

**T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
PATOLOĞI ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI**

**KOLON KANSERLERİNİN BİYOLOJİSİNDE VE PROGNOZUNDA
KANSER KÖK HÜCRELERİNİN ROLÜ**

Ali Fuat ÇİÇEK

J.Tbp.Yzb.

**Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Patoloji
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

ANKARA

2010

**T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI**

**KOLON KANSERLERİNİN BİYOLOJİSİNDE VE PROGNOZUNDA
KANSER KÖK HÜCRELERİNİN ROLÜ**

Ali Fuat ÇİÇEK

J.Tbp.Yzb.

**Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Patoloji Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıştır.**

TEZ DANIŞMANI

Önder ÖNGÜRÜ

Doç.Tbp.Yb.

ANKARA

2010

GATA Askeri Tıp Fakültesi Dekanlığına/GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne:

“Kolon kanserlerinin biyolojisinde ve prognozunda kanser kök hücrelerinin rolü” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Patoloji Anabilim Dalı’nda Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Doç.Tbp.Yb. Önder ÖNGÜRÜ

Üye : Prof.Tbp.Kd.Alb.Ömer GÜNHAN

Üye : Prof.Tbp.Kd.Alb.Murat DEMİRİZ

Üye : Prof.Tbp.Kd.Alb.Hüseyin BALOĞLU

ONAY:

J.Tbp.Yzb.Ali Fuat ÇİÇEK’in 05/07/2010 tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

M. Zeki BAYRAKTAR

Profesör Tabip Tümgeneral

GATA Komutanı Bilimsel Yardımcısı,

Askeri Tıp Fakültesi Dekanı ve

Eğitim Hastanesi Baştabibi

TEŞEKKÜR

“Kolon kanserlerinin biyolojisinde ve prognozunda kanser kök hücrelerinin rolü” konulu tez Gülhane askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 20 Haziran 2008 tarih ve PATO.AD.:3730-826-08/(Eğt.Öğt.Ks) 1579 sayılı yazısı ile verilmiş ve çalışılmaya başlanmıştır.

Bu tez çalışması; kolorektal kanserlerde tümördeki kök hücre yoğunluğu ile hastalığın prognozu arasındaki ilişkiyi göstermek amacıyla yapılmıştır.

Bu araştırmanın gerçekleştirilmesinde her türlü katkıyı sağlayan ve her aşamasında çaba sarfeden tez danışmanım Sayın Doç.Dr.Önder ÖNGÜRÜ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Her konuda desteğini hep yanımda hissettiğim, gerek bu araştırmanın gerçekleştirilmesinde gerekse eğitimimin her aşamasında değerli yardımlarını esirgemeyen ve hiçbir özveriden kaçınmayan Sayın Prof.Dr.Ömer GÜNHAN'a,

Mesleğimi en iyi şekilde uygulamamda bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, eğitimim sırasında her bakımdan bana destek olan başta Anabilim Dalı Başkanım Sayın Prof.Dr. Murat DEMİRİZ olmak üzere Patoloji Anabilim Dalı'nda görev yapan tüm öğretim üyelerine ve uzman doktorlara,

İmmünohistokimyasal çalışmaların yapılması sırasında yardımlarını gördüğüm başta Biyolog Büşra ASLAN ve teknisyen İmren URHAN olmak üzere Patoloji Anabilim Dalı'nın tüm personeline,

Tezin istatistiksel analizlerinin yapılmasındaki katkılarından dolayı Halk Sağlığı Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç.Dr. Selim KILIÇ'a ve Dr.Necmettin KOÇAK'a,

Hasta bilgilerine ulaşma konusundaki yardımlarından dolayı GATA Genel Cerr. AD Öğretim Üyesi Sayın Doç.Dr.Nail ERSÖZ'e,

Çalışmam sırasında desteklerini gördüğüm asistan arkadaşlarım Dr. Ertuğrul ÇELİK ve Dr. Altay Tolga ŞENTÜRK'e,

Manevi desteklerini her zaman hissettiğim aileme ve dostlarıma teşekkür ederim.

ÖZET

Ali Fuat ÇİÇEK. Kolon kanserlerinin biyolojisinde ve prognozunda kanser kök hücrelerinin rolü. GATA Patoloji Anabilim Dalı, Ankara, 2010.

Bu tez çalışması; kolorektal kanserlerde tümördeki kök hücre yoğunluğu ile hastalığın prognozu arasındaki ilişkiyi göstermek amacıyla yapılan immünohistokimyasal ve istatistiksel bulgulara dayanan retrospektif, klinikopatolojik bir araştırmadır. Tümördeki kök hücre yoğunluğunu tahmin etmede kullanılan ve kök hücre belirleyicisi olarak bilinen birçok yüzey molekülü vardır. Bunları parafin bloklarda immünohistokimyasal yöntemle saptamak mümkündür.

Bu amaçla 1995 ve 2007 yılları arasında tanı alan ve radikal cerrahi tedavi uygulanan 97 kolorektal kanser hastası geriye dönük incelenmiştir. Parafin bloklar Gülhane Askeri Tıp Akademisi Patoloji arşivinden, demografik hasta verileri ise Gülhane Askeri Tıp Akademisi Gastroenterolojik Cerrahi Kliniği hasta dosyalarından elde edilmiştir. Kök hücrelerini saptamak için immünohistokimyasal olarak CD133 ve Musashi-1 antikorları kullanılmıştır. Hasta yaşı, histopatolojik tanı, tümör yerleşim yeri, histolojik derece, TNM durumları, evre, hastaliksız yaşam ve sağ kalım oranları not edilmiştir. Daha sonra bu prognostik veriler ile immünohistokimyasal bulgular karşılaştırılmıştır.

Bulgularımıza göre; tüm vakalar hem CD133 hem de Musashi-1 antikoruna ile farklı oranlarda pozitif işaretlenmiştir. CD133 ekspresyonu ile sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir p değeri bulunmuştur ($p=0.043$). CD133 ekspresyonu artarken sağ kalım oranı azalmaktadır. Ayrıca Musashi-1 ekspresyonu arttığında, hastaliksız yaşam süresi azalmaktadır.

Sonuçta; kolorektal kanserlerde CD133 ve Musashi-1'in yüksek oranda ekspresyonu kötü prognostik bir faktör olabilir.

Anahtar kelimeler: Kanser kök hücresi, kolorektal kanser, CD133, Musashi-1, prognoz

SUMMARY

Ali Fuat ÇİÇEK. The role of cancer stem cells in biology and prognosis of colon cancers. Gulhane Military Medical Academy Department of Pathology, Ankara, 2010.

This study designed as retrospective clinicopathological observation based on immunohistochemical and statistical findings to show the relationship between the prognosis and the intensity of the stem cell population within the tumour in colorectal cancers. There is many cell surface molecules using to estimate the intensity of the stem cells within the tumour. They are known as “stem cell marker” . It is possible to determine these markers by immunohistochemically in paraffin embedded blocks. For this purpose, 97 colorectal carcinoma patients who had diagnosed and recieved radical sugical treatment between 1995 and 2007 years have been investigated retrospectively. Paraffin embedded blocks have been obtained from pathology archives of Gulhane Military Medical Academy and demographical patient datas have been obtained from the patient files of Gastroenterologic Surgery of Gulhane Military Medical Academy. Immunohistochemically CD133 and Musashi-1 antibody have been studied to determine the stem cells within the tumour. The age of the patients, histopathologic diagnosis, tumour location, grade, TNM status, clinical stage, disease-free-survival and the outcome have been noted. Then all of these prognostic datas have been compared with the immunohistochemical findings statistically. According to our findings, all cases have been immunoreactive for each antibody by different rates. There has been a significant statistical value ($p=0.043$) between CD133 expression and clinical outcome. While CD133 expression rate is increasing, clinical outcome rate has been decreasing. In addition, when Musashi-1 expression is high, disease-free-survival time has reduced. In conclusion, overexpression of both CD133 and Musashi-1 may be a poor prognostic factor in colorectal cancers.

Key words: Cancer stem cell, colorectal cancer, CD133, Musashi-1, prognosis

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
İNGİLİZCE ÖZET.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİLLER.....	ix
TABLolar.....	x
I GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
1.1 Giriş.....	1
1.2 Amaç.....	2
II GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Kök Hücreler ve Özellikleri.....	3
2.2 Kanser Kök Hücreleri.....	6
2.2.1 Kök Hücrelerin Aktivasyonu ve Kanser.....	7
2.2.2 Kanser Kök Hücrelerinin izolasyonu ve Tanımlanması.....	8
2.3 Kalın Bağırsağın Histolojisi.....	10
2.4 Kolon Kanserinin Epidemiyolojisi.....	11
2.5 Kolon Kanserinin Etiyolojisi.....	12
2.6 Kolon Kanserinde Klinik Bulgular.....	16
2.6 Tanı Yöntemleri ve Tümör Belirteçleri.....	16
2.8 Patoloji.....	17
2.9 Evreleme.....	18
2.10 Prognoz.....	20
2.11 Kolonda Tümör Gelişimi Mekanizmaları.....	24
III GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1 Araştırmanın Şekli.....	29
3.2 Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Özellikleri.....	29
3.3 Araştırmanın Örnekleme.....	29
3.4 Verilerin Toplanması.....	29
3.5 Verilerin Değerlendirilmesi.....	31
IV BULGULAR.....	32
4.1 Hasta Sayısı ve Klinik Özellikleri.....	32
4.2 Histolojik Derece.....	35
4.3 TNM Durumları ve Prognoz.....	35
4.4 İmmünohistokimyasal Bulgular.....	36
4.5 İmmünohistokimyasal Bulgular ile Prognostik Verilerin Karşılaştırılması.....	41
V TARTIŞMA.....	55
VI SONUÇ.....	59
KAYNAKLAR.....	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
GATA	: Gülhane Askeri Tıp Akademisi
TA	: Transiyent Amplifiye Edici
KKH	: Kanser Kök Hücresi
CC-IC	: Kolon Kanseri Başlatıcı Hücre
İHS	: İmmünohistokimya Skoru
KRK	: Kolorektal Kanser
FAP	: Familyal Adenomatöz Polipozis
HNPCC	: Herediter Nonpolipozis Kolon Kanseri
CEA	: Karsinoembriyonik Antijen
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
AJCC	: American Joint Committee on Cancer

