -            | 6 (%40)    | 9 (%60)       | 15 (%100) |
| Toplam          | 2 (%2,7)     | 31 (%42,5) | 40 (%54,8)    | 73 (%100) |



Şekil 5: VEGF ekspresyon kuvvetine göre MAC Evrelerinin dağılımı.

Tablo XVIII: Anormal E-cadherin boyanma paternlerine göre VEGF ekspresyon kuvveti.

| E-cadherin                  | Negatif VEGF | Zayıf VEGF | Kuvvetli VEGF | Toplam    |
|-----------------------------|--------------|------------|---------------|-----------|
| Anormal membranöz boyanma   | 2 (%3,2)     | 27 (%42,8) | 34 (%54)      | 63 (%100) |
| Anormal sitoplazmik boyanma | 1 (%2,2)     | 17 (%36,9) | 28 (%60,9)    | 46 (%100) |
| Anormal nükleer boyanma     | -            | 1 (%50)    | 1 (%50)       | 2 (%100)  |

Tablo XIX: Anormal  $\beta$ -catenin boyanma paternlerine göre VEGF ekspresyon kuvveti.

| $\beta$ -catenin            | Negatif VEGF | Zayıf VEGF | Kuvvetli VEGF | Toplam    |
|-----------------------------|--------------|------------|---------------|-----------|
| Anormal membranöz boyanma   | 2 (%3,4)     | 28 (%48,3) | 28 (%48,3)    | 58 (%100) |
| Anormal sitoplazmik boyanma | 1 (%1,7)     | 23 (%39,7) | 34 (%58,6)    | 58 (%100) |
| Anormal nükleer Boyanma     | 1 (%4,3)     | 10 (%43,5) | 12 (%52,2)    | 23 (%100) |

• **E.cadherin Boyanma Paterni:**

***Membranöz:***

Yetmişüç olgunun 63'ünde (%86,3) anormal membranöz boyanma izlendi. Bunların 36'sında (%57,1) anormal sitoplazmik boyanma ve ikisinde (%3,2) anormal nükleer boyanma eşlik etmekte idi.

MAC'a göre yedi Evre B1 olgunun tamamında, 31 Evre B2 olgunun 28'inde (%90,3), dört Evre C1 olgunun üçünde (%75), 29 Evre C2 olgunun 23'ünde (%79,3) ve iki Evre D olgunun tamamında anormal boyanma var idi.

TNM'ye göre 13 Evre II olgunun 12'sinde (%92,3), 52 Evre III olgunun 45'inde (%86,5), sekiz Evre IV olgunun altısında (%75) anormal boyanma gözlemlendi.

#### ***Sitoplazmik:***

Yetmişüç olgunun 46'sında (%63) anormal sitoplazmik boyanma izlendi. Bunların 36'sına (%78,3) anormal membranöz boyanma ve ikisine (%4,3) anormal nükleer boyanma eşlik etmekte idi.

MAC'a göre yedi Evre B1 olgunun beşinde (%71,4), 31 Evre B2 olgunun 18'inde (%58,1), dört Evre C1 olgunun üçünde (%75), 29 Evre C2 olgunun 20'sinde (%69) anormal boyanma varken Evre D olgularda boyanma saptanmadı.

#### ***Nükleer:***

Yetmişüç olgunun ikisinde (%2,73) anormal nükleer boyanma izlendi. Bunların her ikisine de anormal membranöz ve nükleer boyanma eşlik etmekte idi.

MAC'a göre 31 Evre B2 olgunun birinde (%3,2) ve 29 Evre C2 olgunun birinde (%3,4) anormal boyanma var idi. Diğer olgularda olağan boyanma paterni izlendi.

TNM'ye göre 52 Evre III olgunun birinde (%1,9) ve sekiz Evre IV olgunun birinde (%12,5) anormal boyanma gözlemlendi.

VEGF ile zayıf boyanan 31 olgunun birinde (%3,2) ve güçlü boyanan 40 olgunun birinde (%2,5) anormal boyanma var iken boyanmayan olgularda nükleer boyanma paterninde değişiklik yoktu.

Anormal nükleer boyanma olan her iki olgu  $\beta$ -catenin ile anormal membranöz boyanma gösterirken, bir olguda (%50) anormal sitoplazmik ve nükleer boyanma izlendi.

#### **• $\beta$ -catenin Boyanma Paterni:**

#### ***Membranöz:***

Yetmişüç olgunun 58'inde (%79,5) anormal membranöz boyanma izlendi. Bunların 43'üne (%74,1) anormal sitoplazmik boyanma ve 22'sine (%37,9) anormal nükleer boyanma eşlik etmekte idi.

MAC'a göre yedi Evre B1 olgunun dördünde (%57,1), 31 Evre B2 olgunun 25'inde (%80,6), dört Evre C1 olgunun ikisinde (%50), 29 Evre C2 olgunun 25'inde (%86,2) ve iki Evre D olgunun tamamında anormal boyanma var idi.

TNM'ye göre 13 Evre II olgunun sekizinde (%61,5), 52 Evre III olgunun 43'ünde (%82,7), sekiz Evre IV olgunun yedisinde (%87,5) anormal boyanma gözlemlendi.

***Sitoplazmik:***

Yetmişüç olgunun 58'inde (%79,5) anormal sitoplazmik boyanma izlendi. Bunların 43'üne (%74,1) anormal membranöz boyanma ve 22'sine de (%37,9) anormal nükleer boyanma eşlik etmekte idi.

MAC'a göre 7 Evre B1 olgunun beşinde (%71,4), 31 Evre B2 olgunun 25'inde (%80,6), dört Evre C1 olgunun tamamında, 29 Evre C2 olgunun 23'ünde (%79,3) ve iki Evre D olgunun birinde (%50) anormal boyanma var idi.

TNM'ye göre 13 Evre II olgunun 11'inde (%84,6), 52 Evre III olgunun 41'inde (%78,8) ve sekiz Evre IV olgunun altısında (%75) anormal boyanma gözlemlendi.

***Nükleer:***

Yetmişüç olgunun 23'ünde (%31,5) anormal nükleer boyanma izlendi. Bunların 22'sinde (%95,6) anormal membranöz ve sitoplazmik boyanma eşlik etmekte idi.

MAC'a göre yedi Evre B1 olgunun birinde (%14,3), 31 Evre B2 olgunun 13'ünde (%41,9), dört Evre C1 olgunun ikisinde (%50) , 29 Evre C2 olgunun altısında (%20,7) ve iki Evre D olgunun birinde (%50) anormal boyanma var idi.

TNM'ye göre 13 Evre II olgunun beşinde (%38,5), 52 Evre III olgunun 14'ünde (%26,9), sekiz Evre IV olgunun dördünde (%50) anormal boyanma gözlemlendi.

***•CD31:***

İmmünreaktivite intratümöral ve peritümöral dokuda değerlendirildiğinde ortalama MDY sırasıyla 26,57 ( $\pm 12,37$ ) ve 36,94 ( $\pm 13,27$ ) olarak bulundu.

***İnatratümöral MDY:***

- Erkeklerde 26,14 ( $\pm 12,44$ ) ve kadınlarda 27,52 ( $\pm 12,45$ );
- Elli yaş altında 27,07 ( $\pm 9,69$ ) ve 50 yaş üzerinde 26,46 ( $\pm 12,95$ );
- İyi diferansiye tümörlerde 23,83 ( $\pm 10,18$ ), orta derecede diferansiye tümörlerde 27,98 ( $\pm 13,10$ ) ve az diferansiye tümörlerde 20,24 ( $\pm 7,41$ );
- LN tutulumu dörtten az olduğunda 26,85 ( $\pm 13,03$ ), dört ve üzerinde olduğunda 24,80 ( $\pm 7,13$ );
- TNM'ye göre Evre II'de 25,53 ( $\pm 9,71$ ), Evre III'de 26,61 ( $\pm 11,62$ ) ve Evre IV'de 28,0 ( $\pm 20,61$ );

-MAC'a göre Evre B1'de 22,14 ( $\pm 10,63$ ), Evre B2'de 26,32 ( $\pm 12,27$ ), Evre C1'de 31,50 ( $\pm 5,74$ ), Evre C2'de 27,24 ( $\pm 13,96$ ) ve Evre D'de 26,50 ( $\pm 4,94$ );

-LVİ yokluğunda 29,15 ( $\pm 16,23$ ) ve varlığında 25,14 ( $\pm 9,52$ );

-PNİ yokluğunda 26,61 ( $\pm 13,16$ ) ve varlığında 26,44 ( $\pm 9,91$ );

-PTİ yokluğunda 23,87 ( $\pm 9,53$ ) ve varlığında 27,89 ( $\pm 13,44$ );

-VEGF ile boyanma yokluğunda 22,50 ( $\pm 7,77$ ), zayıf boyanmada 27,12 ( $\pm 11,79$ ) ve güçlü boyanmada 26,35 ( $\pm 13,15$ ) idi.

Tablo XX: E-cadherin boyanma paternine göre CD31 ile intratümöral MDY.

|                       | Membranöz boyanma     | Sitoplazmik boyanma   | Nükleer boyanma       |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Normal boyanmada MDY  | 26,20 ( $\pm 16,09$ ) | 25,44 ( $\pm 9,71$ )  | 26,52 ( $\pm 12,54$ ) |
| Anormal boyanmada MDY | 26,63 ( $\pm 11,84$ ) | 27,23 ( $\pm 13,76$ ) | 28,50 ( $\pm 2,12$ )  |

Tablo XXI:  $\beta$ -catenin boyanma paternine göre CD31 ile intratümöral MDY.

|                       | Membranöz boyanma     | Sitoplazmik boyanma   | Nükleer boyanma       |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Normal boyanmada MDY  | 30,80 ( $\pm 15,57$ ) | 25,06 ( $\pm 10,56$ ) | 26,14 ( $\pm 12,32$ ) |
| Anormal boyanmada MDY | 25,48 ( $\pm 11,31$ ) | 26,96 ( $\pm 12,85$ ) | 27,52 ( $\pm 12,71$ ) |

***Peritümöral MDY:***

-Erkeklerde 36,96 ( $\pm 14,69$ ) ve kadınlarda 36,91 ( $\pm 9,76$ );

-Elli yaş altında 38,30 ( $\pm 9,89$ ) ve 50 yaş üzerinde 36,65 ( $\pm 13,95$ );

-İyi diferansiye tümörlerde 36,91 ( $\pm 13,37$ ), orta derecede diferansiye tümörlerde 36,96 ( $\pm 13,99$ ) ve az diferansiye tümörlerde 36,85 ( $\pm 7,44$ );

-LN tutulumu dörtten az olduğunda 36,76 ( $\pm 14,16$ ), dört ve üzerinde olduğunda 38,10 ( $\pm 5,08$ );

-TNM'ye göre Evre II'de 37,07 ( $\pm 12,86$ ), Evre III'de 35,23 ( $\pm 11,35$ ) ve Evre IV'de 47,87 ( $\pm 20,76$ );

-MAC'a göre Evre B1'de 33,71 ( $\pm 14,44$ ), Evre B2'de 34,45 ( $\pm 8,75$ ), Evre C1'de 44,25 ( $\pm 9,28$ ), Evre C2'de 38,96 ( $\pm 17,01$ ) ve Evre D'de 43,00 ( $\pm 9,89$ );

-LVİ yokluğunda 40,50 ( $\pm 16,71$ ) ve varlığında 34,97 ( $\pm 10,62$ );

-PNİ yokluğunda 37,94 ( $\pm 14,17$ ) ve varlığında 33,88 ( $\pm 9,76$ );

-PTİ yokluğunda 36,04 ( $\pm 9,20$ ) ve varlığında 37,38 ( $\pm 14,93$ );

-VEGF ile boyanma yokluğunda 37,00 ( $\pm 1,41$ ), zayıf boyanmada 35,61 ( $\pm 9,37$ ) ve güçlü boyanmada 37,97 ( $\pm 15,97$ ) idi.

Tablo XXII: E-cadherin boyanma paternine göre CD31 ile peritümöral MDY.

|                       | Membranöz boyanma     | Sitoplazmik boyanma   | Nükleer boyanma       |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Normal boyanmada MDY  | 37,50 ( $\pm 13,10$ ) | 36,25 ( $\pm 11,58$ ) | 37,00 ( $\pm 13,32$ ) |
| Anormal boyanmada MDY | 36,85 ( $\pm 13,40$ ) | 37,34 ( $\pm 14,28$ ) | 35,00 ( $\pm 15,55$ ) |

Tablo XXIII:  $\beta$ -catenin boyanma paternine göre CD31 ile peritümöral MDY.

|                       | Membranöz boyanma     | Sitoplazmik boyanma   | Nükleer boyanma       |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Normal boyanmada MDY  | 39,93 ( $\pm 11,26$ ) | 34,53 ( $\pm 11,74$ ) | 35,84 ( $\pm 12,04$ ) |
| Anormal boyanmada MDY | 36,17 ( $\pm 13,72$ ) | 37,56 ( $\pm 13,66$ ) | 39,34 ( $\pm 15,65$ ) |

•**CD105:**

İmmünreaktivitesi intratümöral ve peritümöral dokuda değerlendirildiğinde ortalama MDY sırasıyla 11,54 ( $\pm 10,57$ ) ve 6,82 ( $\pm 6,14$ ) olarak bulundu.

***Intratümöral MDY:***

- Erkeklerde 11,68 ( $\pm 10,50$ ) ve kadınlarda 11,26 ( $\pm 10,94$ );
- Elli yaş altında 13,23 ( $\pm 12,03$ ) ve 50 yaş üzerinde 11,18 ( $\pm 10,30$ );
- İyi diferansiye tümörlerde 10,83 ( $\pm 9,77$ ), orta derecede diferansiye tümörlerde 11,50 ( $\pm 10,90$ ) ve az diferansiye tümörlerde 13,14 ( $\pm 10,55$ );
- LN tutulumu dörtten az olduğunda 11,17 ( $\pm 10,69$ ), dört ve üzerinde olduğunda 13,90 ( $\pm 9,96$ );
- TNM'ye göre Evre II'de 16,00 ( $\pm 12,60$ ), Evre III'de 10,90 ( $\pm 9,97$ ) ve Evre IV'de 8,50 ( $\pm 10,93$ );
- MAC'a göre Evre B1'de 9,00 ( $\pm 9,20$ ), Evre B2'de 12,19 ( $\pm 11,74$ ), Evre C1'de 16,25 ( $\pm 16,82$ ), Evre C2'de 10,51 ( $\pm 9,12$ ) ve Evre D'de 16,00 ( $\pm 0,00$ );
- LVİ yokluğunda 12,57 ( $\pm 10,83$ ) ve varlığında 10,97 ( $\pm 10,49$ );
- PNİ yokluğunda 11,49 ( $\pm 10,79$ ) ve varlığında 11,72 ( $\pm 10,13$ );
- PTİ yokluğunda 10,04 ( $\pm 10,54$ ) ve varlığında 12,28 ( $\pm 10,61$ );
- VEGF ile boyanma yokluğunda 14,00 ( $\pm 18,38$ ), zayıf boyanmada 13,16 ( $\pm 11,61$ ) ve güçlü boyanmada 10,17 ( $\pm 9,46$ ) idi.

Tablo XXIV: E-cadherin boyanma paternine göre CD105 ile intratümöral MDY.

|                       | Membranöz boyanma     | Sitoplazmik boyanma   | Nükleer boyanma       |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Normal boyanmada MDY  | 13,80 ( $\pm 12,83$ ) | 10,88 ( $\pm 9,60$ )  | 11,47 ( $\pm 10,57$ ) |
| Anormal boyanmada MDY | 11,19 ( $\pm 10,24$ ) | 11,93 ( $\pm 11,18$ ) | 14,00 ( $\pm 14,14$ ) |

TabloXXV:  $\beta$ -catenin boyanma paternine göre CD31 ile intratümöral MDY.

|                       | Membranöz boyanma     | Sitoplazmik boyanma   | Nükleer boyanma       |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Normal boyanmada MDY  | 10,66 ( $\pm 10,79$ ) | 12,66 ( $\pm 10,30$ ) | 11,26 ( $\pm 9,65$ )  |
| Anormal boyanmada MDY | 11,77 ( $\pm 10,59$ ) | 11,25 ( $\pm 10,70$ ) | 12,17 ( $\pm 12,54$ ) |

***Peritümöral MDY:***

- Erkeklerde 7,18 ( $\pm 6,65$ ) ve kadınlarda 6,04 ( $\pm 4,88$ );
- Elli yaş altında 7,00 ( $\pm 6,39$ ) ve 50 yaş üzerinde 6,78 ( $\pm 6,13$ );
- İyi diferansiye tümörlerde 5,75 ( $\pm 6,26$ ), orta derecede diferansiye tümörlerde 6,74 ( $\pm 5,52$ ) ve az diferansiye tümörlerde 9,28 ( $\pm 10,04$ );
- LN tutulumu dörtten az olduğunda 6,93 ( $\pm 6,21$ ), dört ve üzerinde olduğunda 6,10 ( $\pm 5,91$ );
- TNM'ye göre Evre II'de 10,38 ( $\pm 8,85$ ), Evre III'de 5,61 ( $\pm 3,60$ ) ve Evre IV'de 8,87 ( $\pm 10,93$ );
- MAC'a göre Evre B1'de 4,57 ( $\pm 2,57$ ), Evre B2'de 7,64 ( $\pm 7,25$ ), Evre C1'de 11,25 ( $\pm 10,90$ ), Evre C2'de 5,68 ( $\pm 4,38$ ) ve Evre D'de 9,50 ( $\pm 3,53$ );
- LVİ yokluğunda 8,26 ( $\pm 7,61$ ) ve varlığında 6,02 ( $\pm 5,06$ );
- PNİ yokluğunda 6,85 ( $\pm 6,48$ ) ve varlığında 6,72 ( $\pm 5,09$ );
- PTİ yokluğunda 6,79 ( $\pm 6,27$ ) ve varlığında 6,83 ( $\pm 6,13$ );
- VEGF ile boyanma yokluğunda 5,00 ( $\pm 2,82$ ), zayıf boyanmada 7,48 ( $\pm 6,68$ ) ve güçlü boyanmada 6,40 ( $\pm 5,85$ ) idi.

Tablo XXVI: E-cadherin boyanma paternine göre CD105 ile peritümöral MDY.

|                       | Membranöz boyanma     | Sitoplazmik boyanma | Nükleer boyanma     |
|-----------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|
| Normal boyanmada MDY  | 11,00 ( $\pm 10,27$ ) | 5,96 ( $\pm 3,85$ ) | 6,91 ( $\pm 6,18$ ) |
| Anormal boyanmada MDY | 6,15 ( $\pm 5,01$ )   | 7,32 ( $\pm 7,14$ ) | 3,50 ( $\pm 3,53$ ) |

Tablo XXVII:  $\beta$ -catenin boyanma paternine göre CD105 ile peritümöral MDY.

|                       | Membranöz boyanma   | Sitoplazmik boyanma | Nükleer boyanma     |
|-----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Normal boyanmada MDY  | 8,73 ( $\pm 8,74$ ) | 6,40 ( $\pm 5,44$ ) | 6,62 ( $\pm 6,15$ ) |
| Anormal boyanmada MDY | 6,32 ( $\pm 5,25$ ) | 6,93 ( $\pm 6,34$ ) | 7,26 ( $\pm 6,23$ ) |

#### İstatistiksel Bulgular:

•Yaş ile TNM evresi ( $p=0,005$ ) ( $r=-0,327$ ), anormal membranöz  $\beta$ -catenin boyanması ( $p=0,012$ ) ( $r=-0,291$ ) ve E-cadherinle nükleer boyanma ( $p=0,016$ ) ( $r=-0,280$ ) arasında negatif yönde orta düzeyde korelasyon saptanmıştır. Öte yandan yaş ile  $\beta$ -catenin nükleer boyanma ( $p=0,044$ ) ( $r=-0,237$ ) arasında negatif yönde zayıf düzeyde korelasyon bulunmuştur. Buna karşın yaş ile VEGF boyanma yoğunluğu arasında ( $p=0,002$ ) ( $r=0,349$ ) pozitif yönde orta düzeyde korelasyon saptanmıştır.

•Tümör çapı ile diferansiyasyonda azalma ( $p=0,034$ ) ( $r=0,249$ ) arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon saptanmıştır.

•Diferansiyasyon ile TNM evresi ( $p=0,043$ ) ( $r=0,237$ ) arasında pozitif yönde zayıf düzeyde ve tümör çapı ( $p=0,034$ ) ( $r=0,249$ ) ile arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon

saptanmıştır. Diferansiyasyon ile  $\beta$ -catenin sitoplazmik boyanma artışı ( $p=0,04$ ) ( $r=-0,337$ ) arasında negatif yönde orta düzeyde korelasyon bulunmuştur.

- TNM evresi ile yaş ( $p=0,05$ ) ( $r=-0,327$ ) ve PTİ ( $p=0,030$ ) ( $r=-0,255$ ) arasında negatif yönde orta düzeyde korelasyon saptanmıştır. Öte yandan TNM evresi ile diferansiyasyon ( $p=0,043$ ) ( $r=0,237$ ) arasında zayıf düzeyde ve MAC evresi ( $p=0,000$ ) ( $r=0,435$ ) arasında orta düzeyde pozitif yönde korelasyon saptanmıştır.

- MAC evresi ile TNM evresi ( $p=0,00$ ) ( $r=0,435$ ), LN tutulumu ( $p=0,00$ ) ( $r=0,545$ ), LVİ ( $p=0,001$ ) ( $r=0,371$ ) ve PNİ ( $p=0,032$ ) ( $r=0,251$ ) arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon bulunmuştur.

- LVİ ile LN tutulumu ( $p=0,016$ ) ( $r=0,282$ ), PNİ ( $p=0,02$ ) ( $r=0,359$ ) ve MAC evresi ( $p=0,01$ ) ( $r=0,371$ ) arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon bulunmuştur.

- PNİ ile LVİ ( $p=0,002$ ) ( $r=0,359$ ) ve MAC evresi ( $p=0,032$ ) ( $r=0,251$ ) arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon bulunmuştur.

- LN tutulumu ile MAC evresi ( $p=0,00$ ) ( $r=0,545$ ) arasında pozitif yönde güçlü ve LVİ ( $p=0,016$ ) ( $r=0,282$ ) arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon bulunmuştur.  $\beta$ -catenin sitoplazmik boyanma artışı ( $p=0,016$ ) ( $r=-0,282$ ) arasında ise negatif yönde orta düzeyde korelasyon saptanmıştır.

- PTİ ile TNM evresi ( $p=0,03$ ) ( $r=-0,255$ ) arasında negatif yönde orta düzeyde korelasyon saptanmıştır.

- VEGF ile yaş ( $p=0,002$ ) ( $r=0,349$ ) arasında pozitif yönde orta düzeyde ve  $\beta$ -cateninle membranöz boyanmada azalma ( $p=0,028$ ) ( $r=-0,258$ ) arasında negatif yönde orta düzeyde korelasyon bulunmuştur.

- E-cadherin Boyanma Paterni:

- Anormal membranöz boyanma ile peritümöral CD105 MDY ( $p=0,019$ ) ( $r=-0,273$ ) ve E-cadherinle anormal sitoplazmik boyanma ( $p=0,009$ ) ( $r=-0,305$ ) arasında negatif yönde orta düzeyde korelasyon saptanmıştır.

- Anormal sitoplazmik boyanma ile anormal membranöz E-cadherin ( $p=0,009$ ) ( $r=-0,305$ ) ve  $\beta$ -catenin ( $p=0,006$ ) ( $r=-0,319$ ) boyanmaları arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon bulunmuştur. Ayrıca  $\beta$ -cateninle anormal sitoplazmik boyanma ( $p=0,039$ ) ( $r=0,242$ ) ile arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon bulunmuştur.

- Nükleer boyanma varlığı ile yaş ( $p=0,016$ ) ( $r=-0,280$ ) arasında negatif yönde orta düzeyde korelasyon saptanmıştır.

- $\beta$ -catenin Boyanma Paterni:

-Anormal membranöz boyanma ile yaş ( $p=0,012$ ) ( $r=-0,291$ ), VEGF ( $p=0,028$ ) ( $r=-0,258$ ), anormal sitoplazmik E-cadherin ( $p=0,006$ ) ( $r=-0,319$ ) ve anormal sitoplazmik  $\beta$ -catenin ( $p=0,027$ ) ( $r=-0,259$ ) boyanmaları arasında negatif yönde orta düzeyde korelasyon bulunmuştur. Ayrıca  $\beta$ -catenin anormal membranöz boyanması ile nükleer boyanma varlığı ( $p=0,02$ ) ( $r=0,272$ ) ile arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon saptanmıştır.

-Anormal sitoplazmik boyanma ile anormal E-cadherin sitoplazmik boyanma ( $p=0,039$ ) ( $r=0,242$ ) ve  $\beta$ -cateninle nükleer boyanma ( $p=0,02$ ) ( $r=0,272$ ) arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon saptanmıştır. Öte yandan anormal  $\beta$ -catenin membranöz boyanma ( $p=0,027$ ) ( $r=-0,259$ ), LN tutulumu ( $p=0,016$ ) ( $r=-0,282$ ) ve diferansiyasyon ( $p=0,004$ ) ( $r=-0,337$ ) ile arasında negatif yönde orta düzeyde korelasyon bulunmuştur.

-Nükleer boyanma ile yaş ( $p=0,044$ ) ( $r=-0,237$ ) arasında negatif;  $\beta$ -cateninle anormal sitoplazmik boyanma ( $p=0,020$ ) ( $r=0,272$ ) ve anormal membranöz boyanma ( $p=0,020$ ) ( $r=0,272$ ) arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon bulunmuştur.