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL	SAYFA
2.1 Kök hücre fonksiyonunun temel prensibi	3
2.2 Embriyonun geç blastokist aşamasına kadar normal gelişimsel evreleri	4
2.3 Normal doku yenilenmesinde kök hücrelerin rolü	5
2.4 Histolojik derece	18
2.5 İnsan kolorektal karsinogenezinde adenoma-karsinoma modeli	24
4.1 Musashi-1 antikorunun boyanma yoğunluğu	37
4.2 CD133 antikorunun boyanma yoğunluğu	39
4.3 Kaplan-Meier eğrisinde Musashi-1 ekspresyonunun yaşam süresi ile ilişkisi	53
4.4 Kaplan-Meier eğrisinde CD133 ekspresyonunun yaşam süresi ile ilişkisi	54

TABLolar DİZİNİ

TABLO	SAYFA
2.1 Kanser kök hücrelerini tanımlamak ve izole etmek için kullanılan yüzey belirleyicileri	10
2.2 Evreleme Sistemi (AJCC-2010) ve prognostik gruplar	20
2.3 Evrelere göre beklenen ortalama 5 yıllık sağ kalım oranları	23
3.1 Boyanma yoğunluğu ve yaygınlığına göre İHS ve grupların belirlenmesi	31
4.1 Olguların yaş ve klinik özellikleri	33
4.2 Histolojik derecenin olgulardaki dağılımı.	35
4.3 TNM durumları ve klinik evre dağılımları	36
4.4 Musashi-1'in yoğunluk skoru yüzdeleri	36
4.5 Musashi-1'in yaygınlık skoru yüzdeleri	38
4.6 Musashi-1 immünohistokimya skoru ve kategorizasyonu	42
4.7 CD133'ün yoğunluk skoru yüzdeleri	40
4.8 CD133'ün yaygınlık skoru yüzdeleri	40
4.9 CD133'ün immünohistokimya skoru ve kategorizasyonu	41
4.10 Musashi-1 ekspresyonunun histolojik derece ile ilişkisi	42
4.11 CD133 ekspresyonunun histolojik derece ile ilişkisi	43
4.12 Musashi-1 ekspresyonunun tümörün invazyon derinliği (T) ile ilişkisi	44
4.13 CD133 ekspresyonunun tümörün invazyon derinliği (T) ile ilişkisi	45
4.14 Musashi-1 ekspresyonunun lenf nodu metastazı (N) ile ilişkisi	46
4.15 CD133 ekspresyonunun lenf nodu metastazı (N) ile ilişkisi	47
4.16 Musashi-1 ekspresyonunun uzak metastaz (M) ile ilişkisi	48
4.17 CD133 ekspresyonunun uzak metastaz (M) ile ilişkisi	48
4.18 Musashi-1 ekspresyonunun evre ile ilişkisi	49
4.19 CD133 ekspresyonunun evre ile ilişkisi	49
4.20 Musashi-1 ekspresyonunun tümör lokalizasyonu ile ilişkisi	50
4.21 CD133 ekspresyonunun tümör lokalizasyonu ile ilişkisi	51
4.22 Musashi-1 ekspresyonunun sağ kalım ile ilişkisi	51
4.23 CD133 ile ekspresyonunun sağ kalım ile ilişkisi	52
4.24 Musashi-1 ekspresyonunun ortalama yaşam süresi ile ilişkisi	52
4.25 CD133 ekspresyonunun ortalama yaşam süresi ile ilişkisi	53

I GİRİŞ ve AMAÇ

1.1 Giriş

Kolorektal kanser, batı dünyasında en sık görülen 3 ncü ve ölüme neden olma açısından 2 nci sırada yer alan kanser türüdür. Her yıl tüm dünyada ortalama 655.000 kişi bu hastalık nedeniyle yaşamını yitirmektedir. Bu insidans genellikle sedanter yaşam ve yüksek kalorili diyetin yaygın görüldüğü gelişmiş ülkelerde giderek artmaktadır.

Kolon kanserleri aynı zamanda, son yıllarda popüleritesi giderek artan kök hücre-karsinogenez ilişkisinin en çok araştırıldığı kanser türlerinin başında gelmektedir. Kök hücreler uzun yaşam süreleri ve kendi kendini yenileyebilme özellikleri nedeniyle tümörojenik mutasyonların doğal hedefidirler. Ayrıca artık kanserin bir kök hücre hastalığı olduğuna ve tümörlerin sadece kök hücrelerden geliştiğine inanılmaktadır. Örneğin bu konuyla ilgili olarak yapılan fare deneylerinde insan kolon tümör hücrelerinden çeşitli yöntemler ile elde edilen kök hücreler immün sistemi baskılanmış hayvanlara enjekte edildiğinde deney hayvanında yeni tümör geliştiği gösterilmiştir.

Kök hücrelerinin, tümörün hem başlangıç aşamasında hem de invazyon ve metastaz yapma aşamasında rolü oldukları düşünülmektedir. Bu nedenle, birçok araştırmacı tümördeki kök hücre yoğunluğu ile hastaliksız sağ kalım süresi arasında ters bir orantı olduğunu savunurken, bazı yazarlar ise kök hücre yoğunluğunun prognoz açısından bağımsız bir faktör olmadığına inanmaktadır.

Kanser kök hücreleri bir tümörü meydana getiren neoplastik hücrelerin tamamını değil, sadece bir alt grubunu oluşturmaktadır. Bu kök hücrelerini, parafin bloklardan hazırlanan kesitlerde immünohistokimyasal olarak birtakım belirleyiciler kullanarak göstermek mümkündür.

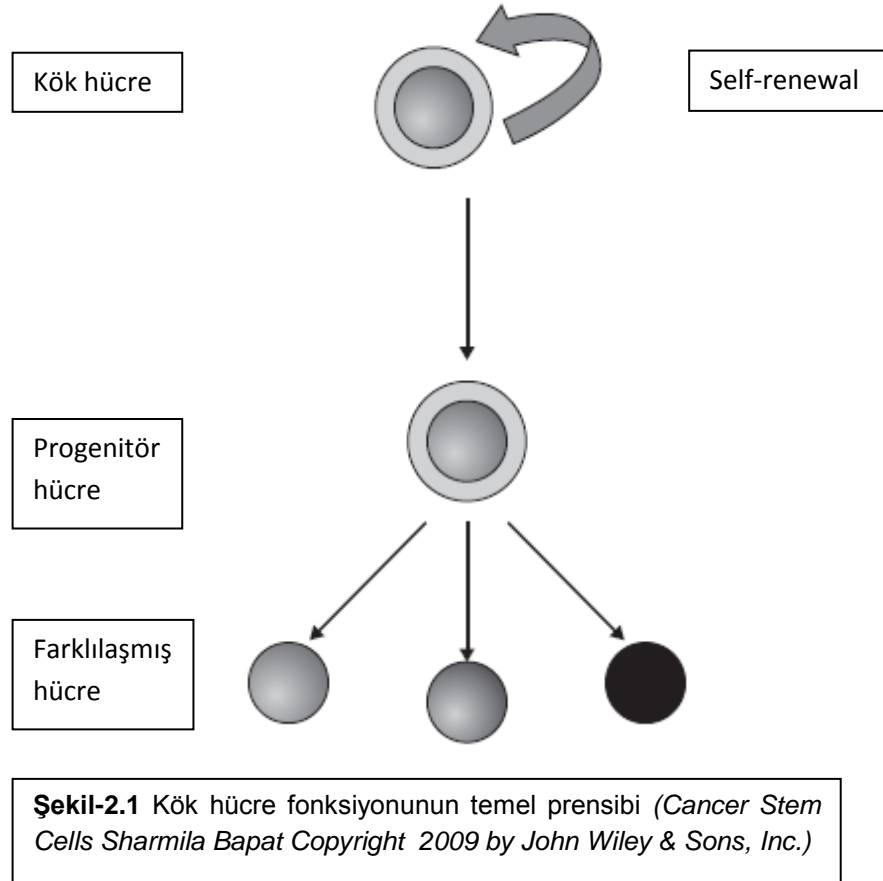
1.2 Amaç

Retrospektif klinikopatolojik bir çalışma olarak planlanan bu çalışmanın amacı, İmmünohistokimyasal olarak CD133 ve Musashi-1 antikoları kullanılarak kolorektal kanserlerde kök hücre populasyonunun araştırılması ve histolojik derece, tümör evresi ve prognoz ile ilişkisinin ortaya konmasıdır.

II GENEL BİLGİLER

2.1 Kök Hücreler ve Özellikleri

Kök hücreler, yaşam boyu hayatta kalabilme, yenilenebilme, progenitör hücrelere farklılaşabilme gibi özelliklere sahip olan, her organda var oldukları düşünülen, asıl görevleri tamir ve vücutta zarar gören dokuların yenilenebilmesini sağlamak olan unspecific hücrelerdir. (şekil 2.1)



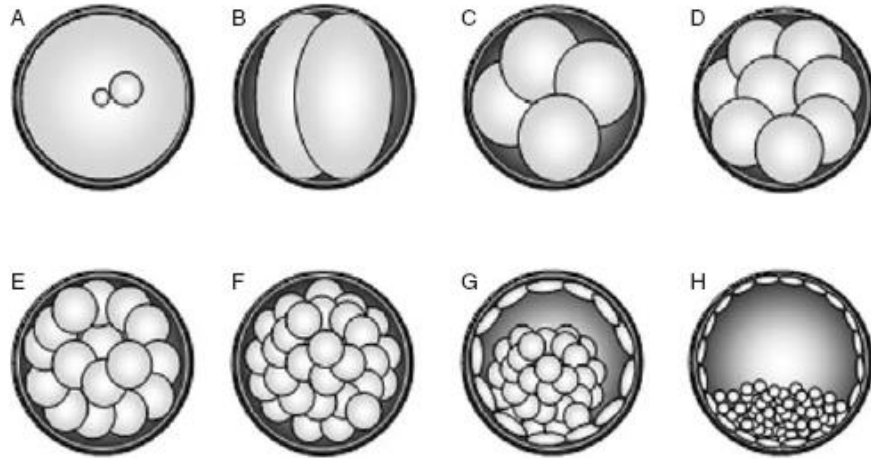
Kanserin bir kök hücre hastalığı olma teorisi ilk olarak 20.yy başlarında İskoç embriyolojist John Beard tarafından ortaya atılan "kanserin germ hücre hipotezi"ne dayanır. Bu teoriye göre tümör hücreleri embriyoyu oluşturan hücrelere benzetilmektedir.

Erken blastokist, gelişim aşamasında 2 farklı hücre grubuna sahiptir (şekil2.2).

1. İç hücre kitlesi: Embriyoyu oluşturur.

2. Dış hücre kitlesi: Embriyonun uterus içine implantasyonunu sağlayan ve plasentaya dönüşen, tıpkı tümör hücreleri gibi invazyon ve metastaz yapabilme yeteneğine sahip trofoblastik hücrelerdir.