- CD31

-İntratümöral MDY ve peritümöral CD31 MDY ( $p=0,00$ ) ( $r=0,688$ ) arasında güçlü, intratümöral CD105 MDY ( $p=0,035$ ) ( $r=0,247$ ) ile arasında orta düzeyde ve pozitif yönde korelasyon saptanmıştır.

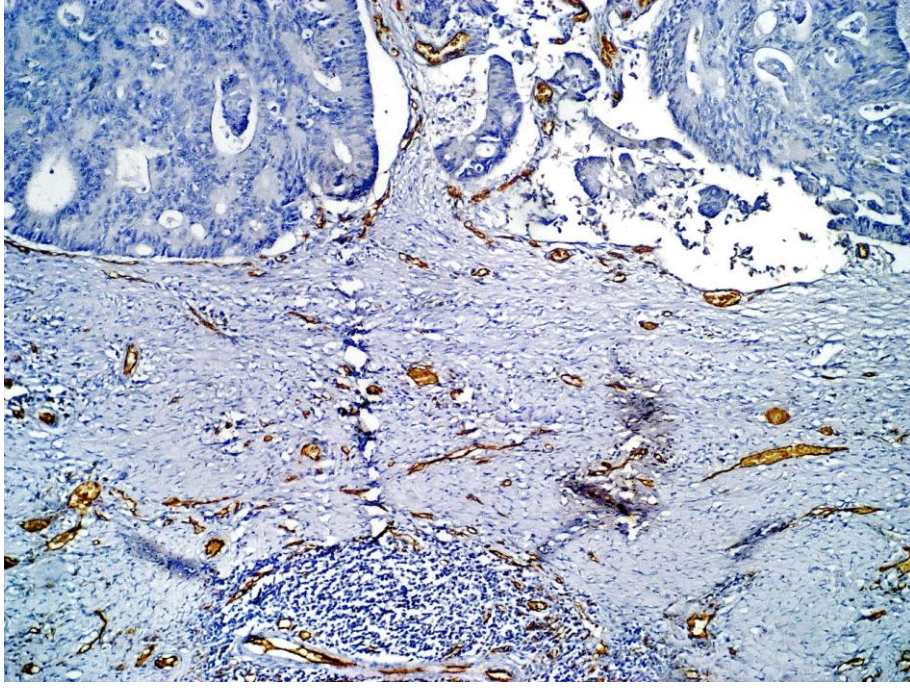
-Peritümöral ve intratümöral CD31 MDY ( $p=0,00$ ) ( $r=0,688$ ) arasında pozitif yönde güçlü korelasyon bulunmuştur.

- CD105

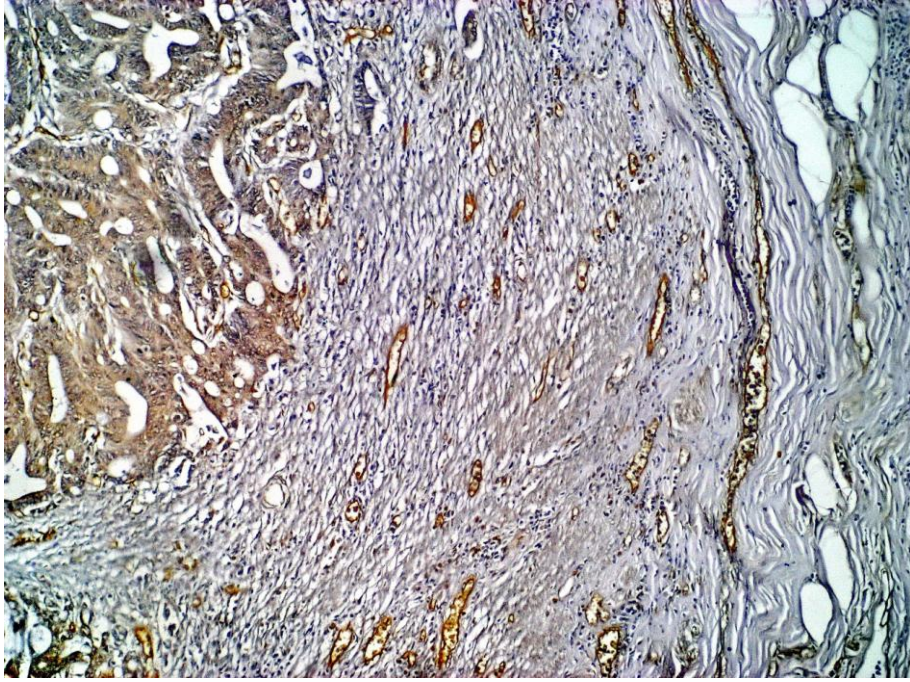
-İntratümöral MDY ile intratümöral CD31 MDY ( $p=0,035$ ) ( $r=0,247$ ) arasında pozitif yönde orta düzeyde ve peritümöral CD105 MDY ( $p=0,00$ ) ( $r=0,698$ ) ile arasında pozitif yönde güçlü korelasyon bulunmuştur.

-Peritümöral ve intratümöral CD105 MDY ( $p=0,00$ ) ( $r=0,698$ ) arasında pozitif yönde güçlü korelasyon bulunmuştur. Ayrıca E-cadherin ile anormal membranöz boyanma ( $p=0,009$ ) ( $r=-0,273$ ) arasında negatif yönde orta düzeyde korelasyon saptanmıştır.

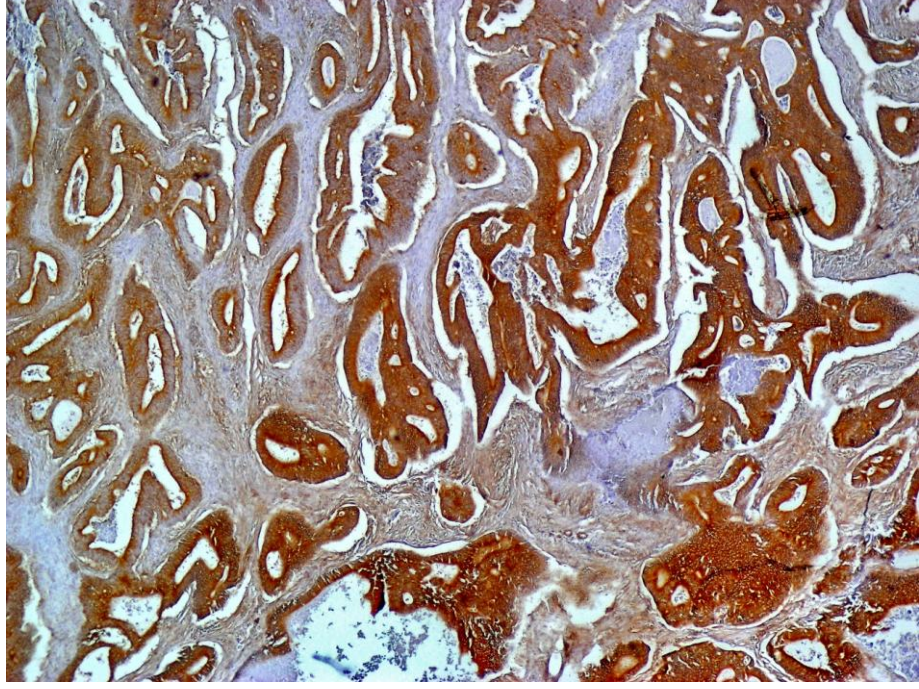
## RESİMLER



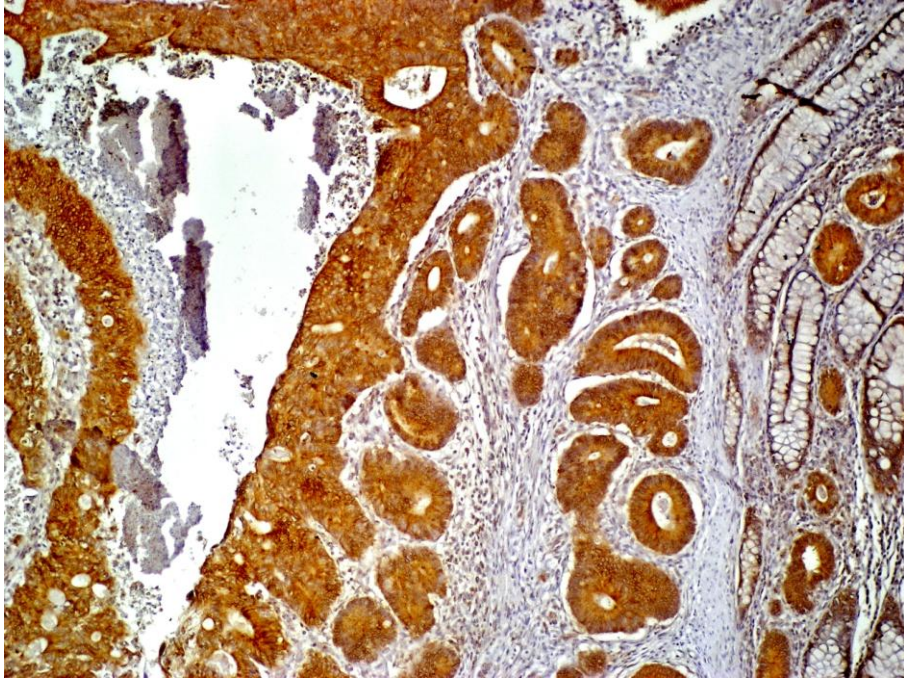
Resim 1: Peritümöral dokuda CD31 ile boyanan damar yapıları (x100).



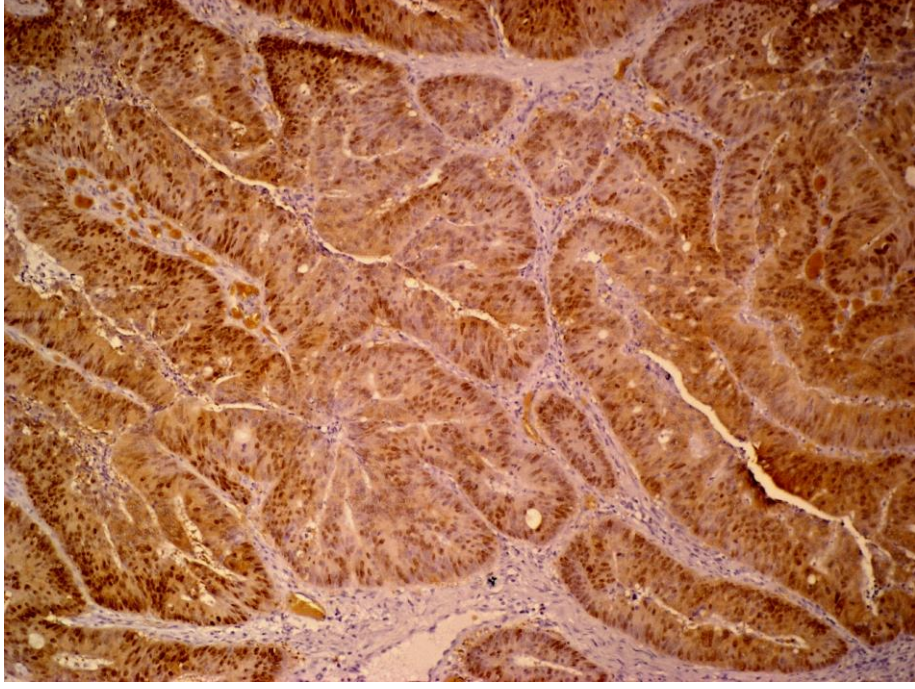
Resim 2: Peritümöral dokuda CD105 ile boyanan damar yapıları (x100).



Resim 3: Tümör hücrelerinde sitoplazmik VEGF boyanması (x50).



Resim 4: Tümör-olağan mukoza bileşkesinde E-cadherin boyanma paterni (x100).



Resim 5: Tümör hücrelerinde nükleer ve zayıf sitoplazmik  $\beta$ -catenin boyanması (x100).

## TARTIŞMA

Kolorektal karsinomlar özellikle gelişmiş ülkelerde en sık görülen tümörlerdendir. İnsidansları coğrafi değişiklikler göstermekte olup batılı ülkelerde ve Amerika Birleşik Devletleri'nde daha yüksek, Asya'da daha düşüktür. Dünya genelinde akciğer, prostat ve meme karsinomlarından sonra her iki cinsiyette de üçüncü sıklıkta görülen malignitedir. Sağlık Bakanlığı verilerine göre ülkemizde altıncı sıradadır ve sıklıkları giderek artmaktadır. (1,2,13). Mortalite oranları yüksek olan KK'lar yeni kanser olgularının %8,5'ni oluşturmaktadır ve dünya genelinde kansere bağlı ölümlerin %10'una neden olmaktadır (1).