Beard, embriyo ve annedeki pankreatik proteolitik enzimlerin, trofoblastik hücrelerin çevre dokulara invazyonunu engellediğini savunmuştur. Bu hipotezini de bir pankreatik enzim olan tripsin enjeksiyonu sayesinde tümör hücrelerinin yıkılması ile desteklemiştir.



Şekil-2.2 Embriyonun geç blastokist aşamasına kadar normal gelişimsel evreleri: A)Tek hücreli zigot B)İki hücreli embriyo C)Dört hücreli embriyo D)Erken morula E)Kompakt morula F) Geç morula G) Erken blastokist H)Geç blastokist (Cancer Stem Cells Sharmila Bapat Copyright 2009 by John Wiley & Sons, Inc.)

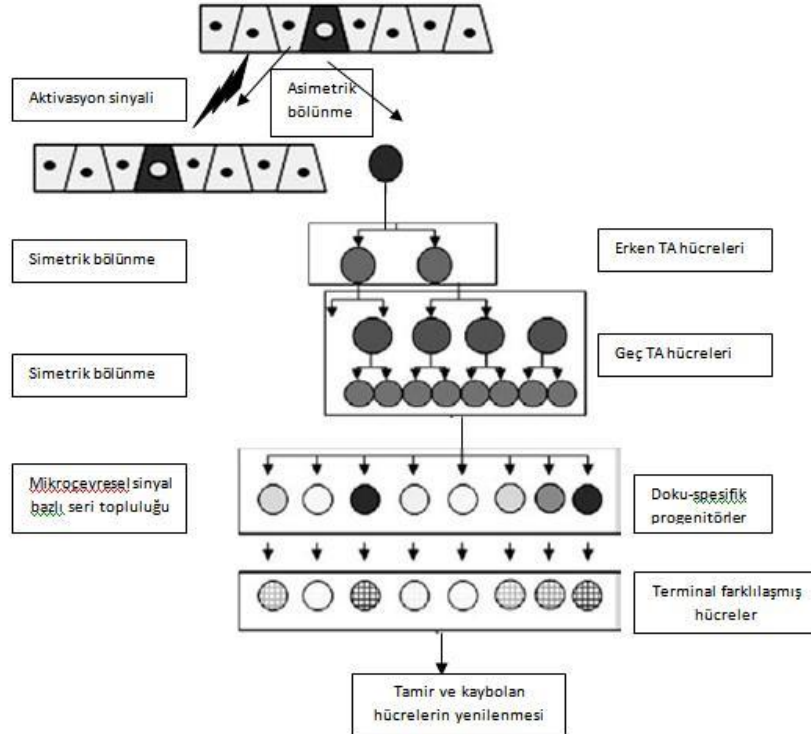
Tek hücreli zigotun insan hayatındaki ilk kök hücre olduğu düşünülür ve tüm bir organizmayı oluşturabilme yeteneği nedeniyle “totipotent” olarak tanımlanır. Embriyonik gelişimin ileriki aşamalarında ise rejenerasyon kabiliyeti azaldıkça daha spesifik kök hücreler (pluripotent) ortaya çıkar. Yeni doğan bir bebekte ise kök hücrelerin çoğunluğunu multipotent kök hücreler oluşturur. Bununla birlikte, bazı kök hücreler (kemik iliğinden derive kök hücreler gibi) yetişkin hayatta bile pluripotensliklerini korurlar.

Kök hücrelerin postembriyonik hayattaki en önemli fonksiyonlarından biri tamir ve zarar gören dokunun yenilenmesidir. Bu fonksiyonu sağlayan kök hücreler, yetişkin hayatta da yaşamlarını sürdüren, her organa dağılan ve her organda kendi biyoortamlarını kurup fonksiyon gösteren, özellik kazanmamış hücrelerdir.

Kök hücrelerin özellikleri:

1. Self-renewal (kendi kendini yenileyebilme)
2. Differentiation (farklılaşma)
3. Homeostasis (bir doku veya organda farklılaşma ve kendi kendini yenileme sürecinin düzenlenmesi ve ayarlanması)

Bu özelliklerin tek bir kombinasyonu, kök hücreye bir organizmada yaşam boyu süreklilik gösteren ve dahası hemen hemen gelişen tüm dokuların oluşumunda, fetal hayattan yetişkin hayata kadar devam eden bir rol sağlar. Kök hücrelerin karakteristik özelliği olan "Self-renewal" sayesinde kök hücre havuzundaki hücrelerin devamlılığı sağlanır. Asimetrik bölünme ile kök hücrelerin bir kısmı kök hücre havuzu için gerekli olan kök hücrelere dönüşüp, bir sonraki mikroçevresel uyarıya kadar sessiz kalırken; bir kısmı da progenitör hücrelere dönüşerek farklılaşma yolağına girer. Progenitör hücreler doku tamiri ve yenilenmesi için gerekli olan terminal farklılaşma özelliğine sahip olan "transit-amplifying" (TA) hücrelerine farklılaşırlar. TA hücreleri de doku spesifik progenitör hücrelerine farklılaşırlar. (Şekil-2.3)



Şekil-2.3 Normal doku yenilenmesinde kök hücrelerin rolü (*Cancer Stem Cells Sharmila Bapat Copyright 2009 by John Wiley & Sons*)

Kök hücre bölünme hızı her dokuya göre farklılık gösterir. Örneğin kemik iliğindeki kök hücreler nispeten diğer dokulara göre daha hızlı bölünme oranlarına sahiptir. Beyindeki kök hücreler ise çoğunlukla sessiz konumdadırlar, çünkü beyinde yaralanma sinyalleri ve hormonal uyarılar diğer dokulara göre çok azdır. Deri ve kolonda ise yavaş ancak devamlı bir büyüme oranı söz konusudur. Yetişkin bir insandaki kök hücreler organizmanın normal büyümesi ve zarar gören dokuların yenilenmesi için gerektiği kadar bölünecek şekilde sıkıca kontrol edilirler. Kök hücreler embriyonik hayattan yetişkin hayata gelene kadar sürekli olarak farklılaşma ve de yenilenme süreçleri içindedirler. Bu süreçler içinde de farklılaşma kapasitelerinde bir azalma söz konusudur. Totipotent tek hücreli embriyonun pluripotent İCM (inner cell mass) hücrelerine farklılaşması bunun bir kanıtıdır. Pluripotensite, somatik hücre topluluklarının oluşması ile yerini doku-spesifik multipotent özelliğe bırakır. Kendi kendini yenileme ile farklılaşma özellikleri arasındaki kritik balans, transkripsiyonel aktivasyon ve inaktivasyon mekanizmalarını düzenleyen gen ekspresyon programları ile sağlanır. Bu özellik, hücreye pluripotent basamakta kalmasını devam ettirmesini sağlar aynı zamanda da daha özel basamaklara farklılaşabilmesine izin verir. Bu homeostatik mekanizmaların bozulması kansere yol açar.

2.2 Kanser Kök Hücreleri

Birçok kanser hücresi hızlı bölünebilme özelliğine sahiptir ve in vitro hücre kültürlerinde ölümsüz hücreler olarak gelişim gösterir. Bu özellikleri embriyonik ve yetişkin kök hücrelerine benzer. Önceden embriyonel karsinoma ve teratokarsinoma hücreleri embriyonik kök hücrelerinin gelişim ve farklılaşma süreçlerini anlamak için kullanılmıştır.⁽¹⁾ 1976 yılında Beatrice Mintz ve Ralph Brinster teratokarsinomların normal farede de gelişebileceğini gösterdiler.^(2,3)

Kanser kök hücreleri (KKH) ilk olarak John Dick ve ark. tarafından akut lenfoblastik lösemi hücreleri arasından gösterilmiştir.⁽⁴⁾ Bu, birçok bilim adamının kansere bakış açısını değiştirmiştir. Daha sonradan KKH'leri bazı solid tümörlerde de gösterilmiştir. KKH'lerinin bir tümörü oluşturan hücrelerin

yaklaşık olarak %1'ini temsil ettiği düşünülür. Fakat aynı zamanda sadece bu hücreler yeni tümör oluşturabilme kabiliyetine sahiptir. Normal kök hücrelerini sağlıklı dokulardan izole edebilmek zordur. Ancak kanser kök hücrelerini hayvan modellerinde başka dokulara implante ederek diğer tümör hücrelerinden izole edebilmek mümkündür.^(5,6)

2.2.1 Kök Hücrelerin Aktivasyonu ve Kanser

Modern tıp biliminde kanserin genetik bir hastalık olduğu kabul görmektedir. Kanserli hastaların bazı genlerinde germline mutasyonları tespit edilmiştir. Bu tümör süpresör genlerin kanser oluşumunu önlemede kritik rol oynadığı düşünülür. Bununla birlikte *RB* veya *TP53* gibi genlerin insan vücudunda birçok hücrede eksprese edilmesine rağmen niçin sadece retinoblastom veya meme kanseri gibi kanserlere yol açtığı çok net değildir. Bir teoriye göre embriyonel dokular, hormonal kontrol altındaki dokular veya deri ve gastrointestinal sistem gibi sürekli yenilenen dokularda kanser kök hücrelerinin aktivasyonunun bu tümör süpresör genlerdeki mutasyonlar sonucunda olduğu düşünülmektedir.⁽⁷⁾ Dahası genetik veya epigenetik faktörler yüzünden dokularda bulunan farklı kök hücrelerin onkojenik potansiyeli kişiden kişiye ve hatta aynı kişideki farklı dokular arasında bile farklılık gösterir. Bu noktada şu soru akla gelmektedir: *“Kanser kök hücreleri dokularda nasıl ortaya çıkmakta ve yeni bir organ (yani tümör) oluşmasını nasıl başlatmaktadır?”*

Kansere yol açan kanser kök hücrelerinin dokulardaki muhtemel kaynakları:

- Dokularda normalde var olan kök hücrelerin transformasyonu
- Kendi kendini yenileyebilme özelliğini tekrar kazanan erken progenitörlerin transformasyonu
- Transiyent-amplifying progenitör hücrelerin veya farklılaşmış (diferansiye) somatik hücrelerin seri mutasyonlar sonucunda ölümsüz hale gelmeleri (de-diferansiyasyon)
- Dolaşımda bulunan kemik iliği kökenli kök hücreler ile doku kaynaklı kök hücrelerin füzyonu

Normal kök hücreler ile kanser kök hücrelerinin ortak özellikleri:

- Asimetrik bölünme (kendi kendini yenileme) özelliği sayesinde hem farklılaşmaya giden bir progenitör hücre, hem de kendisinin aynısı olan ve sessiz kalan bir kök hücre oluşturabilmek. Böylece bir hücre kitlesi ortaya çıkarabilmek.