Kanser araştırmalarına ve yeni tedavilere oldukça fazla emek harcanmasına rağmen prognoz iyileşmemektedir. Bunun başlıca nedeni metastatik hastalık gelişimidir. Nüks ve metastaz oranı evre ile birlikte artmaktadır. Dolayısıyla insidansın ve hastalığa bağlı ölüm oranının yüksek olması sebebiyle bu konuda yapılan çalışmaların sayısı ve önemi gittikçe artmaktadır. Tüm bu çalışmalar içinde en sık işlenen konular prognozla ilişkilidir. En etkin tedavi yöntemi cerrahi rezeksiyon olan KK'lı olgularda evre hala en önemli prognostik parametre olarak kabul edilmektedir. İleri evre hastalıkta yaygın olarak kullanılan KT'nin lokalize hastalık tedavisindeki yeri tartışmalıdır. Çünkü bu evrelerde adjuvan KT zaten yüksek olan yan etkilere yol açmanın dışında nüks, metastaz ya da ölüm oranını anlamlı olarak değiştirmemektedir. Bu yüzden özellikle lokalize hastalıkta adjuvan KT'den yarar görecektir. Olguları belirlemede evre dışındaki yeni prognostik parametreler araştırılmaktadır. Böylece prognozu ve tedaviyi etkileyecek yeni faktörlerin aydınlatılması amaçlanmaktadır.

Prognostik faktörleri aydınlatmak amacı ile çalışmamızda yaş ve cinsiyet gibi demografik veriler ile bazı histopatolojik parametreler değerlendirilmiştir. Ayrıca tüm bu parametrelerin karsinogenezin önemli bileşeni olan anjiogenez ile ve adezyon kaybı ile ilişkisi araştırılmıştır.

KK'ların görülme sıklığı yaşla birlikte artmaktadır. Ortalama görülme yaşı 62'dir. Ancak genetik zemin ya da kronik inflamatuvar bir hastalık var ise 40 yaş altında da görülebilir (1,2,11). Çok düşük ve çok yüksek yaşlarda prognoz kötüleşmektedir. Düşük yaş grubunda prognozun kötü olması tanıda gecikmeye, ileri evrede tanı almaya ya da daha sık inflamatuvar barsak hastalığı ve müsinöz tipte karsinom görülmesine bağlı olabilir (3). Olgularımızda en düşük yaş 31, en yüksek yaş 99 ve ortalama yaş 64,9 idi. Olguların 62'si (%84,9) 50 yaş ve üzerinde idi. Bizim çalışmamızda yaş azaldıkça TNM evresi,  $\beta$ -catenin ve E-cadherin ile nükleer boyanma oranı artmış olup  $\beta$ -catenin ile membranöz boyanma oranı azalmıştır. Bu

veriler yaşın azalmasıyla prognozun kötüleşeceğine dair bilgilerle uyumludur. Ayrıca alışmamızda yaş ile birlikte VEGF boyanma yoğunluğu artmaktadır. Bu veri ileri yaşta anjiogenezin artması ve bağlı olarak prognozun kötü olacağına dair bilgilere uymaktadır.

Kolorektal karsinomlar kadın ve erkeklerde hemen hemen eşit olarak gözlenmektedir (1,2). Ancak alışmamızda erkek / kadın oranı 2,08 idi. Çalışmamızda cinsiyet ile herhangi bir parametre arasında korelasyon bulunmadı.

Tümör boyutu ile prognoz arasında korelasyon olmasına rağmen, güvenilir bir prognostik parametre olmasını engelleyecek çok sayıda istisna vardır. Tümör boyutu ve lenf nodu metastazı arasında da benzer şekilde zayıf bir ilişki bulunmaktadır (3). Tümör boyutu derinlik ile ilişkilidir ancak bu ilişki prognostik açıdan önemli değildir (11, 41). Takebayashi ve arkadaşlarının çalışmasında MDY ile aralarında tümör boyutunun da bulunduğu klinikopatolojik parametreler karşılaştırılmış; tümör boyutu ve MDY, dolayısıyla anjiogenez arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Bu bulgu tümör boyutunda artışın kötü prognoz göstergesi olduğunu göstermektedir (52). Çalışmamızda tümör boyutu ile diferansiyasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif yönde korelasyon saptandı. Buna göre boyut arttıkça diferansiyasyon azalmakta idi. Bu sonuç az diferansiye tümörlerin daha agresif olduklarını işaret eden literatürdeki verilerle uyumludur.

Kolorektal karsinomlarda yüksek dereceli (az diferansiye ve undiferansiye) tümörlerin prognozu, düşük dereceli (iyi ve orta derecede diferansiye) tümörlere göre daha kötüdür. Histolojik derece (diferansiyasyon) pek çok çalışmada evreden bağımsız prognostik bir faktör olarak kabul edilmiştir (41). Compton ve arkadaşları çok değişkenli analizlerle histolojik derecelemenin bağımsız bir prognostik faktör olduğunu saptamışlardır. Ayrıca yüksek ve düşük dereceli şeklinde iki basamaklı değerlendirme, prognozu tahmin etmede daha değerli bulunmuştur (77). Takahashi ve arkadaşlarının 158 olguluk çalışmasında Duke's Evre C olan KK'lı olgular incelenmiştir. Bu olguların LN metastazlarının diferansiyasyon derecesi, primer lezyonun diferansiyasyon derecesi ile birlikte ele alınarak beklenen yaşam süresi irdelenmiştir. İstatistiksel analizler sonucunda iyi diferansiye primer lezyon varlığında metastaz da iyi diferansiye ise beklenen yaşam süresi anlamlı olarak daha uzun bulunmuştur (78). Bizim çalışmamıza dahil edilen tümörlerin 12'si (%16,4) iyi diferansiye, 54'ü (%74) orta derecede diferansiye ve yedisi (%9,6) az diferansiye olup az diferansiye tümörlerin beşi (%71,4) müsinöz adenokarsinom morfolojisinde idi. Çalışmamızda diferansiyasyonda azalma ile TNM evresi arasında pozitif ve  $\beta$ -catenin sitoplazmik boyanma artışı ile arasında negatif

yönde anlamlı korelasyon bulundu. Buna göre diferansiyasyon azaldıkça TNM evresi artmaktadır ki bu beklenen bir sonuçtur. Ancak farklı olarak diferansiyasyon azaldıkça  $\beta$ -catenin ile sitoplazmik boyanma azalmakta idi. Buna karşın istatistiksel olarak anlamlı olmasa da diferansiyasyon azaldıkça hem E-cadherin hem de  $\beta$ -catenin ile membranöz boyanma azalmakta, ayrıca E-cadherin ile nükleer boyanma artmakta idi.  $\beta$ -catenin ile nükleer boyanma, orta derecede diferansiye tümörlerde daha yüksektir. Bu verilerden yola çıkarak diferansiyasyon kaybı söz konusu olduğunda  $\beta$ -catenin açısından bütünsel bir ilişki saptanmamış olsa da, E-cadherin boyanma paternindeki değişikliklerin karsinogeneizde beklenenlerle benzer olduğu düşünülmektedir.

Polimorfonükleer lökositler (özellikle eozinofiller), lenfosit, plazma ve mast hücreleri ile histiyositleri içeren PTİ'nin varlığı konağın invaziv maligniteye yanıtını göstermektedir. Çoğu çalışmada PTİ iyi prognoz göstergesi olarak kabul edilmektedir (1, 11, 41). Tataroğlu ve arkadaşlarının yaptığı 75 vakalık bir çalışmada invazyon derinliği ile LN durumunun anjiogenez ve PTİ ile ilişkisi araştırılmıştır. Peritümöral infiltrasyon içinde yer alan makrofaj, eozinofil lökosit ve naturel killer (NK) hücreleri değerlendirilerek anjiogenez arttıkça peritümöral makrofaj ve NK hücrelerinin sayısının da arttığı; makrofaj artışı ile anjiogenez arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (45).

Tozawa ve arkadaşlarının 76 olguluk çalışmasında ise değişik oranlarda müsin komponenti içeren ilerlemiş KK'larda müsin ekspresyonu, p53 overekspresyonu ve PTİ ilişkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda azalmış PTİ'nin müsinöz karsinomun karakteristik bir bulgusu olarak kalmayıp, müsinöz komponenti bulunan karsinomlarda da sık izlendiği vurgulanmıştır (46).

Bizim çalışmamız ise PTİ ve TNM evresi arasında istatistiksel açıdan anlamlı ve negatif yönde korelasyon saptandı. Buna göre PTİ arttıkça en önemli prognostik parametre olan TNM evresi azalmaktaydı. Dolayısıyla PTİ'nin prognozu olumlu yönde etkilediği düşünüldü.

Perinöral invazyon genellikle ilerlemiş hastalık ve infiltratif büyüme göstergesidir. Lokal rekürrens, metastatik yayılım ve azalmış sağ kalım ile ilişkili olup diğer kötü prognostik parametrelerle birlikte olma eğilimindedir. Compton ve arkadaşlarının çalışmasında PNİ, infiltratif tümör sınırlarını belirlemede güvenilir bir kriter olarak kullanılmıştır. Ayrıca kötü prognoz açısından bağımsız bir faktör olduğu düşünülmüştür (77). Fujita ve arkadaşlarının 341 olgu ile gerçekleştirdikleri bir çalışmada ise LN durumu,

invazyon derinliği ve PNİ prognostik açıdan önemli faktörler olarak saptanmıştır. Ayrıca evre II ve III olgularda PNİ varlığında yaşam süresinin anlamlı olarak kısaldığı dikkati çekmiştir. Sonuçta PNİ varlığının adjuvan KT adaylarını belirlemede kullanılabileceğini ve raporlanması gerektiğini vurgulamışlardır (79). Son olarak TNM evreleme sisteminde 2009 yılında bazı düzenlemeler yapılmıştır. Buna göre PNİ başka bir temel kategori olarak kabul görmüş ve sınıflamaya dahil edilmiştir.

Çalışmamızda 18 (%24,7) olguda PNİ varlığı saptandı. İstatistiksel analizlerde PNİ ile LVİ ve MAC evresi arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptandı. Buna göre PNİ arttıkça, LVİ oranı ve MAC evresi artmakta idi. Her iki sonuç da PNİ'nin kötü prognoz göstergesi olduğunu düşündürmekte ve prognozla ilişkili literatür bilgilerini desteklemekte idi.

Lenfatik invazyon venöz tutulumdan daha az önemli olmakla birlikte özellikle ilerlemiş hastalıkta olumsuz prognostik bir faktördür. Ayrıca LVİ nodal tutulum varlığı ve sayısı ile orantılı bağımsız bir faktör olup azalmış sağ kalım göstergesidir (11). Takebayashi ve arkadaşları 166 olgu ile gerçekleştirdikleri bir çalışmada MDY'yi değerlendirerek anjiogenezin klinikopatolojik parametreler ve prognozla ilişkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonunda LVİ oranı daha yüksek olan olgularda MDY de daha yüksek bulunmuştur. Bu veriye dayanarak LVİ kötü prognoz ile ilişkilendirmiştir (52). Saad ve arkadaşlarının 150 olguyu kapsayan çalışmasında KK'da CD105 ve VEGF ekspresyonu olası prognostik belirleyiciler olarak incelenmiştir. Sonuçta CD31, CD105 ve VEGF ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon ve LN metastazı arasında olumlu yönde anlamlı ilişki bulunmuştur (60). Bizim çalışmamızda 47 (%64,4) olguda LVİ saptandı. İstatistiksel olarak LVİ ile LN tutulumu, PNİ ve MAC evresi arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon bulundu. Elde edilen veriler literatürle uyumlu idi. Sonuçta LVİ kötü prognoz ile ilişkili bulundu.

Lenf nodu tutulumu tümör prognozunu belirleyen en önemli prognostik parametrelerdendir. Tüm evreleme sistemlerinin önemli bir bileşeni olan LN tutulumu, sağ kalımı belirgin olarak azaltmakta ve adjuvan sistemik KT gereksinimini belirlemektedir. Shen ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği 434 olguyu kapsayan çalışmada disseke edilen LN sayısı ile klinikopatolojik parametrelerin ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda LN sayısı ile rezeke edilen barsak segmentinin uzunluğu, hastanın yaşı ve tümör lokalizasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (50). Bir başka çalışmada Cserni ve arkadaşları 224 KK olgusunda retrospektif olarak doğru evreleme için değerlendirilmesi

gereken LN sayısını araştırmışlardır. Elde edilen verilerin ışığında altı ya da daha az LN incelendiğinde evrenin daha düşük olduğu görülmüştür. Sonuçta doğru evreleme için en azından 13 LN'nun incelenmesi gerektiği saptanmıştır (48).

Evreleme sistemlerine göre LN tutulumu ileri evre hastalık anlamına gelmekte, bağlı olarak olumsuz prognozu simgeleyen prognostik bir parametre olarak karşımıza çıkmaktadır. Çalışmamızda olguların 34 (%46,5)'ünde LN tutulumu mevcut olup; bunların 15'inde (%44,1) dört ve üzeri LN metastatik idi. İstatistiksel olarak LN tutulumu ile MAC evresi ve LVİ arasında pozitif; anormal sitoplazmik  $\beta$ -catenin boyanması ile arasında negatif yönde anlamlı korelasyon bulundu. Bu veriler literatür ile uyumlu olup tutulan LN sayısının KK'da olumsuz prognozu işaret ettiğini düşündürdü. Farklı olarak  $\beta$ -catenin ile anormal sitoplazmik boyanma varlığında tutulan LN sayısı daha az idi. İstatistiksel olarak bir anlam ifade etmemekle birlikte benzer ilişki  $\beta$ -catenin ile membranöz boyanma azalması ve nükleer boyanma artışında da izlendi. Özetlenecek olursa veriler bütün olarak ele alındığında karsinogeneze uygun olarak  $\beta$ -catenin membrandan sitoplazmaya ve nükleusa geçtiğinde tutulan lenf nodu sayısı beklendiği gibi artış göstermemekte idi. Bunun olguların büyük kısmında  $\beta$ -catenin ile anormal boyanma göstermesi ve yine büyük kısmında tutulan LN sayısının dördün altında olmasından kaynaklandığı düşünüldüyse de sonuçlar literatür ile uyumlu bulunmadı. Çalışmamızdaki bu uyumsuzluğun olgu sayısının azlığına ve dağılımına bağlı olabileceği düşünüldü.

Kolorektal karsinomlarda prognozu ve beklenen yaşam süresini belirlemede en önemli faktör TNM ve MAC evreleridir. Günümüzde kullanılan MAC evreleme sistemi 19. yüzyılda Dukes tarafından geliştirilmiştir. Bu sistem tümörün barsak duvarına yayılım derinliğini ve tutulan LN durumunu baz almaktadır (1, 11, 41). Bu bileşenlerden derinlik, prognozu belirlemede temel işleve sahiptir. Öte yandan LN tutulumu LVİ göstergesi olarak ele alındığında hastalığın yayılma olasılığı ile yakından ilişkilidir. Bizim çalışmamızda olguların yedisi (%9,6) Evre B1, 31'i (%42,5) Evre B2, dördü (%5,5) Evre C1, 29'u (%39,7) Evre C2 ve ikisi (%2,7) Evre D'de yer almakta idi. İstatistiksel olarak MAC evresi ile TNM evresi, LN tutulumu, LVİ ve PNİ arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon bulundu. Buna göre her iki evreleme sistemi de beklendiği gibi ilişkili bulundu. Dolayısıyla LN tutulumu olduğunda hastalık daha ileri evre olarak karşımıza çıkmakta idi. Lenf nodu tutulumu ile ilişkisine bağlı olarak LVİ'nin artması ve evrenin ilerlemesine yönelik beklenti

verilerimizle de desteklenmekte idi. Son olarak artan PNI oranı ile birlikte hastalık daha ileri evrede karşımıza çıkmakta ve bu bulgu PNI'nin kötü prognostik değerini doğrulamakta idi.

Diğer bir evreleme sistemi olan AJCC/ UICC'ye göre tümör derinliği, tutulan LN sayısı ve uzak metastaz varlığına dayanmaktadır. MAC evreleme sistemine benzer şekilde prognozu belirlemede en önemli parametredir. İleri evre belirgin olarak kısalmış yaşam süresi, ileri hastalık ve kötü prognoz göstergesidir. Çalışmamızda 13 olguda (%17,8) tümörün muskularis propriaya (pT2), 52 (%71,2) olguda subserozaya (pT3) ve sekiz olguda (%11) serozaya (pT4) invaze olduğu tesbit edildi. İstatistiksel olarak TNM evresi ile yaş ve PTİ arasında negatif; diferansiyasyon ve MAC ile arasında pozitif korelasyon saptandı. Bu veriler genç yaşta izlenen tümörlerde ve PTİ yokluğunda hastalığın daha ileri evre olduğunu göstermekte idi. Ayrıca diferansiyasyon azaldıkça tümör evresi de artmakta idi. Sonuçta TNM ve MAC evreleri arasında beklenen ilişki saptandı.

Anjiogenez tümörün beslenmesini sağlar ve bu sayede progresyonda kritik role sahiptir. Çünkü belli bir boyuta erişen her tümör yayılmak için yeni damar oluşumuna ihtiyaç duymaktadır. Tümör angiogenezini durdurmanın kanser tedavisinde bir seçenek olabileceği düşüncesi ilk kez Folkman tarafından öne sürülmüştür (80). Bunun ardından anjiogenez prognostik parametrelerden biri olarak kabul edilmişse de anjiogenezin KK'lardaki prognostik değeri ile ilgili tartışmalı veriler bulunmaktadır. Bu yüzden anjiogenez ve anjiogenik faktörlerin anlaşılması progresin tahmini ve tedavinin belirlenmesinde yaşamsal öneme sahiptir.

Anjiogenez stimülatör ve inhibitör etkenler arasındaki sıkı denge ile kontrol edilmektedir. Bu süreçte etkili olan en önemli angiogenik faktör VEGF'dir. MDY ise anjiogenez düzeyini değerlendirmekte kullanılmaktadır. Kan damarları immünohistokimyasal olarak FVIIIa, VEGF, CD31, CD34 ve CD105 ile işaretlenmektedir.

Guetz ve arkadaşlarının KK'da intratümöral MDY ve VEGF ile ilgili çok sayıda çalışmayı içeren meta-analizinde anjiogenez ile tümör evresi ve sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. Bu, anjiogenezin kolorektal karsinogenezin çok erken aşaması ile ve sonuçta metastaz yeteneği ile bağlantılı olduğu sonucunu doğrulamaktadır (53).

Ogata ve arkadaşlarının 342 olguluk çalışmasında TNM evre II ve III hastalarda postoperatif KT gereksinimini belirlemede VEGF ekspresyonunun rolü araştırılmıştır. VEGF ekspresyonu ile özellikle evre III olgularda, özellikle de venöz invazyon varlığında yaşam

süresinin kısaldığı gösterilmiştir. Ancak VEGF ekspresyonu ile cinsiyet, tümör lokalizasyonu, LN metastazı, komşu organlara invazyon, venöz invazyon, lenfatik invazyon ya da histolojik derece arasında ilişki saptanmamıştır (81).

Tamura ve arkadaşları pulmoner metastazı olan 49 KK'lı olguda rezeksiyon sonrası beş yıllık yaşam süresinde primer ve metastatik tümörlerde VEGF ekspresyonunu da içeren prognostik faktörleri araştırmışlardır. Primer ve metastatik tümörlerde VEGF ekspresyonu ile primer tümörün evresi, sağ kalım açısından bağımsız prognostik faktörler olarak belirlenmiştir. Ancak yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu ve boyutu ile VEGF ekspresyonu arasında ilişki bulunmamıştır (82).

Döğer ve arkadaşlarının 60 KK'lı olguyu kapsayan çalışmasında VEGF boyanma yoğunluğu ile; TNM evresi, diferansiyasyon, vasküler invazyon, lenfatik yayılım ve uzak metastaz varlığı arasında korelasyon saptanmış ancak sağ kalım ile korelasyon bulunmamıştır (83).

Zheng ve arkadaşlarının 97 olguluk çalışmasında VEGF ve MDY'nin anjiogenez ve prognoz ile ilişkisi araştırılmış; hem VEGF hem de MDY'nin diferansiyasyon azaldıkça arttığı gözlemlenmiştir. Ancak her iki parametrenin de cinsiyet, yaş ya da evre ile ilişkisi bulunmamıştır. İstatistiksel analizlerde evre, derece ve MDY anlamlı değişkenler olarak bulunurken; VEGF bulunmamıştır. Sonuçta KK'larda MDY prognostik açıdan anlamlı iken VEGF yoğunluğu anlamlı bulunmamıştır (58).

Durak ve arkadaşlarının 41 KK'lı olguluk çalışmasında anjiogenezin prognoz üzerindeki etkisi araştırılmıştır. VEGF ekspresyonu ile tümörün yerleşimi, derecesi, TNM evresi, vasküler invazyon, PNI, lokal nüks, uzak metastaz ve 5 yıllık sağ kalım arasında anlamlı bir bağlantı saptanmamıştır (84).

Easwaran ve arkadaşlarının çalışmasında  $\beta$ -catenin ile anjiogenezin ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada  $\beta$ -catenin'in Wnt sinyal yolu aracılığı ile karsinogenezde etkili olduğu, aynı zamanda anjiogenezi uyardığı gösterilmiştir.  $\beta$ -catenin sinyal yolunun anjiogenez regülasyonundaki etkisini araştırmak amacıyla anjiogenez ile ilişkili genlerin promoter bölgelerinde  $\beta$ -catenin / transkripsiyon faktör bağlanma noktaları araştırılmıştır. VEGF-A'nın promoter bölgesinde 7 adet  $\beta$ -catenin ilişkili transkripsiyon faktörü bağlayıcı alan bulunmuştur. Doku örnekleri ile yapılan çalışmanın sonucunda VEGF-A'nın  $\beta$ -catenin için hedef gen olduğu ve erken neoanjiogenezde etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca

sitoplazmik  $\beta$ -catenin artışının VEGF-A'nın artmış üretimi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (85).

Çalışmamızda anjiogenezi değerlendirmek amacıyla tümöral dokuda VEGF ekspresyonu araştırılarak klinikopatolojik parametreler ve adezyonla ilişkisi incelendi. Anjiogenezi MDY ölçümü yoluyla değerlendirmek için uygulanan CD31 ve CD105 antijenleri ile sayım yapıldı. VEGF ekspresyonu yalnızca tümöral dokuda değerlendirilirken; CD31 ve CD105 ile MDY hem intratümöral, hem peritümöral dokuda değerlendirildi. İstatistiksel olarak VEGF ekspresyon derecesi ile PTİ, PNİ, LVI, MAC evresi, TNM evresi, diferansiyasyon ve cinsiyet arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı. Çalışmamızda yaş ile pozitif yönde ve anormal membranöz  $\beta$ -catenin boyanması ile negatif yönde korelasyon saptandı. Buna göre VEGF ekspresyon derecesi arttıkça yaş arttıkça artmakta ve  $\beta$ -catenin ile anormal membranöz boyanma oranı azalmakta idi. Öte yandan istatistiksel olarak anlamlı olmasa da VEGF ekspresyon derecesi arttıkça E-cadherin ile sitoplazmik boyanma;  $\beta$ -catenin ile sitoplazmik ve nükleer boyanma artmakta idi. Bu veriler adezyon molekülleri, özellikle de  $\beta$ -catenin ile anjiogenez arasında olası bir ilişkiyi işaret ediyorsa istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu ise bize bu konuda daha fazla olgu ile daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiğinin düşündürdü.

Çalışmamızda VEGF ekspresyon derecesi ile MDY arasında korelasyon saptanmadı. Oysa anjiogenezin VEGF, bFGF gibi proanjiogenik faktörlerce başlatıldığı ve bunların diğer komponentlerin yanı sıra başlıca tümör hücreleri tarafından salındığı bilinmektedir. Çalışmamızda da buna uygun olarak olguların tamamına yakınında (%97,3) VEGF ekspresyonu bulunmakta idi. Ancak MDY, tüm VEGF ekspresyon seviyelerinde benzer değerlere sahip idi. Bu sonuç VEGF'nin anjiogenezi uyardığını ancak ekspresyon derecesinin MDY'nu etkilemediğini göstermekte idi.

Anjiogenik faktörler dinlenme halindeki endotelial hücreleri aktive ederek migrasyon, proliferasyon, diferansiyasyon ve sonuçta yeni damar formasyonu yönünde uyarmaktadır. Tümöral endotelial hücrelerin hızlı proliferasyonu ve proanjiogenik uyarımın persistansı sebebiyle inkomplet ve irregüler damar yapıları oluşmaktadır. Dolayısıyla tümöral endotelial hücrelerin normal endotelial hücrelerden farklı olması beklenmektedir (86). Ayrıca antianjiogenik tedaviye bağlanan umutlar sebebiyle tümöral damar ağının saptayabilen yeni ve etkin belirleyicilere gereksinim duyulmaktadır. Son yıllarda çok sayıda çalışmanın konusu olan CD105 bu amaçla araştırılan bir belirleyicidir. CD31 ise uzun zamandır bilinen

vasküler bir belirleyicidir ve MDY'nu saptamakta diğer belirleyicilerle birlikte kullanılmaktadır.

Jung ve arkadaşlarının 211 olguluk çalışmasında bilgisayar aracılı morfometrik analiz yoluyla CD31 ve CD105 ekspresyonları arasındaki farkı araştırılmıştır. Çoğu olguda CD31 ile saptanan MDY, CD105 ile saptanan MDY'den yüksek bulunmuştur. CD31 ile saptanan MDY'nin daha yüksek olması olağan bulunmuştur. Bu sonuç CD31'in yeni oluşmuş damarların yanısıra önceden kalan matür damarları da işaretlemesi ile açıklanmıştır. Öte yandan CD105'in önce oluşmuş olan matür damarları işaretlemediği belirtilmiştir (87).