- Kendini yenileyebilme mekanizmalarının düzenlenmesinin benzer sinyal yolları (Wnt, Sonic Hedgehog ve Notch) ile ve benzer epigenetik basamaklarda olması (*BMI-1* ve *EZH2* gibi polycomb genler)

- Pluripotensliği ve hücrelölümsüzlüğü başlatan birtakım faktörlerin (oct4, nanog, sox-2 ve kanser testis-spesifik antijen (CTA)) ekspresyonu

- Progenitör hücreler ve farklılaşmaya giden hücreler gibi hücrel ürünlerin belirli bir hiyerarşik düzen içinde sıralanmaları

- Hücrel yaşam süresini arttıran gelişmiş telomeraz aktiviteleri

- Spesifik büyüme inhibisyonu yapan ilaçlara karşı hücrel direnci sağlayan ABC transporterlarının ekspresyonu

- Büyümeyi kolaylaştıran çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinlerin salgılanması

- Anjiyogenezi stimüle eden anjiyopoetik faktörlerin salgılanması

- Kök hücre belirleyicileri olarak tanımlanan CXCR4, CD133, $\alpha 6$ -integrin, c-kit, c-met ve LIF-R gibi yüzey reseptörlerinin ekspresyonu.

2.2.2Kanser Kök Hücrelerinin İzolasyonu ve Tanımlanması

Bütün tümörlerin, kendi kendini yenileme kabiliyetine sahip kök hücreler, transiyent amplifiye (TA) progenitör hücreler ve daha kısa yaşam süresi ve daha sınırlı farklılaşma özelliğine sahip olan proliferatif hücre topluluklarının karışımından meydana geldiğine inanılır. Bu nedenle kanser biyolojisinde kök hücreleri tanımlamak ve izole etmek oldukça tartışmalı konuların başında gelmektedir. Kök hücre biyolojisi alanındaki geleneksel

çalışmalar hematopoetik kök hücreler üzerine odaklanmıştır. Çünkü hematopoetik kök hücreler için belirleyici olarak iyi tanımlanmış hücre yüzey molekülleri bulunmaktadır.^(8,9) Bundan sonraki çalışmalar, “cluster of differentiation” (CD) olarak da bilinen yüzey moleküllerini kullanarak lösemik kök hücrelerini belirlemeye yönelik olmuştur.^(10,11) Yapılan bir çalışmada sınırlandırıcı dilüsyon analiz yöntemi kullanılarak Akut miyeloid lösemide hastalığı başlatıcı kök hücreler tanımlanmıştır.⁽⁴⁾ Bu çalışma göstermiştir ki; AML'deki malign lösemik kök hücreleri muhtemelen immatür kemik iliği hücrelerinden köken almaktadır. Çünkü benzer yüzey moleküllerini (CD34⁺/CD38⁻) eksprese etmektedirler. Benzer şekilde multiple miyelomada CD138⁺/CD34⁻ hücrelerin klonal oldukları in vitro olarak gösterilmiş ayrıca immün sistemi baskılanmış farelerde yeni tümör oluşumuna neden oldukları ispatlanmıştır⁽¹²⁾. Son zamanlarda yapılan bir başka çalışmada ise AML'de CD34⁺/CD38⁻ hücrelerin aynı zamanda CD96⁺/CD90⁻ oldukları ve bu özelliğin normal kemik iliği hücrelerinde bulunmadığı ortaya konmuştur. ⁽¹³⁾

Hematopoetik sistemden sonra deri, GİS, testis ve solunum epiteli gibi hücresel turnover'ı yüksek dokularda; daha sonra da solid ve daha yavaş büyüyen dokularda da kök hücrelerin varlığı ortaya konmuştur.^(14,15,16) Kök hücreler tarafından eksprese edilen spesifik yüzey moleküllerinin (CXCR4, CD133, EPCAM, CD44 vb. tablo-2.1) tanımlanması, tümör dokusu içinde az miktarda bulunan kök hücrelerin diğer tümör hücrelerinden ayırt edilmesine olanak sağlamaktadır. Solid tümörlerde Al-Hajj ve ark. insandaki meme kanseri hücrelerinden bazılarının farelerde de tümöre neden olabileceğini göstermiştir. ⁽¹⁷⁾ İmmünofenotipik olarak CD44⁺/CD24^{lo/-} olarak tanımlanan bu kök hücrelerin diğer tümör hücrelerine göre çok daha az sayıdaki hücre topluluğu ile fare deneylerinde yeni tümör oluşturabildiği gözlenmiştir. Genellikle 10⁶ hücre sayısından oluşan bir hücre yoğunluğu ile deney hayvanında tümör oluşturulabilirken; CD44⁺/CD24^{lo/-} kök hücrelerin sadece 200 tanesi ile yeni tümör oluşturulabilmiştir. Benzer şekilde beyin tümörlerinde CD133⁺ hücrelerin çok azı ile (yaklaşık 100 hücre) deneysel olarak tümör oluşturmak mümkün olmuştur. ⁽¹⁸⁾ Kanser kök hücrelerinin

tanımlanması ve izole edilmesinde kullanılan bazı hücre yüzey belirteçleri tabloda gösterilmiştir.

Tablo-2.1: Kanser kök hücrelerini tanımlamak ve izole etmek için kullanılan yüzey belirleyicileri

Kanser tipi	Yüzey belirleyicileri	Referanslar
AML	CD34 ⁺ , CD38 ⁻ CD96 ⁺ , CD90 ⁻	13
Nöral	CD133 ⁺	18
Meme	CD44 ⁺ , Cd24 ⁻	17
Prostat	CD133 ⁺ , β-integrin	113
Akciğer	Scal ⁺ , CD45 ⁻ , CD31 ⁻ CD34 ⁺	114
Hepatosellüler	CD133 ⁺	115
Pankreas	CD44 ⁺ , CD24 ⁻ , ESA ⁺	116
Kolorektal	EpCAM ^{high} , CD44 ⁺ Musashi-1	93
Kolon	CD133 ⁺	96, 92
Karaciğer	CD133 ⁺	115

2.3 Kalın Bağırsağın Histolojisi

Kalın bağırsak duvarı 4 tabakadan meydana gelmektedir: 1)Mukoza, 2)Submukoza, 3)Muskularis propria ve 4)Seroza. Mukoza ise epitel, lamina propria ve muskularis mukoza olmak üzere üç tabakaya ayrılır.

2.3.1 Tunika Mukoza

Mukozal yüzey tek sıralı kolumnar veya kuboidal epitelle döşeli olup, emici hücreler ve goblet hücrelerini içerir. Proksimal kolonda mukozada yer alan Paneth hücrelerinde, lizozim, epidermal büyüme faktörü gibi ürünler içeren çok sayıda eozinofilik sekretuar granülü bulunur. Kolonun endokrin hücreleri proksimal ve distal kolonda yerleşmişlerdir ⁽¹⁹⁾.

Lamina propriada kollojen lifler, düz kas demetleri, sinirler, kapillerler ve lenfatikler arasında seyrek dağılım gösteren lenfosit, plazma hücresi, histiosit ve mast hücreleri mevcuttur. Lamina propriada, germinal merkezleri olan, boyutları yaş ile değişen lenfoid nodüller bulunabilir ⁽¹⁹⁾.

Muskularis mukoza, kapillerler ve lenfatiklerle sarılı kas ve sinir lifleri içerir.

2.3.2Submukoza

Lamina proprianın hücresel içeriğine sahip, nöral pleksusu (Meissner) bulunan, gevşek bağ dokusundan oluşmuş bir tabakadır ⁽¹⁹⁾.

2.3.3Muskularis Propriya

İçte sirküler, dışta longitudinal kas tabakalarından oluşmuştur ve bunların arasında miyenterik (Auerbach) pleksus mevcuttur.

2.3.4Tunika Seroza

Tek sıralı yassılaştırmış ya da küboidal mezotelyal hücreler ile döşeli peritondan ve fibroelastik dokudan oluşur. Kan damarları ve lenfatikler içerir. Çekum, appendiks, transvers kolon ve sigmoid kolonu tam olarak sarar. İnen ve çıkan kolon peritonun arkasında kalır.

2.4 Kolon Kanseri Epidemiyolojisi

Kolorektal kanser dünyada sıklık bakımından üçüncü ve kanserden ölüm nedenleri sıralamasında erkeklerde akciğer kanserinden, kadınlarda meme kanserinden sonra ikinci sırayı almaktadır ⁽²⁰⁾. Gelişmiş toplumlarda görülme oranı daha fazladır. ⁽²¹⁾ En yüksek görülme oranları Avustralya, ABD ve Yeni Zelanda'da; en düşük oranlar ise Hindistan, Güney Amerika ve Ortadoğu ülkelerinde görülmektedir. ⁽²²⁾ 1999 yılı Sağlık Bakanlığı verilerine göre ülkemizde kolorektal kanserler tüm kanserler arasında insidans açısından erkeklerde dördüncü, kadınlarda ise ikinci sırada gelmektedir. İnsidans, erkeklerde yüz binde 1.68, kadınlarda yüz binde 1.28 olarak bildirilmektedir. ⁽²³⁾ Kolon kanser sıklığı aynı ülkede yörelere ve topluluklara göre farklılıklar göstermektedir. Bu farklılığın diyet ve çevresel faktörlerin farklılık göstermesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Düşük riskli bölgelerden yüksek riskli bölgelere göç edenlerde risk artmaktadır. ^(21,24)

Kolon kanserinin üçte ikisi sol kolonda, üçte biri sağ kolonda görülmekte, %3'ünde aynı anda birden fazla odakta birden belirmektedir.