Minhajet ve arkadaşlarının 76 olguluk çalışmasında kolon kanserinin gelişimi sırasında tüm doku tabakalarında CD105 ekspresyonu ile VEGF ve CD31'in de aralarında bulunduğu endotelyal belirleyicilerin ekspresyonu karşılaştırılmıştır. CD31'in dağılım oranı normal doku, adenom ve karsinomda benzer olarak bulunurken CD105'in daha çok tümöral dokuda eksprese olduğu saptanmıştır. Bu yüzden CD105'in KK'da de novo damarlarda spesifik olarak eksprese olduğu sonucuna varılmıştır (88).

Schellerer ve arkadaşlarının 8 KK'lı olguyu kapsayan çalışmasında olağan ve tümöral endotelyal hücrelerin ayrımı yoluyla antianjiyogenik tedavinin optimize edilebilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla tümöral doku ve tümör dışı doku kültürleri kullanılmıştır. CD31 ile CD105'i de içeren belirleyiciler kullanılarak tümöral ve olağan endotelyal hücreler elde edilmeye çalışılmıştır. CD31 ve CD105 her iki dokuda da bulunduğu halde CD105 tümöral stromada da saptanmıştır (86).

Saad ve arkadaşlarının 150 olguyu kapsayan çalışmasında proliferen endoteli işaret eden CD105 ile VEGF olası prognostik faktörler olarak araştırılmıştır. CD105 ve CD31 ile saptanan MDY oranı ve VEGF ekspresyonu arttıkça vasküler invazyon ve lenf nodu tutulumunun da arttığı saptanmıştır. CD105, karaciğer metastazı ve VEGF invazyon derinliği ile ilişkili bulunmuştur. Lenf nodu tutulumu varlığında bu belirleyiciler ile cinsiyet, yaş, tümör boyutu, tümör derecesi ve invazyon derinliği açısından fark saptanmamıştır. Ayrıca CD105 ekspresyonu özellikle tümöral alanda izlendiğinden tümör anjiogenezini değerlendirmede daha güvenilir olduğu sonucuna varılmıştır (60).

Akagi ve arkadaşlarının 54 olguluk çalışmasında adenom-karsinom sekansında CD105 ile diğer panendotelyal belirleyicilerin boyanma paternleri karşılaştırılmıştır. Karsinomlu olgularda CD105 ile daha yoğun ve derin boyanma izlenmiştir. Bu alanlarda CD105 ile boyanan vasküler yapıların yalnızca bir kısmının CD34 ile de boyandığı

saptanmıştır. Ayrıca CD34 ile saptanan MDY, CD105 ile saptanandan yüksek olduğundan neovaskülarizasyonda MDY’i değerlendirmede CD105’in daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır (61).

Bizim çalışmamızda hem intratümöral, hem de peritümöral dokuda CD31 ile saptanan MDY, CD105 ile saptanandan yüksek idi. Farklı olarak CD31 MDY peritümöral alanda daha yüksek iken, CD105 MDY intratümöral alanda daha yüksek bulundu. Ayrıca intratümöral alanda CD31 ekspresyonu arttıkça CD105 ekspresyonu da artmakta idi. Bu veriler daha önceki verilerle uyumlu idi ve CD105’in tümöral anjiogenezi belirlemede daha spesifik olduğunu düşündürdü. Ek olarak peritümöral alanda CD105 ile saptanan MDY, E-cadherin ile membranöz boyanma azaldıkça azalmakta idi. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da E-cadherin ile sitoplazmik boyanma arttıkça MDY da artmakta idi. Bu veriler E-cadherin ekspresyonunun hücre membranından sitoplazmaya geçişi ile birlikte MDY’nun arttığını dolayısıyla karsinogenezin ilerlemesi ile birlikte anjiogenezin de arttığını düşündürmekte idi. Her iki belirleyici de diğer prognostik parametrelerle karşılaştırıldığında intratümöral CD31 MDY arttıkça evre artmakta; her iki dokuda CD105 MDY arttıkça diferansiyasyon azalmakta idi. Ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi. Sonuçta anjiogenez ile diğer prognostik faktörlerin ilişkisini incelemek için daha geniş çalışmalara gereksinim olduğu düşünüldü.

KK’lı olguların %90’ı metastatik hastalıktan dolayı kaybedilmektedir. Hastalık seyrinde adezyon kaybı, metastaz gelişimindeki ana basamağı oluşturmaktadır. Adezyon molekülleri hücreler arası ilişkiyi sağlarlar ve hücre iskeletine bağlanarak hücre bütünlüğünü korurlar. Normalde her iki adezyon molekülü de hücre membranında eksprese olurken, kanserli dokuda membranöz boyanma azalmakta, sitoplazmik boyanma artmakta ve nükleer boyanma gözlenebilmektedir. Bu sebeple adezyon moleküllerinin karsinogenez, beklenen yaşam süresi ve metastaz gelişimi ile ilişkisini değerlendiren çok sayıda çalışma yapılmış; sonuçların tedavi sürecine olumlu katkıda bulunması umut edilmiştir. Bizim çalışmamızda da bu amaçla E-cadherin ve  $\beta$ -catenin adlı adezyon moleküllerinin ekspresyon paterninin klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi araştırılmıştır.

Wnt sinyal yolunun önemli bir bileşeni olan  $\beta$ -Catenin, E-cadherin’in sitoplazmik ucuna bağlanarak adezyonu sağlar. Wnt sinyal yolunun aktivasyonu  $\beta$ -catenin hücrede birikerek nükleusa geçmesi ve protoonkogenleri uyararak proliferasyonu arttırması ile sonuçlanır. Bu ise karsinogenezin erken döneminde gerçekleşir. Elzagheid ve arkadaşlarının

95 olguluk çalışmasında ileri evre KK'da  $\beta$ -catenin ekspresyon paterninin prognostik değeri araştırılmıştır. Çalışmaya dahil edilen olguların %63,2'sinde tanı anında metastaz mevcut iken geri kalanında izlem sürecinde metastaz gelişmiştir. Olguların tamamında membranöz ve sitoplazmik, olguların %58'inde nükleer boyanma saptanmış ve boyanmaların ortalaması alınmıştır. İstatistiksel olarak boyanma paterni ile yaş, cinsiyet, evre ve diferansiyasyon arasında ilişki saptanmamıştır. Buna karşın nükleer boyanma azaldıkça ya da membranöz boyanma arttıkça tedaviye yanıt artmış; ancak istatistiksel olarak yalnızca nükleer boyanma paterni hastalıksız yaşam süresi açısından belirleyici bulunmuştur (89). Hugh ve arkadaşlarının 60 primer KK'lı olguyu kapsayan çalışmasında cadherin - catenin ekspresyonunun survival üzerindeki etkisini araştırılmıştır. İyi diferansiye tümörlerde istatistiksel değeri olmamakla birlikte membranöz ekspresyonun azaldığı izlenmiş ve azalmış ekspresyonda LN tutulunun arttığı gözlenmiştir. Bu çalışmada anormal  $\beta$ -catenin ekspresyonu azalmış survival ve metastatik hastalıktan kayıp ile ilişkili bulunmuştur (90). Easwaran ve arkadaşlarının çalışmasında tümörlü dokularda  $\beta$ -catenin ve anjiogenezin ilişkisi araştırılmış,  $\beta$ -catenin'in Wnt sinyal yolu aracılığı ile karsinogenezde etkili olduğu, aynı zamanda anjiogenezi uyardığı belirtilmiştir. VEGF-A'nın promoter bölgesinde yedi adet  $\beta$ -catenin ilişkili transkripsiyon faktörü bağlayıcı alan bulunmuştur. VEGF-A'nın catenin için hedef gen olduğu ve erken neoanjiogeneze etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca sitoplazmik  $\beta$ -catenin artışının VEGF-A'nın artmış üretimi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (85).

Çalışmamızda  $\beta$ -catenin ile anormal membranöz boyanma oranı arttıkça VEGF ekspresyon derecesinin azaldığı saptandı. Öte yandan istatistiksel olarak anlamlı olmasa da sitoplazmik E-cadherin ve  $\beta$ -catenin ile nükleer  $\beta$ -catenin boyanması arttıkça VEGF ekspresyon derecesi de artmakta idi. Bu veriler birlikte değerlendirildiğinde daha önce de söz edildiği gibi  $\beta$ -catenin ile anjiogenezin ilişkili olduğu ancak bunun istatistiksel olarak da kanıtlanabilmesi için daha geniş çalışmalara gereksinim duyulduğu düşünüldü.

Çalışmamızda  $\beta$ -catenin ile anormal sitoplazmik boyanma varlığında tutulan LN sayısı daha düşük bulundu. Benzer bir ilişki istatistiksel olarak kanıtlanmamakla birlikte anormal membranöz ve nükleer  $\beta$ -catenin boyanmasında da izlenmekte idi. Bunun çalışmamıza dahil edilen olguların büyük kısmında  $\beta$ -catenin ile anormal boyanma olması ve yine büyük kısmında tutulan LN sayısının 4'ün altında olmasından kaynaklandığı düşünüldüyse de sonuçlar literatür ile uyumlu bulunmadı.

Çalışmamızın sonucunda nükleer  $\beta$ -catenin ekspresyonu başta olmak üzere adezyon molekülleri, karsinogenezin ilerlemesi ve anjiogenez ile ilişkili bulundu. Karsinogenez ve anjiogenezin birlikte ilerlediği ve tümöral neovaskülarizasyonu saptamada CD105'in daha değerli olduğu düşünüldü.

## SONUÇLAR

2001-2008 yılları arasında kolorektal adenokarsinom tanısı alan 73 olgunun incelenmesi ile elde edilen verilere göre;

- Olguların yaşları 31 ile 99 arasında değişmekte ve ortalama yaş 64,39 idi.
- Çalışmaya 50 erkek ve 23 kadın dahil edildi.
- Ortalama tümör çapı 5,52 cm idi.
- Olguların 13'ü pT2 (%17,8), 52'si (%71,2) pT3 ve sekizi (%11) pT4 idi.
- Modifiye Astler-Coller sınıflamasına göre olgulardan yedisi (%9,6) Evre B1, 31'i (%42,5) Evre B2, dördü (%5,5) Evre C1, 29'u (%39,7) Evre C2 ve ikisi (%2,7) evre D olarak saptandı.
- Tümörlerden 12'si (%16,4) iyi diferansiye, 54'ü (%74) orta derecede diferansiye, yedisi (%9,6) az diferansiye idi.
- Kırkyedi olguda LVİ (%64,4), 18 olguda PNİ (%24,7) saptandı.
- Olguların 34'ünde (%46,5) lenf nodu metastazı mevcut olup bunların 15'inde (%44,1) dört ve üzeri lenf nodunda metastaz var idi.
- Peritümöral infiltrasyon olguların 49'unda (%67,1) gözlemlendi.
- VEGF ile olgulardan ikisi (%2,7) negatif, 31'i (%42,5) zayıf ve 40'ı (%54,8) kuvvetli boyanma göstermekte idi.
- E-cadherin ile 63 olguda (%86,3) anormal membranöz, 46 olguda (%63) anormal sitoplazmik ve iki olguda (%2,73) anormal nükleer boyanma izlendi.
- $\beta$ -catenin ile 58 olguda (%79,5) anormal membranöz, yine 58 olguda (%79,5) anormal sitoplazmik ve 23 olguda (%31,5) anormal nükleer boyanma izlendi.
- CD31 ile MDY intratümöral dokuda 26,57 ve peritümöral dokuda 36,94 olarak bulundu.
- CD105 ile MDY intratümöral dokuda 11,54 ve peritümöral dokuda 6,82 olarak bulundu.
- Diferansiyasyon ile TNM evresi ve tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönde korelasyon saptandı. Buna göre diferansiyasyon azaldıkça evre ve çap artmakta idi.
- VEGF boyanma yoğunluğu ve yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif yönde korelasyon saptandı. VEGF yoğunluğu yaşla birlikte artmakta idi.
- Peritümöral infiltrasyon ve TNM evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif yönde korelasyon bulundu. Peritümöral infiltrasyon arttıkça evre azalmakta idi.
- Perinöral invazyon ile LVİ ve MAC evresi arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptandı. Perinöral invazyon arttıkça evre artmakta idi.

- Lenfovasküler invazyon ile LN tutulumu, PNI ve MAC evresi arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptandı. Lenfovasküler invazyon arttıkça evre artmakta idi.
- Lenf nodu tutulumu ile MAC evresi ve LVI arasında pozitif, anormal sitoplazmik  $\beta$ -catenin boyanması ile arasında negatif yönde anlamlı korelasyon bulundu. Tutulan lenf nodu sayısı arttıkça evre artmakta idi.
- TNM evresi ile yaş ve PTİ arasında negatif; diferansiyasyon ve MAC ile arasında pozitif korelasyon saptandı. Veriler genç yaşta izlenen tümörlerde ve PTİ yokluğunda hastalığın daha ileri evre olduğunu gösterdi. Diferansiyasyon azaldıkça tümör evresi de artmakta idi.
- VEGF ile yaş arasında pozitif ve  $\beta$ -cateninle membranöz boyanmada azalma arasında negatif yönde korelasyon bulundu. Ancak VEGF ekspresyon derecesi ile MDY arasında korelasyon saptanmadı.
- İntratümöral CD105 MDY, CD31 MDY ve peritümöral CD105 MDY arasında pozitif yönde korelasyon bulundu. Ayrıca anormal membranöz E-cadherin boyanması ile arasında negatif yönde korelasyon saptandı. Diğer prognostik faktörlerle istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı.