⁽²¹⁾Bizim çalışmamızdaki 97 olgunun

Kolorektal kanserin erkek/kadın oranı 1,34'tür. Hayat boyu kolorektal kanser görülme oranı erkeklerde % 6.14, kadınlarda % 5.92'dir. ⁽²¹⁾

Yaşın ilerlemesi ile kolon kanseri gelişme riski arasında doğru orantı vardır. Genel popülasyonda 40 yaşından sonra kolon kanser gelişme riski artmaya başlar ve her dekatta katlanarak artar. Kolon kanserinin %90'dan fazlası 50 yaşından sonra geliştiğinden, tarama programlarını başlatma yaşı buna göre belirlenmiştir. En sık hastalık görülme yaşı 60-65'tir ve ortalama tanı yaşı 62'dir ^(21,24)

2.5. Kolon Kanseri Etyolojisi

Kolon kanseri gelişiminde şu faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir:

Diyet: Kolon kanseri, yağ tüketimi fazla olan toplumlarda daha sık görülür. Kolon kanseri görülme sıklığı yüksek olan batı ülkelerinde ortalama yağ oranı, toplam kalorinin %40-50'sini oluştururken, düşük sıklıkta görülen toplumlarda yalnızca %10-15'ini oluşturmaktadır. Diyetle yağ alımıyla karaciğer tarafından kolesterol ve safra asidi sentezi artar. Kolon bakterileri bu bileşikleri sekonder safra asitlerine, kolesterol metabolitlerine ve diğer toksik metabolik bileşiklere dönüştürür. Safra asitleri ve serbest yağ asitlerinin kolon mukozasında hasar yaptığı ve epitel hücrelerinin proliferatif aktivitesinde artışa yol açtığı gösterilmiştir. Balık ve tavuk eti yerine kırmızı et tüketiminin artması, kolon kanseri insidansında artmayla ilişkili bulunmuştur. ^(24,26-28) Epidemiyolojik çalışmalarda sebze ve meyvenin bol tüketimi, kolon kanseri riskiyle ters orantılıdır. Diyetteki lif, dışkı hacmini ve buna bağlı transit hızını arttırarak intraluminal karsinojenlerin mukoza ile temasını azaltır. Ayrıca lifli gıdalar, barsaktaki karsinojen safra asitlerinin konsantrasyonunu azaltırlar. ^(29,21,26)

Sınırlı sayıda veri, vitamin A ve vitamin C'den zengin beslenmenin kolon kanserinden korunmada antioksidan etki yaptığını göstermiştir. ⁽²⁵⁾ Diyetteki folat, DNA metilasyonu, sentez ve tamirini etkileyebilir. Kolon

mukozası gibi hızlı çoğalan dokularda DNA proçesindeki hasar karsinogenezi artırabilir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda folatın diyete eklenmesiyle kolorektal adenom ve kanser riskini azalttığı gösterilmiştir. Fazla miktarda alkol tüketimi, güçlü antifolat etki göstererek yüksek kolorektal adenokarsinomu riskiyle ilişkilidir ⁽³⁰⁾ Vitamin D ve metabolitlerinin kolonda karsinogenezi önlediğini destekleyen çalışmalar vardır. Kalsiyum ve D vitamini büyük oranda birlikte etki ederek kolonda adenom rekürrens riskini azaltırlar. Son yapılan randomize çalışmalarda, kalsiyum eklenmesiyle tekrarlayan kolorektal adenom riskinde azalma olduğu saptanmıştır.

Kalsiyumun, sekonder safra asitlerini ve iyonize yağ asitlerini bağlayarak etkili olduğu düşünölmektedir ^(26,30,31) Ayrıca, kalsiyum eklenmesiyle adenomatöz polipli yaşlı hastaların mukozasında ornitin dekarboksilazın yükselmesi önlenmiştir. Ornitin dekarboksilaz, poliamin biyosentezinde yer alan ve kanser gelişim süreçlerinde yükselen bir enzimdir ^(21,25,32)

Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçlar: Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların kanserden koruma mekanizması bilinmemekle birlikte, prelinik ve klinik kanıtlar nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların prostaglandin sentezini azaltarak kolorektal kanser insidansını azalttığını göstermektedir. Klinik vaka kontrollü çalışmalarda aspirin ve diğer nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçları alanlarda, almayanlara göre kolorektal kanserle ilişkili mortalitede % 40-50 azalma olduğu gösterilmiştir. ⁽³³⁻³⁵⁾

İnsülin Direnci: Kolorektal karsinogenezin abdominal obezite ve insülin direnciyle ilişkili olduğu düşünölmektedir. İnsülin normal mukozada apoptozu azaltır ve böylece kolorektal adenom gelişimini uyararak adenom-kanser gelişme zincirini erken uyarabilir. ^(36,37)

Obezite: Epidemiyolojik çalışmalarda bel çevresi, bel-kalça oranı ve kolon kanseri arasında ilişki gösterilmiştir. Fiziksel aktivite de kolon kanseriyle ters ilişkili bulunmuştur. ^(36,38)

Adiponektin, adipoz doku tarafından salgılanan yakın zamanda tanımlanmış bir mediatör olup obezitede düzeyi azalmaktadır. Kolonik epitelyal kanser hücreleri üzerine proinflamatuvar ve büyümeyi uyarıcı etkileri

vardır. Yapılan bir çalışmada kolorektal adenomların sayısı ve adenomun boyutu, artmış visseral yağ birikimi ve azalmış plazma adiponektin düzeyi ile ilişkili bulunmuştur. ⁽³⁶⁾

Çevresel Faktörler: Asya, Afrika ve Güney Amerika gibi kolon kanserinin az görüldüğü bölgelerden, sık görüldüğü bölgelere göç edenlerde kolon kanseri görülme sıklığının göç ettikleri bölgede yaşayanların düzeyine çıkması, çevresel faktörlerin etyolojide önemli rolü olduğunu göstermektedir. Çok düşük kolon kanser sıklığı bulunan Japonya'dan ABD'ye göç edenlerde kolon kanseri görülme sıklığının 2,5-3 kat arttığı belirlenmiştir. ^(29,21)

Sigara: Japon erkek ve kadınlarını içeren bir çalışmada, sigara öyküsü ile adenom gelişme riskinin 1,6-4,5 kat arttığı bildirilmiştir. ⁽³⁹⁾

İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı: Özellikle ülseratif koliti olanlarda daha belirgin olmak üzere inflamatuvar barsak hastalığı olanlarda risk artmıştır. Distal kolitte risk en düşüktür. Bir metaanalizde, kanser riski tüm ülseratif kolitli hastalarda %3,7 iken pankolitlilerde %5,4 bulunmuştur. Uzun süreli kolit, yaygın tutulum (pankolit), ailede kolorektal kanser öyküsü olması, primer sklerozan kolanjit ve hastalığın süresi risk artışında önemli bulunmuştur. Toplam risk, hastalık süresi 8-10 yıl olanlarda %2, 20 yılı geçenlerde %8 ve 30 yıl olanlarda %18-20 olarak bulunmuştur. Sekiz yılı aşan yaygın kolit varlığında total proktokolektomi düşünülmelidir. ^(29,26,40)

Kolon kanseri, Crohn hastalığının önemli bir komplikasyonudur. Crohn hastalığında kalın barsak karsinomu gelişme riski, normal popülasyondan 2-3 kat daha yüksek, ülseratif kolitten daha düşüktür. ^(29,26,41)

Özgeçmişte Adenom ve Karsinom: Yapılan çalışmalara göre kolorektal kanserlerin büyük bir kısmı daha önce var olan adenomlardan kaynaklanmaktadır. Kanser gelişme riski, adenomların sayısı ile artar. Çapı 1 cm den büyük olan, villöz karakterde, şiddetli displazi gösteren adenomlarda kanser riski artmıştır. ^(29,25,42) Meme, endometriyal, over kanseri öyküsü olan kadınlarda da kolorektal kanser riski yüksektir. ⁽²⁵⁾

Genetik Faktörler ve Aile Öyküsü: Tüm kolorektal kanser vakalarının %85-90'ı sporadik; yaklaşık %10-15 kadarı ise herediterdir.

Sporadik kolorektal kanserlilerin birinci derece yakınlarında kolorektal kanser gelişme riski 2-4 kat artmaktadır. Eğer kanser, aile üyesinin 50 yaşından küçük bir bireyinde ortaya çıkmışsa risk daha da artmıştır.^(21,24)

Hereditör kolorektal kanserler, tüm vakaların %6-10'unu oluşturmaktadırlar. Familial Adenomatöz polipozis (FAP) ve Hereditör Nonpolipozis Kolorektal Kanser (HNPCC) otozomal dominant kalıtımla geçerler. FAP, genetik bir pankolonik adenomatöz polipozistir.

Gençlik yaşlarında oluşmaya başlar ve profilaktik total kolektomi yapılmazsa tüm hastalarda kolon kanseri oluşması hemen hemen kaçınılmazdır.^(25,43) Bu hastalığa predispozisyon yaratan defektli APC tümör-süpresör geni taşıyanların hepsinde 55 yaşına gelindiğinde kolon kanseri geliştirmektedir.^(24,44)

Kolorektal kanserlerin %1-6'sını HNPCC oluşturur ve Lynch sendromu olarak adlandırılır. FAP'dan farklı olarak adenomatöz kolonik poliplerle ilişkili değildir. Kolon dışı tümörlerle birlikte olup olmamalarına göre iki alt gruba ayrılırlar. Lynch I: Kolon dışı tutulumun olmadığı bu grupta tümör, genellikle erken (ortalama 45) yaşlarda başlayıp % 70 oranında proksimal kolonu tutar. Lynch II: Başta endometriyum, over, üreter/renal pelvis, mide, ince barsak, hepatobiliyer sistem olmak üzere kolon dışı tümörlerin eşlik ettiği gruptur.

Lynch I ve II sendromlarında sağ kolon kanseri insidansı daha fazladır.^(26,45,46)

Hereditör Nonpolipozis Kolorektal Kanseri tanısı için 1991 yılında belirlenen ve Amsterdam kriterleri olarak geçen "International Collaborative Group on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Carcinoma" (ICG-HNPCC) kriterleri şunlardır;

Diğer Faktörler: Diabetes Mellitus'u olanlarda kolon kanseri insidansında artış olduğunu gösteren çalışmalar vardır.^(26,36) Kolesistektomi, bazı çalışmalarda sağ kolon kanserleri için risk faktörü olarak belirtilmesine rağmen; bazı çalışmalarda aksi yönde bulgular bildirilmiştir.^(47,48) Üreterosigmoidostomi yapılan vakalarda risk artışı vardır. Önceden pelvik radyoterapi yapılanlarda, 5-10 yıl sonra yüksek kolon kanseri insidansı bildirilmiştir.

Akromegalide gerek kolon adenomları gerekse gastrointestinal kanser sıklığı artmıştır. Akromegalide multipl adenomatöz polipler daha çok proksimal lokalizasyonludur.^(29,26,49)

2.6 Kolon Kanserinde Klinik Bulgular

Erken evrede hastalar asemptomatiktir veya hafif karın ağrısı, bağırsak hareketlerinde değişiklik veya kanama yakınmaları olabilir.⁽⁵⁰⁾ Bulgular genellikle tümörün yerleştiği lokalizasyona göre ortaya çıkmaktadır. Sağ kolon tümörlerinde bağırsak alışkanlığında herhangi bir değişiklik olmaması tipiktir. Sağ kolon tümörleri daha çok dışkılamayla birlikte genellikle fark edilmeyen kronik kan kaybı ve buna bağlı yorgunluk, halsizlik ve çarpıntı ile sonuçlanan demir eksikliği anemisi ile kendini göstermektedir.⁽⁵¹⁾ Sağ kolon kanserinde ayrıca şüpheli karın ağrısı, kilo kaybı ve batında kitle görülebilmektedir⁽⁵⁰⁾

Sol kolon tümörlerinde bağırsak alışkanlığında değişiklik ve dışkılamayla taze renkli kanama yakınmaları daha ön plandadır. Özellikle alt kadransları tutan karın ağrıları kramp tarzında olup, barsak hareketleri ile birlikte artıp azalabilirler. Barsak alışkanlığındaki değişiklikler dışkılama sıklığı, dışkının kıvamı ve şekli ile ilgilidir. Dışkılama sıklığı tıkanmaya yol açan tümörlerde azalırken, mukus salgılayan veya kanamaya yol açan tümörlerde artmaktadır.⁽⁵⁰⁾

Kolon kanserli hastaların bir kısmı kolonik tıkanma ve perforasyon gibi akut semptomlarla hekime başvurabilirler. Kolonik tıkanma ileri evre tümörlerde ve özellikle de yaşlı hastalarda görülmektedir.

2.7 Tanı Yöntemleri ve Tümör Belirteçleri

Karsinoembriyonik antijen (CEA) ve CA19-9, kolorektal tümörlerde kullanılan tümör belirteçleridir. Kolonoskopi, bilgisayarlı tomografi, (BT) manyetik rezonans görüntüleme, (MR) pozitron emisyon tomografisi (PET), tanıda kullanılan yöntemler olup; tanıda altın standart biyopsi ve histopatolojik incelemedir.

2.8 Patoloji

Kolon kanserlerinin büyük çoğunluğu (%95) adenokarsinomdur. Ayrıca skuamöz hücreli karsinom, karsinoid tümörler, adenoskuamöz ve indiferansiye karsinomun yanı sıra nadiren sarkom ve lenfomalar gibi nonepitelyal tümörler de görülmektedir.^(59,60)

Derecelendirme, tümör dokusunda tübül oluşumunun derecesi ve hücrel dizilime göre yapılır

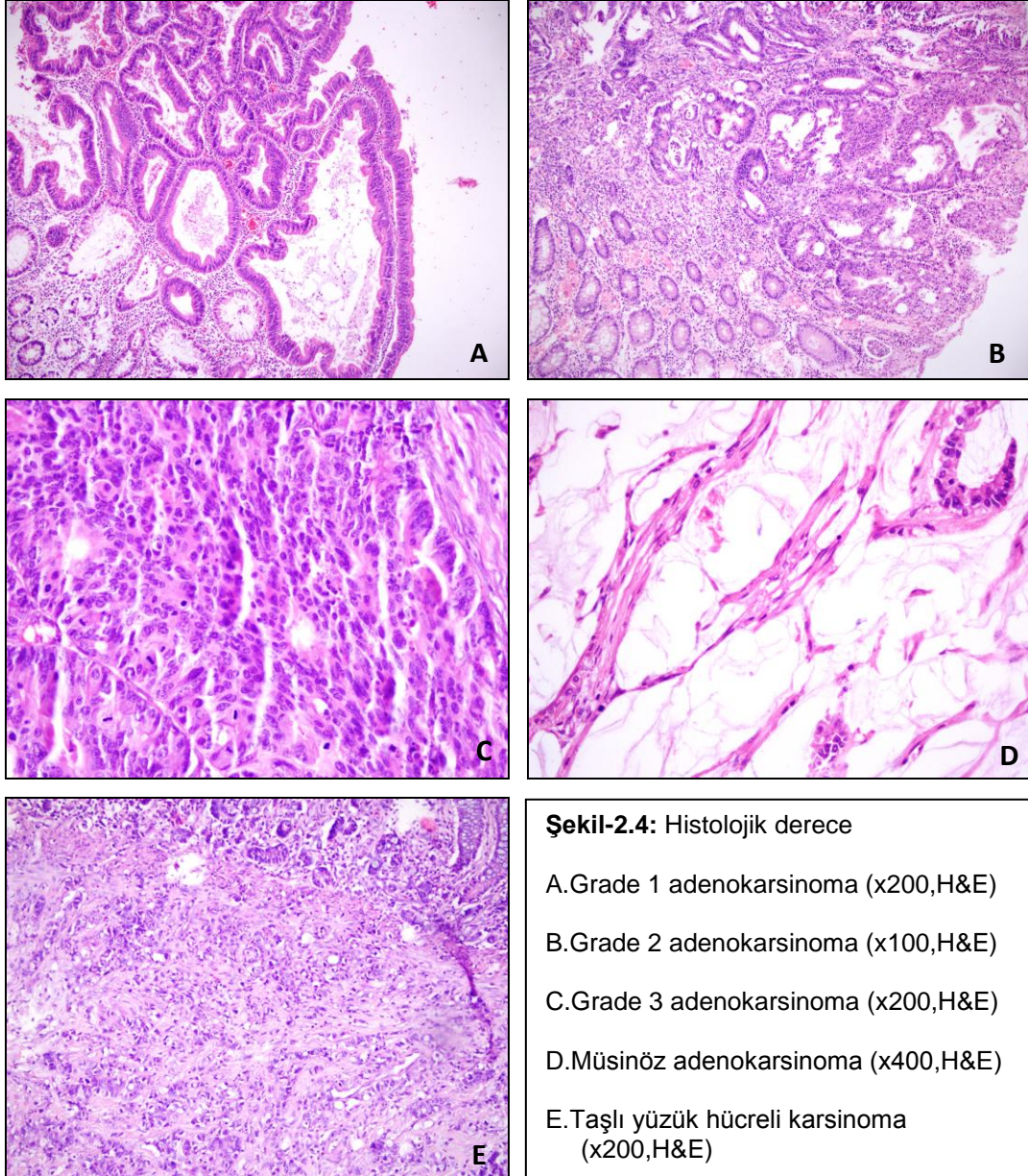
Grade I karsinomlar; mikroskopik olarak adenoma epiteline benzer, hücreler uniform görünümündedir ve hücrel polarite kaybı yoktur veya minimaldir.⁽⁵⁹⁾ (Şekil 2.4 A)

Grade II tümörlerde, tübüler yapılar basit olabileceği gibi kompleks ve hafif düzensiz şekilli olabilir. Nükleer polaritede hafif veya orta seviyede kayıp vardır. (Şekil 2.4 B)

Grade III tümörlerde, tübüler yapı tamamen ortadan kalkmıştır.⁽⁶⁰⁾ (Şekil 2.4 C) Müsinöz karsinomlar ve taşlı yüzük hücreli karsinomlar grade III olarak kabul edilirler⁽⁵⁹⁾. (Şekil 2.4 D ve E). Histolojik derecenin sağkalıma etkili olduğu bilinmektedir.⁽⁶¹⁾

Kolon Karsinomların Rapor Edilmesi

Patoloji raporu; tümörün yerleşim bölgesini, boyutunu, makroskopik görünümünü, proksimal ve distal cerrahi sınırlara uzaklığını, varsa diğer organlara yayılımını, tümörün derecesini ve histopatolojik tipini, çıkarılan ve pozitif olan lenf düğümlerinin sayısını, invazyon derinliğini, vasküler invazyon varlığını belirtmelidir.^(62,63,59) 2003 yılında Antalya'da yapılan Konsensus Toplantısı'nda kolon kanseri hastalarında en az 12 adet lenf nodu çıkarılması gerektiği bildirilmiştir⁽⁵⁸⁾.



2.9 Evreleme

Kolon kanserlerinin evrelenmesinde günümüze kadar 3 farklı sınıflama kullanılmıştır;

- Dukes sınıflaması
- Astler-Coller sınıflaması
- TNM sınıflaması

1932' de Dukes, rektal karsinomların evrelemesinde yeni bir sistem oluşturdu ve bu kolon karsinomlarına da uygulandı. Bu sınıflama, tümörün

derinliği, lenf bezi tutulumu ve uzak metastaz bulunmasına göre A, B, C olarak yapılmıştır.^(29,64)

1954 yılında Astler ve Coller tarafından başka bir evreleme sistemi geliştirilmiştir. Temelde Dukes sistemine benzemekle birlikte, derinlikleri farklı olan tümörlerde lenf düğümü tutulumunu da değerlendirmesiyle farklılık göstermektedir.⁽²⁹⁾

Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (AJCC) ve Uluslararası Kanser Birliği (UICC)' nin tümör, lenf düğümü ve metastaz komponentlerini gruplandırmasıyla ortaya koyduğu TNM sınıflaması, daha ayrıntılı bir sınıflama olup kolaylıkla diğer sınıflama sistemlerine çevrilebilir. Günümüzde halen bu sınıflamaya göre tedavi kararı verilmektedir.⁽⁶⁵⁻⁶⁷⁾ Tablo 2.2'de 7. Versiyon AJCC 2010 TNM sınıflaması görülmektedir:

T (Primer tümör):

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor.

To: Primer tümör bulgusu yok

Tis: Karsinoma in-situ: tümör mukozada sınırlı (tümör hücreleri muskularis mukozayı aşmamış)

T1: Tümör submukozaya infiltrate ancak kas tabakası sağlam

T2: Tümör kas tabakasına infiltrate, ancak kas tabakası içinde sınırlı.

T3: Tümör kas tabakasını aşarak perikolorektal yağ dokusuna infiltrate

T4a: Tümör visseral periton yüzeyine infiltrate

T4b: Tümör komşu organ veya yapılarla direkt invazyon göstermekte.

N (Bölgesel lenf nodları):

Nx: Bölgesel lenf nodları dđerlendirilemiyor.

No: Lenf nodu metastazı yok

N1: 1-3 adet lenf nodunda metastaz var

- N1a: 1 adet lenf nodunda metastaz var
- N1b: 2-3 adet lenf nodunda metastaz var
- N1c: Bölgesel lenf nodu metastazı olmaksızın; subserozada, mezenterde veya periton ile örtülü olamayan perirektal yağ dokusunda tümör depozitleri mevcut.