## ÖZET

Kolorektal karsinomlar dünya genelinde en sık görülen tümörlerdendir. Kanser araştırmalarına ve yeni tedavilere yoğun emek harcanmaktadır. Ancak metastatik hastalık gelişiminden dolayı ölüm oranı hala yüksektir. Bu yüzden prognostik faktörleri aydınlatmak ve yeni tedavi yaklaşımlarına yön vermek amacıyla çok sayıda çalışma yapılmaktadır.

Bu çalışmanın amacı kolorektal karsinogenezde anjiogenezin ve adezyon kaybının prognostik değerini araştırmaktır.

Çalışmaya Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilimdalı'nda 2001-2008 yılları arasında kolorektal adenokarsinom tanısı alan 73 olgu dahil edildi. Çalışmada demografik veriler ile bazı histopatolojik parametreler değerlendirildi. Ayrıca bu parametrelerin karsinogenezin önemli bileşeni olan anjiogenez ile ve adezyon kaybı ile ilişkisi araştırıldı. Bu amaçla immünohistokimyasal yolla anjiogenez belirlenmede VEGF, CD31 ve CD105; adezyon kaybını belirlenmede E-cadherin ve  $\beta$ -catenin kullanıldı.

İstatistiksel analizlerin sonucunda tümör diferansiyasyonunda azalma, peritümöral lenfosit infiltrasyonun yokluğu, perinöral ve lenfovasküler invazyon ile lenf nodu tutulumu varlığında tümörlerin daha ileri evrede olduğu saptandı. CD31 ile saptanan mikrodamar yoğunluğu, CD105 ile saptanandan yüksek idi. Ancak mikrodamar yoğunluğu CD31 ile peritümöral alanda daha yüksek iken, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da CD105 ile intratümöral alanda daha yüksek bulundu. Benzer şekilde VEGF ekspresyonu, sitoplazmik E-cadherin ve  $\beta$ -catenin ile nükleer  $\beta$ -catenin boyanması arttıkça artmakta idi.

Bulgular tümöral anjiogenez belirlenmede CD105'in daha spesifik olduğunu gösterdi. E-cadherin boyanmasının hücre membranından sitoplazmaya geçmesiyle mikrodamar yoğunluğunun artması, karsinogenez ve anjiogenezin birlikte ilerlediğini işaret etmekte idi.

**Anahtar kelimeler:** Kolorektal karsinom, adezyon molekülleri, anjiogenez, CD105

**İletişim adresi:** drhicran@hotmail.com

## SUMMARY

Colorectal carcinomas are among the most common tumors worldwide. A lot of effort goes into cancer research and new treatments. However, due to the development of metastatic disease, the mortality rate still remains high. Therefore many studies are done to clarify the prognostic factors in order to give direction to the new therapeutic approaches.

The aim of this study is to investigate the prognostic value of angiogenesis and loss of adhesion molecules in colorectal carcinogenesis.

73 cases diagnosed with colorectal adenocarcinoma were included at Adnan Menderes University Medical Faculty Pathology Department between 2001 and 2008. In this study, some demographic data and histopathologic parameters were evaluated. Also the relation between these parameters and adhesion loss with angiogenesis which is the important component of carcinogenesis were investigated. For this purpose, in the determination of angiogenesis by immunohistochemical way VEGF, CD31 and CD105; in the determination of adhesion loss E-cadherin and  $\beta$ -catenin were used.

As a result of statistical analysis, a decrease tumor differentiation, peritumoral absence of lymphocyte infiltration, perineural and lymphovascular invasion and lymph node involvement in advanced stage than in the presence of tumor was detected. Microvessel density determined by CD31 was higher than by that of CD105. However, while microvessel density was higher in peritumoral area with CD31, although not statistically meaningful, was detected higher in intratumoral areas with CD105. Similarly, the expression of VEGF, cytoplasmic E-cadherin and  $\beta$ -catenin was higher when nuclear  $\beta$ -catenin staining increased.

Findings showed that CD105 was more specific in the determination of the tumor angiogenesis. E-cadherin expression from the cell membrane into the cytoplasm indicated increased microvessel density, together with carcinogenesis and angiogenesis that were in progress.

**Key words:** Colorectal carcinoma, adhesion molecules, angiogenesis, CD105

**Communication adress:** drhicran@hotmail.com

## KAYNAKLAR

- 1- Hamilton SR, Vogelstein B, Kudo S, Riboli E, Nakamura S, Hainaut P, Rubio CA, Sobin LH, Fogt F, Winawer SJ, Goldgar DE, Jass JR. World health organisation classification of tumors. Pathology and genetics of tumors of the digestive system. In: Hamilton SR, Altonen LA. Tumors of colon and rectum. France: IARC Pres, 2000: 103-143.
- 2- <http://www.saglik.gov.tr/sb/default.asp?sayfa=ozelistatisitk&id=116&kelime=&page=> Sağlık Bakanlığı İnternet Sitesi.
- 3- Rosai J. Gastrointestinal tract. Large bowel. In: Rosai J. Rosai and ackerman's surgical pathology, 9th ed. Philadeldphia: Mosby, Vol I; 2004: 776-855.
- 4- Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers. Nature 1998; 396: 643-649.
- 5- Kumar V, Abbas KA, Fausto N. Pathologic basis of disease, 7th ed. Philadeldphia: Elsevier Saunders, 2005: 104-105, 107-109, 298-306, 797-875.
- 6- Romani AA, Borghetti AF, Del Rio A, Sianesi M, Soliani P. The risk of developing metastatic disease in colorectal cancer is related to CD105-pozitive vessel count. J Surg Onc 2006; 93: 446-455.
- 7- Clement PB, Histology of the colon. In: Sternberg SS. Histology for pathologists, 2nd ed. New York: Lippincott-Ravon, 1997; 519-537.
- 8- Moore KL, Persaud TVN. The developing human: clinically oriented embriyology, 6th ed. Çevirisi Ed. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H. Klinik yönleri ile insan embriyolojisi. Bölüm çevirisi Ertem D. Sindirim sistemi. 1. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2002: 271-302.
- 9- Sakorafas GH, Zouros E, Peros G. Applied vascular anatomy of the colon and rectum: clinical implications for the surgical oncologists. Surg Oncol 2006; 15: 243-255.
- 10- Wolff BG, Fleshman JW, Beck DE, Pemberton JH, Wexner SD, Church JM, Garcia-Aguilar J, Roberts PL, Saclarides TJ and Stamos MJ. The ASCRS textbook of colon and rectal surgery In: Jorge JMN, Habr-Gama A. Anatomy and embryology of the colon, rectum, and anus. New York: Springer, 2007: 1-22.
- 11- Harpaz N, Saxena R. Large İntestine. In: Weidner N, Cote RJ, Suster SS, Weiss LM. Modern surgical pathology, 1st ed. Philadelphia: Saunders, Vol I; 2003: 749-852.
- 12- Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Basic Histology. 10th Ed. Çevirisi ed. Aytekin Y, Solakoğlu S. Temel histoloji. Sindirim kanalı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2006: 291-324.

- 13- Potter JD. Colorectal cancer: molecules and populations. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 916-932.
- 14- Owen RW. Dietary and chemopreventive strategies. *Recent Results Cancer Res* 1998; 146: 195-213.
- 15- Tzelepi V, Grivas P, Kefalopoulou Z, Kalofonos H, Varajis JN, Melachrinou M, Sotiropoulou-Bonikou G. Estrogen signaling in colorectal carcinoma microenvironment: expression of ERB1, AIB-1, and TIF-2 is upregulated in cancer-associated myofibroblasts and correlates with disease progression. *Virchow Archiv* 2009; 454: 389-399.
- 16- Witte D, Chirala M, Younes A, Li Y, Younes M. Estrogen receptor beta is expressed in human colorectal adenocarcinoma. *Hum Pathol* 2001; 32: 940-944.
- 17- Miliaras S, Miliaras D, Vrettou E, Zavitsanakis A, Kiskinis D. The effect of aspirin and high fibre diet on colorectal carcinoma: a comparative experimental study. *Tech Coloproctol* 2004; 8: 59-61.
- 18- Nieuwenhuis MH, Vasen HFA. Correlations between mutation site in APC and phenotype of familial adenomatous polyposis (FAP): A review of the literature. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 61: 153-161.
- 19- Goodin GS, McCarville MB, Thibodeau SN, Skapek SX, Khoury JD, Spunt SL. Prolactinoma as the first manifestation of gardner's syndrome. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 50: 409-412.
- 20- Lewis JH, Ginsberg AL, Toomey KE. Turcot's syndrome. Evidence for autosomal dominant inheritance. *Cancer*. 1983; 51: 524-528.
- 21- Chow E, Macrae F. Review of juvenil polypozis syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1634-1640.
- 22- Lynch HT, Lynch PM, Lanspa SJ, Snyder CL, Lynch JF, Boland CR. Review of the lynch syndrome: history, molecular genetics, screening, differential diagnosis, and medicolegal ramifications. *Clin Genet* 2009; 76: 1-18.
- 23- Cooper HS . İntestinal neoplasms. In: Mills SE. Sternberg's diagnostic surgical pathology, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins, Vol II; 2004: 1543-1601.
- 24- Savafi B, Erinanç H, Perçinel S, Ensari A. Kolorektal karsinogenez. *Güncel Gastroenteroloji* 2007; 11: 27-33.
- 25- Leslie A, Carey FA, Pratt NR, Steele RJC. The colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Br J Surg* 2002; 89: 845-860.

- 26- Sönmez Ü, Ergür BU. Wnt sinyal mekanizması ve omurga gelişimi üzerine etkisi. *J Turkish Spin Surg* 2002; 13: 17-21.
- 27- Behrens J. The role of the Wnt signalling pathway in colorectal tumorigenesis. *Biochem Soc Trans* 2005; 33; 672-675.
- 28- Kirchner T, Brabletz T. Patterning and nuclear beta-catenin expression in the colonic adenoma-carcinoma sequence. Analogies with embryonic gastrulation. *Am J Pathol* 2000; 157: 1113-1121.
- 29- Lugli A, Zlobec I, Minco P, Baker K, Tornillo L, Terracciano L, Jass JR. Prognostic significance of the wnt signalling pathway molecules APC,  $\beta$ -catenin and E-cadherin in colorectal cancer – a tissue microarray – based analysis. *Histopathology* 2207; 50: 453-464.
- 30- Srivastava S, Verma M, Henson DE. Biomarkers for early detection of colon cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1118-1126.
- 31- Jernvall P, Makinen MJ, Karttunen TJ, Makkela J, Vihko P. Loss of heterozygosity at 18q21 is indicative of recurrence and therefore poor prognosis in a subset of colorectal cancers. *Br J Cancer* 1999; 79: 903-908.
- 32- Jass JR. Tumors of the intestines. In: Fletcher C. *Diagnostic histopathology of tumors*, 2nd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, Voll I; 2003: 369-409.
- 33- Nawa T, Kato J, Kawamoto H, Okada H, Yamamoto H, Kohno H, Endo H, Shiratori Y. Differences between right- and left-sided colon cancer in patient characteristics, cancer morphology and histology. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 418-423.
- 34- Truta B, Chen YY, Blanco AM, Deng G, Conrad PG, Kim YH, Park ET, Kakar S, Kim YS, Velayos F, Sleisenger MH, Terdiman JP. Tumor histology helps to identify lynch syndrome among colorectal cancer patients. *Fam Cancer* 2008; 7: 267-274.
- 35- Brammer RD, Taniere P, Radley S. Metachronous squamous-cell carcinoma of the colon and treatment of rectal squamous carcinoma with chemoradiotherapy. *Colorectal Dis* 2009; 11: 219-220.
- 36- Goodfellow PB, Brown SR, Hosie KB, Feeley K. Squamous cell carcinoma of the colon in an asbestos worker. *Eur J Surg Oncol* 1999; 25: 632-633.
- 37- Yokoi K, Tanaka N, Furukawa K, Seya T, Ohaki Y, Tajiri T. A case of adenosquamous carcinoma of the ascending colon. *J Nippon Med Sch* 2008; 75: 242-246.
- 38- Dong Y, Wang J, Ma H, Zhou H, Lu G, Zhou X. Primary adenosquamous carcinoma of the colon: report of five cases. *Surg Today* 2009; 39: 619-623.