N2: 4 veya daha fazla sayıda lenf nodu metastazı

- N2a: 4-6 adet lenf nodunda metastaz var
- N2b: 7 veya daha fazla lenf nodunda metastaz var

M (Uzak metastaz):

Mo: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz

- M1a: 1 organ veya bölgeye sınırlı (karaciğer, over, akciğer, bölgesel olmayan lenf nodları)
- M1b: 1'den fazla organ metastazı veya peritoneal tutulum

Tablo 2.2: Evreleme Sistemi (AJCC 7.versiyon-2010) ve prognostik gruplar

Evre	T	N	M	Dukes	MAC
0	Tis	No	Mo	-	-
I	T1	No	Mo	A	A
	T2	No	Mo	A	B1
IIA	T3	No	Mo	B	B2
IIB	T4a	No	Mo	B	B2
IIC	T4b	No	Mo	B	B3
IIIA	T1-T2	N1/N1c	Mo	C	C1
	T1	N2a	Mo	C	C1
IIIB	T3-T4a	N1/N1c	Mo	C	C2
	T2-T3	N2a	Mo	C	C1/C2
IIIC	T1-T2	N2b	Mo	C	C1
	T4a	N2a	Mo	C	C2
	T3-T4a	N2b	Mo	C	C2
	T4b	N1-N2	Mo	C	C3
IVA	Herhangi T	Herhangi N	M1a	-	-
IVB	Herhangi T	Herhangi N	M1b	-	-

2.10. Prognoz

Kolorektal karsinomlu hastalarda küratif rezeksiyondan sonra 5 yıllık sağ kalım oranı %40-60 arasındadır. Rekürrenslerin %70'i ilk 2 yılda, %90'ı ise ilk 5 yılda meydana gelir.^(61,74)

Uzak metastaz saptandıktan sonra ortalama sağkalım süresi tedavi almayan hastalarda 6-9 ay arasındadır. Günümüzde yeni kullanıma giren kemoterapötik ve hedefe yönelik tedavi uygulamaları ile ortalama sağkalım süreleri 2 yılı geçmiştir.^(61,74)

Kolon kanserinde klinikopatolojik prognostik faktörler şunlardır:

Yaş

Kolon kanserinin genç yaşta daha kötü prognoza sahip olduğu düşünülür. Bunda yaşlılara göre daha ileri evrede tanı konulabiliyor olması önemli bir etkidir. Ayrıca, aynı evredeki hastalarda bile prognoz, gençlerde yaşlılardan daha kötüdür.⁽²¹⁾

Cinsiyet

Birçok çalışmada prognozun kadınlarda erkeklerden daha iyi olduğu görülmüştür. Ancak bunun nedeni kesin olarak belirlenememiştir.⁽⁷⁵⁾

Serum CEA Düzeyi

Sigara içmeyen sağlıklı bireylerde normal değeri 5 ng/ml'nin altındadır.⁽⁷⁶⁾ 5 ng/ml'den yüksek serum CEA seviyelerinin, tümörün evresinden bağımsız olarak prognoz üzerine kötü etkisi olduğu gösterilmiştir.^(61,54) Yalancı pozitiflik oranının yüksek olması nedeniyle tanı veya tarama amacıyla kullanılamaz. Kolon kanserinde tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde ve nükslerin belirlenmesinde kullanılır. Tedavinin başlangıcında ve aktif tedavi süresince 2-3 ayda bir ölçülmektedir.^(62,76)

Serum CA 19-9 Düzeyi

Nüksde anlamlıdır. Operasyon sonrası dönemde hasta izleminde yararlı olduğu bildirilmektedir.^(76,77)

Tümör Lokalizasyonu

Sol kolon veya sağ kolon tümörlerinin daha iyi prognoza sahip olabileceğini bildiren çeşitli çalışmalar varsa da; primer tümörün yerleşim yerinin prognoz üzerine etkisi olduğu konusu kesinlik kazanmamıştır.⁽⁷⁸⁾

Tümörde İnflamatuar Reaksiyon

Tümör ile komşu doku arasında inflamatuvar yanıt varlığı daha iyi prognozla ilişkilidir. Belirgin peritümöral lenfosit infiltrasyonu ve Crohn'a benzer şekilde müsküler tabaka ya da perikolik dokuda lenfoid agregat varlığı iyi prognozla ilişkilendirilmiştir. Tümör stromasının eosinofiller ve S-100 protein (+) dentritik hücreler ile infiltrasyonu da iyi prognoz göstergesidir.⁽⁷⁵⁾

Lokal Yayılım

Polipte insidental olarak yakalanmış fokal mikroskopik karsinomda, tümör genelde mukoza ve submukozaya sınırlı olduğundan prognoz

mükemmeldir. Tümör, serozaya yayıldığında ve bölgesel lenf bezlerini tuttuğunda prognoz kötüleşir.^(61,29)

Obstrüksiyon

Bazı çalışmalarda obstrüksiyon, bağımsız kötü bir prognostik faktör olarak bulunmuştur.⁽⁷⁹⁾ Obstrüksiyon nedeniyle acil koşullarda ameliyata girilen hastalarda 5 yıllık sağkalım oranlarının daha kötü olduğu belirlenmiştir.⁽⁵¹⁾

Perforasyon

Barsak duvarında yaygın tümör invazyonu sonucu oluşan perforasyonda prognoz kötüdür. Peritoneal kaviteye serbest perforasyon olduğunda kür yoktur, çünkü barsak lümeninden periton yüzeyine tümör hücreleri implante olur.^(61,78)

Vasküler İnvazyon

Vasküler invazyon varlığında, beş yıllık sağ kalım süresi belirgin azalma gösterir. Lenfatik invazyon, kan damarı invazyonundan daha az önem taşımakla birlikte ileri evre hastalarda yaygın olarak bulunması durumunda prognozu kötüleştirir.^(61,60, 80)

Perinöral İnvazyon

Perinöral invazyon genellikle ilerlemiş hastalığa işaret eder ve azalmış sağkalım ile birlikte. Diğer kötü prognostik bulgularla birlikte olma eğilimindedir.^(61,26,78)

Mikroskopik Patoloji

Tümörün prognozu ile histopatolojik tipi ve diferansiyasyon derecesi arasında kuvvetli bir ilişki vardır. Yapılan çeşitli çalışmalarda grade I kolon tümörlerinde prognozun grade III tümörlerden daha iyi olduğu görülmüştür. Müsinöz karsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom ve anaplastik karsinom klasik adenokarsinoma göre kötü prognozludur.^(59,80)

Nöroendokrin Hücre Varlığı

Adenokarsinomlarda nöroendokrin hücre varlığının prognoz yönünden olumsuz etkisi olduğu bildirilmiştir.⁽⁶³⁾

Lenf Nodu Tutulumu

En önemli prognostik faktörlerden biri lenf nodu metastazının varlığıdır.^(61,29) Tümör lenf düğümlerine yayıldığında beş yıllık sağ kalım oranı belirgin bir düşüş gösterir. Tutulan lenf bezi sayısının fazla olması, bunların mezenter damar köklerinde olması veya perikapsüler yayılım bulunması kötü prognostik göstergedir. Dörtten az lenf nodu tutulanlarda 5 yıllık sağkalım %44, dörtten fazla lenf nodu tutulan hastalarda 5 yıllık sağkalım %6'dır.^(79,80,81) İmmunhistokimyasal ya da moleküler tekniklerle tespit edilen mikrometastazlar da kötü prognozla ilişkilendirilmekle birlikte bu konu halen tartışmalıdır.⁽⁶¹⁾

Evre

Kolon karsinomlarında en önemli prognostik faktör tanı anındaki tümör evresidir.^(4,9,17,67) Evrelere göre 5 yıllık sağkalım oranlarına bakıldığında evre I için %99, evre II için %85, evre III için %67 ve evre IV için %14'dür. Tabloda tümör evresine göre beklenen 5 yıllık sağkalım oranları verilmiştir.^(61,66)

Tablo 2.3. Evrelere göre beklenen ortalama 5 yıllık sağ kalım oranları

Evre	5 yıllık sağ kalım
I	%99
II	%85
III	%67
IV	%14

Anjiogenez

Neovaskülarizasyon, tümör büyümesinde kritik öneme sahiptir. Tümör anjiyogenezisi, çeşitli karsinomlarda çok yoğun çalışılan bir konudur. Aşırı damarlanmanın saptanması, lokal rekürrens ve metastaz görülme sıklığında artış, sonuç olarak ise sağkalımda kısalma ile ilişkilidir.⁽⁸²⁾

DNA İçeriği ve DNA Ploidi

Tümörün flow sitometri ile incelenen DNA içeriği tümör hücrelerinin biyolojik davranışı konusunda bilgi verir ve önemli bir prognostik faktördür.⁽⁸³⁾

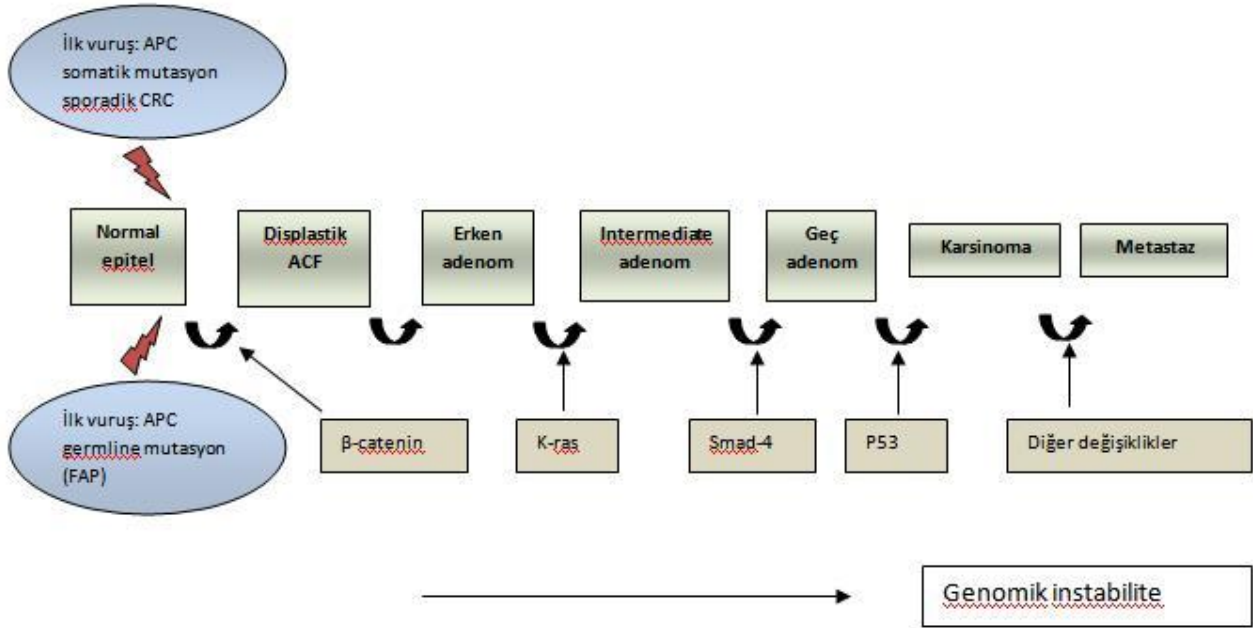
2.11.Kolonda Tümör Gelişimi Mekanizması

Kolondaki tümör gelişiminde birden fazla sayıda mutasyonun aşamalı olarak birikiminin görüldüğü iki farklı yol vardır. Bu mutasyonlar, gerçekleştikleri genler ve birikim mekanizmaları itibarıyla farklılık gösterirler.