- 39- Jessurun J, Romero-Guadarrama M, Manivel JC. Medullary adenocarcinoma of the colon: clinicopathologic study of 11 cases. *Hum Pathol* 1999; 30: 843-848.
- 40- Winn B, Tavares R, Fanion J, Noble L, Gao J, Sabo E, Resnick MB. Differentiating the undifferentiated: immunohistochemical profile of medullary carcinoma of the colon with an emphasis on intestinal differentiation. *Hum Pathol* 2009; 40: 398-404.
- 41- Compton CC. Colorectal carcinoma: diagnostic, prognostic, and molecular features. *Mod Pathol* 2003; 16: 376-388.
- 42- Wittekind C, Greene FL, Hutter RVP, Klimpfinger M, Sobin LH. *TNM Atlas*, 5th ed. New York: Springer, 2005: 101-113.
- 43- Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C. *TNM Classification of Malignant Tumours*, 7th ed. New York: Wiley-Blackwell, 2009: 100-105.
- 44- Kanelios I, Zacharakis E, Kanelios D, Pramateftakis MG, Betsis D. Prognostic significance of CEA levels and positive cytology in peritoneal washings in patients with colorectal cancer. *Colorectal Dis* 2006; 8: 436-440.
- 45- Tataroğlu C, Polat A, Kargı A, Şengiz S, Çamdeviren H, Küpelioğlu A. Kolorektal karsinomlarda invazyon derinliğinin neovaskülarizasyon, peritümöral NK hücresi, makrofaj ve eozinofil lökositlerle ilişkisinin araştırılması. *Türk Patoloji Dergisi* 2005; 21: 49-53.
- 46- Tozawa E, Ajioka Y, Watanabe H, Nishikura K, Muaki Gen, Suda T, Kanoh T, Hatakeyama K. Mucin expression, p53 overexpression, and peritumoral lymphocytic infiltration of advanced colorectal carcinoma with mucus component: Is mucinous carcinoma a distinct histological entity ? *Pathol Res Pract* 2007; 203: 567-574.
- 47- Zhao DP, Ding XW, Peng JP, Zheng YX, Zhang SZ. Prognostic significance of bcl-2 and p53 expression in colorectal carcinoma. *J Zhejiang Univ Sci B* 2005; 6: 1163-1169.
- 48- Cserni G. Nodal staging of colorectal carcinomas and sentinel nodes. *J Clin Pathol* 2003; 56: 327-335.
- 49- Cserni G, Vajda K, Tarjan M, Bori R, Svebis M, Baltas B. Nodal staging of colorectal carcinomas from quantitative and qualitative aspects. Can lymphatic mapping help staging ? *Pathol Oncol Res* 1999; 5: 291-296.
- 50- Shen SS, Haupt BX, Ro JY, Zhu J, Bailey HR, Schwartz MR. Number of lymph nodes examined and associated clinicopathologic factors in colorectal carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 2009; 133: 781-786.

- 51- Taskiran C, Erdem O, Onan A, Arisoy O, Acar A, Vural C, Erdem M, Ataoğlu O, Güner H. The prognostic value of endoglin (CD105) expression in ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16: 1789-1793.
- 52- Takebayashi Y, Akiyama SI, Yamada K, Akiba S, Aikou T. Angiogenesis as an unfavorable prognostic factor in human colorectal carcinoma. *Cancer* 1996; 78: 226-231.
- 53- Guetz GD, Uzzan B, Nicolas P, Cucherat M, Morere JF, Benamouzing R, Breau JL, Perret GY. Microvessel density and VEGF expression are prognostic factors in colorectal cancer. Meta-analysis of the literature. *Br J Cancer* 2006; 94: 1823-1832.
- 54- Okada K, Satoh T, Fujimoto K, Tokunaga O. Interaction between morphology and angiogenesis in human early colorectal cancers. *Pathol Int* 2004; 54: 490-497.
- 55- Nakasaki T, Wada H, Shigemori C, Miki C, Gabazza EC, Nobori T, Nakamura S, Shiku H. Expression of tissue factor and vascular endothelial growth factor is associated with angiogenesis in colorectal cancer. *Am J Hematol* 2002; 69: 247-254.
- 56- Kang SM, Maeda K, Onoda N, Chung YS, Nakata B, Nishiguchi Y, Sowa M. Combined analysis of p53 and vascular endothelial growth factor expression in colorectal carcinoma for determination of tumor vascularity and liver metastasis. *Int J Cancer* 1997; 74: 502-507.
- 57- Cressey R, Wattananupong O, Lertprasertsuke, Vinitketkumnue U. Alteration of protein expression pattern of vascular endothelial growth factor (VEGF) from soluble to cell-associated isoform during tumorigenesis. *BMC Cancer* 2005; 5: 128.
- 58- Zheng S, Han MY, Xiao ZX, Peng JP, Dong Q. Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression and neovascularization in colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1227-1230.
- 59- Saad RS, Liu YL, Nathan G, Celebrezze J, Medich D, Silverman JF. Endoglin (CD105) and vascular endothelial growth factor as prognostic markers in colorectal cancer. *Mod Pathol* 2004; 17: 197-203.
- 60- Saad RS, El-Gohary Y, Memari E, Liu YL, Silverman JF. Endoglin (CD105) and vascular endothelial growth factor as prognostic markers in esophageal adenocarcinoma. *Hum Pathol* 2005; 36: 955-961.
- 61- Akagi K, Ikeda Y, Sumiyoshi Y, Kimura Y, Kinoshita J, Miyazaki M, Abe T. Estimation of angiogenesis with anti-CD105 immunostaining in the process of colorectal cancer development. *Surgery* 2002; 131: 109-113.

- 62- Fonsatti E, Altomonte M, Nicotra MR, Natali PG, Maio M. Endoglin (CD105): a powerful therapeutic target on tumor-associated angiogenetic blood vessels. *Oncogene* 2003; 22: 6557-6563.
- 63- El-Bahrawy MA, Poulsom R, Jeffery R, Talbot I, Alison MR. The expression of E-cadherin and catenins in sporadic colorectal carcinoma. *J Pathol* 2002; 198: 69-76.
- 64- Roca F, Mauro LV, Morandi A, Bonadeo F, Vaccaro C, Quintana GO, Specterman S, de Kier Joffe EB, Pallotta MG, Puricelli LI, Lastiri J. Prognostic value of E-cadherin,  $\beta$ -catenin, MMPs (7 and 9), and TIMPs (1 and 2) in patients with colorectal carcinoma. *J Surg Oncol* 2006; 93: 151-160.
- 65- Han SA, Chun H, Park CM, Kang SJ, Kim SH, Sohn D, Yun SH, Lee WY. Prognostic significance of  $\beta$ -catenin in colorectal cancer with liver metastasis. *Clin Oncol.* 2006; 18: 761-767.
- 66- Wijnhoven BPL, Dinjens WNM, Pignatelli M. E-cadherin-catenin cell-cell adhesion complex and human cancer. *Br J Surg* 2000; 87: 992-1005.
- 67- Kefeli M, Karagöz F, Barış S, Yıldız L, Aydın O, Kandemir B. Kolorektal karsinomlarda E-cadherin ve Ki-67 ekspresyonunun evre, histolojik tip ve derece ile ilişkisi. *Türk Patoloji Dergisi* 2005; 21: 8-10.
- 68- Güç D. Adezyon molekülleri. *Asthma Allergy Immunol* 2004; 2: 95-102.
- 69- Dorudi S, Hanby AM, Poulsom R, Northover J, Hart IR. Level of expression of E-cadherin mRNA in colorectal cancer correlates with clinical outcome. *Br J Cancer* 1995; 614-616.
- 70- Chen S, Liu J, Li G, Mo F, Xu X, Zhang T, Zhang X, Li J, Han Z, Sun Y. Altered distribution of  $\beta$ -catenin and prognostic roles in colorectal carcinogenesis. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 456-464.
- 71- Ikeguchi M, Makino M, Kaibara N. Clinical significance of E-cadherin-catenin complex expression in metastatic foci of colorectal carcinoma. *J Surg Oncol* 2001; 77: 201-207.
- 72- Ngan CY, Yamamoto H, Seshimo I, Ezumi K, Terayama M, Hemmi H, Takemasa I, Ikeda M, Sekimoto M, Monden M. A multivariate analysis of adhesion molecules expression in assessment of colorectal cancer. *J Surg Oncol* 2007; 95: 652-662.
- 73- Tataroğlu C, Karabacak T, Apa DD.  $\beta$ -catenin and CD-44 expression in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma of the skin. *Tumori* 2007; 93: 284-289.

- 74- Li LN, Zhang HD, Yuan SJ, Yang DX, Wang L, Sun ZX. Differential sensitivity of colorectal cancer cell lines to artesunate is associated with expression of  $\beta$ -catenin E-cadherin. *Eur J Pharmacol* 2008; 588: 1-8.
- 75- Hörkkö TT, Klintrup K, Mäkinen JM, Näpänkangas JP, Tuominen HJ, Mäkelä J, Karttunen TJ, Mäkinen MJ. Budding invasive margin and prognosis in colorectal cancer - no direct association with  $\beta$ -catenin expression. *Eur J Cancer* 2006; 42: 964-971.
- 76- Vermeulen PB, Gasparini G, Fox SB, Colpaert C, Marson LP, Gion M, Belien JAM, de Waal RMW, Van Marck E, Magnani E, Weidner N, Harris AL, Dirix LY. Second international consensus on the methodology and criteria of evaluation of angiogenesis quantification in solid human tumours. *Eur J Cancer* 2002; 38: 1564-1579.
- 77- Compton C, Fenoglio-Preiser CM, Pettigrew N, Fielding LP. American joint committee on cancer prognostic factors consensus conference. Colorectal working group. *Cancer* 2000; 88: 1739-1757.
- 78- Takahashi K, Mori T, Yasuno M. Histologic grade of metastatic lymph node and prognosis of rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 40-46.
- 79- Fujita S, Shimoda T, Yoshimura K, Yamamoto S, Akasu T. Prospective evaluation of prognostic factors in patients with colorectal cancer undergoing curative resection. *J Surg Oncol* 2003; 84: 127-131.
- 80- Folkman J. Fighting cancer by attacking its blood supply. *Sci Am* 1996; 275: 150-154.
- 81- Ogata Y, Matono K, Mizobe T, Ishibashi N, Mori S, Akagi Y, Ikeda S, Ozasa H, Murakami H, Shirouzu K. The expression of vascular endothelial growth factor determines the efficacy of post-operative adjuvant chemotherapy using oral fluoropyrimidines in stage II or III colorectal cancer. *Oncol Rep* 2006; 15: 1111-1116.
- 82- Tamura M, Oda M, Tsunazuka Y, Matsumoto I, Kawakami K, Watanabe G. Vascular endothelial growth factor expression in metastatic pulmonary tumor from colorectal carcinoma: utility as a prognostic factor. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 128: 517-522.
- 83- Döğer FK, Meteöğlu İ, Tunçyürek P, Okyay P, Çevikel H. Does the EGFR and VEGF expression predict the prognosis in colon cancer ? *Eur Surg Res* 2006; 38: 540-544.
- 84- Durak D, Cingi A, Manukyan M, Kaya H, Aktan AÖ, Yeğen C. Kolorektal kanserlerde vasküler endotelial büyüme faktörü (VEBF) ekspresyonunun prognoz üzerine etkisi. *Marmara Med J.* 2005; 18: 53-58.

- 85-Easwaran V, Lee SH, Inge L, Guo L, Goldbeck C, Garret E, Wiesmann M, Garcia PD, Fuler JH, Chan V, Randazzo F, Gundel R, Warren RS, Escobedo J, Aukermann SL, Taylor RN, Fantl W.  $\beta$ -catenin regulates vascular endothelial growth factor expression in colon cancer. *Cancer Res* 2003; 63: 3145-3153.
- 86- Schellerer VS, Croner RS, Weinlander K, Hohenberger W, Stürzi M, Naschberger E. Endothelial cells of human colorectal cancer and healthy colon reveal phenotypic differences in culture. *Lab Invest* 2007; 87: 1159-1170.
- 87- Jung I, Gurzu S, Raica M, Cimpean AM, Szentirmay Z. The differences between the endothelial area marked with CD31 and CD105 in colorectal carcinomas by computer-assisted morphometrical analysis. *Rom J Morphol Embryol* 2009; 50: 239-243.
- 88- Minhajat R, Mori D, Yamasaki F, Sugita Y, Satoh T, Tokunaga O. Endoglin (CD105) expression in angiogenesis of colon cancer: analysis using tissue microarrays and comparison with other endothelial markers. *Virchows Arch* 2006; 448: 127-134.
- 89- Elzagheid A, Buhmedia A, Korkeila E, Collan Y, Syrjänen K, Pyrhönen S. Nuclear  $\beta$ -catenin expression as a prognostic factor inn advanced colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3866-3871.
- 90-Hugh TJ, Dillon SA, Taylor BA, Poston GJ, Kinsella AR. Cadherin-catenin expression in primary colorectal cancer: a survival analysis. *Br J Cancer* 1999; 80: 1046-1051.