Adenom-karsinom süreci olarak da adlandırılan ve sporadik kolon karsinomlarının yaklaşık %80'inde görülen APC/B-catenin yolu; kromozomal dengesizlik ile karakterize moleküler olayların yanısıra morfolojik olarak da tanımlanabilen aşamalarla gerçekleşir (Şekil 2.5).

Lokalize bir epitel proliferasyonu ile başlayan süreç, artan displazi derecesinin eşlik ettiği küçük adenomların oluşumunun ardından bunların progresif olarak genişlemesiyle devam eder ve sonunda invaziv kansere dönüşür. (84)

DNA tamir genlerinin inaktivasyonu ile ilişkili olan ikinci yol ise sporadik vakaların %10-15'inde saptanmıştır. Bu yolda mutasyonlar farklı genlerde gerçekleşir. Tanımlanmış morfolojik değişimler yoktur (29,84)



Şekil 2.5: İnsan kolorektal karsinogenezinde adenoma-karsinoma modeli: APC (adenomatous polyposis coli) veya β-catenin mutasyonları neoplastik süreci başlatır. Diğer genlerdeki (k-ras, smad-4, p53) mutasyonlar ile tümör progresyonu ve genomik instabilite meydana gelir. FAP (familial adenomatous polyposis), ACF (aberrant crypt foci), CRC (colorectal carcinoma) L Ricci-Vitiani, A Pagliuca, E Palio, A Zeuner, R De Maria Colon cancer stem cells Gut 2008; 57:538-48

Kolorektal karsinoma vakalarının yaklaşık %5-10 kadarını oluşturan herediter kanser sendromları üzerinde yapılan çalışmalar, kanser biyolojisinin anlaşılmasına önemli ölçüde katkı sağlamıştır. Tümör süpresör genler ve onkogenlerdeki mutasyonlar, hastalığı başlatır ve hastalığın ilerleme safhalarında da etkili olur. Bu konudaki incelemeler “Fearon ve Vogelstein” tarafından 1990 yılında geliştirilen (şekil 2.5) adenoma-karsinoma süreci modeli ile açıklanmıştır. Bu yaklaşımda yazarlar; hücre proliferasyonu ve gen bütünlüğünü kontrol eden k-ras ve p53 gibi anahtar genlerdeki mutasyonların tümör gelişiminde esas rol oynadığını vurgulamaktadırlar.

Kolon Kanserlerinin Mutasyonel Yelpazesi:

FAP ve HNPCC üzerindeki çalışmalar, kolon tümörogenezi için 2 alternatif patojenik mekanizmanın tanımlanmasına olanak sağlamıştır:

1. “*Gatekeeper*” tümör süpresör gen olan APC’deki başlangıç mutasyonu adenoma-karsinoma sürecini başlatır. Yapılan bir çalışmada kolorektal adenomların %63’ünde, karsinomaların ise %60’ında APC gen mutasyonu olduğu bildirilmiştir⁽⁸⁵⁾. Başka bir çalışma göstermiştir ki; tümörlerin %80’inden fazlasında APC geninde en az 1 mutasyon mevcuttur⁽⁸⁶⁾. Bu çalışmalar APC genindeki somatik mutasyonların kolorektal kanserlerin büyük bölümünden sorumlu olduğunu kuvvetle desteklemektedir. APC mutasyonu tipik olarak β -Katenin için bağlayıcı bölge içeren bir proteinin merkez alanına etki eder. Bu, nükleer β -catenin artışı ve c-myc onkogeni gibi spesifik hedef genlerin transkripsiyonel aktivasyonuna neden olur.

2. HNPCC sendromu, herediter kolorektal karsinomaların en yaygın görülen formudur. Hastaların %90’ı *hMSH2* ve *MLH1* gibi “*caretaker*” tamir genlerinde mutasyon taşır. “Mismatch” tamir sisteminin inaktivasyonu, mikrosatellit instabilitesine yol açar. Bu durum, HNPCC için karakteristik olan çok sayıda, tekrar eden kısa DNA sekansı veya tek nükleotidlerin oluşmasına neden olur. Mikrosatellit instabilitesi (MSI^{high}) hücre yaşam, çoğalma, kendi kendini yenileme gibi fonksiyonları düzenleyen genlerin mutasyona uğraması için uygun bir zemin hazırlar. Doğal olarak; MSI^{high}

tümörlerin aynı zamanda APC “gatekeeper” geninde artmış mutasyona sahip olmaları da sürpriz değildir. Bununla birlikte, genomik instabilite tek başına kolorektal karsinogenez için yeterli değildir. Kontrolsüz çoğalan ve genişleyen bir kök hücre topluluğundaki genetik bozulmalar ile kombine olmalıdır.

Birlikte düşündüğümüzde; FAP ve HNPCC hastalarda yapılan çalışmalar hem “gatekeeper” hem de “caretaker” gen fonksiyonlarının birlikte önemini vurgulamaktadır. FAP, APC geninin “gatekeeper” fonksiyonunun bozulmasına bağlı olarak, artmış bir tümör başlangıç oranı yüzünden meydana gelir. HNPCC ise DNA tamir defekti sonucunda artmış bir tümör başlatıcı mutasyon oranı nedeniyle meydana gelir.

Adenom histogenez modelleri:

Kolonik epitelin neoplastik dönüşüm süreci boyunca adenom formasyonu 2 alternatif modele göre gerçekleşir:

1. **“Top-down”** modeli erken neoplastik lezyonlar için uyarlanmış bir model olup; neoplastik hücreler kriptin lümenine bakan yüzeyinde bulunur ve aşağıya doğru ilerleyerek normal epitel hücrelerinin yerini alırlar. Bu modele göre, kök hücre kompartmanının intrakriptal yerleşim gösterdiği düşünülmektedir^{87,88}.

2. **“Bottom-up”** modelinde ise malign transformasyon süreci kriptin bazalindeki kök hücre popülasyonu içinden başlar ve yüzeye doğru ilerler. Bu yaklaşım; FAP deki gibi displastik değişikliklerin, bir kriptin tamamını işgal ettiği unikriptal veya monokriptal adenomlardaki bulgulara dayanır⁸⁹. Mutant kriptlerin stabilitesinin analiz edildiği fare deneylerine göre böyle monokriptal bir lezyonun klonal olması beklenir.⁹⁰ Mutant kök hücrelerin muhtemelen klonal genişlemesi nedeniyle oluşan kripte sınırlı lezyonlar, goblet hücrelerindeki mukusun asetilasyonundan sorumlu olan O-asetil transferaz enzimini kodlayan gen için heterozigot olan hastalarda bildirilmiştir. Bu hastalarda, başlangıçta kriptin yarısı daha sonra da tamamı mutant kök hücrelerce kolonize olur.⁹¹ Ayrıca insan kolonik kriptlerinin klonal olduklarının en büyük kanıtı; FAP nedeniyle

kolektomi uygulanan XO/XY şimerik hastanın Y kromozomu üzerinde yapılan in-situ hibridizasyon çalışmalarından gelmiştir. Analiz edilen 12000 kriptonun tamamı hem Y kromozomu pozitif hem de Y kromozomu negatif kriptonlardan oluşmaktadır.⁸⁸ Daha da fazlası; herhangi bir yaralanmada epitelin yenilenmesinden sorumlu olan kök hücrelerin kriptonların tabanında depolanması da kolon tümörogenezindeki “*bottom-up*” teoremine ek bir destek sağlamaktadır.

Kolon Kanseri Başlatan Hücrelerin Tanımlanması ve İzolasyonu:

Her ne kadar kolon kanseri bir intestinal kök hücre hastalığı olarak kabul edilse de şimdiye kadar bu teori deneysel olarak gösterilememiştir. Yakın zamanda 2 farklı çalışma grubu birbirinden bağımsız olarak insan kolon tümörlerinde kolon kanser-başlatıcı hücreleri (CC-IC) tanımlamışlardır. CC-ICs, karakteristik olarak CD133 ekspresyon eden diferansiyel hücrelerdir. CD133, çeşitli dokularda bulunan kök hücreler ve progenitör hücreler tarafından yaygın olarak ekspresyon edilen bir yüzey belirleyicisidir. CD133⁺ hücreler aynı zamanda epitelyal bir antijen olan BerEp4 (ESA veya EpCAM olarak da bilinir) de ekspresyon ederler. Ancak sitokeratin-20 gibi diferansiyel hücrelere özgü belirleyicileri ekspresyon etmezler. CD133⁺ hücreler aynı zamanda daha az oranda olsa da normal kolon epitelinde de bulunur. Bu demektir ki; tümör örneklerindeki artmış CD133⁺ hücre oranı, tümörün normal kolon kök hücrelerinin onkojenik transformasyonundan geliştiğini gösterir. CD133⁺ hücrelerin 3000 tanesinin subkutan enjeksiyonu ile deney hayvanında rahatlıkla orijinal tümör oluşturulabilmiştir.⁹² Hatta immün sistemi baskılanmış (NOD/SCID) farelerin böbrek kapsülünün altına enjekte edilen 100 adet CD133⁺ hücre bile orijinal tümörü başlatmaya yeterli olmuştur. Bu model yazarlara kolon tümörlerindeki kök hücre yoğunluğunu tahmin etmek için in vivo sınırlandırıcı dilüsyon deneyleri elde etmelerine izin vermiştir. Bu deneyler göstermiştir ki; ortalama 5.7×10^6 anfraksiyone kolon kanser hücresinden veya her 262 CD133⁺ hücreden 1'i kolon kanserini başlatıcı hücre (CC-IC)dir. CD133⁺ hücrelerin uzun dönem tümörojenik potansiyeli seri transplantasyon deneyleriyle gösterilmiş ve bu hücrelerin transplante edildikleri dokuda fenotipik olarak orijinal tümöre benzer, ancak davranış

bakımından ondan çok daha agresif bir tümör meydana getirdikleri anlaşılmıştır⁹². Aksine CD133⁻ hücreler yeni tümör oluşturamamışlardır.

Taze tümör dokusundan elde edilen örnekler, epidermal büyüme faktörü (EGFR) ve fibroblastik büyüme faktörü (PDGF) içeren serumsuz bir ortamda çoğaltılabilmektedir.⁹² Bu durumda tümör kök hücreleri ve progenitör hücreler birlikte büyürler ve “*kolon sferleri (küreleri)*” adı verilen CD133⁺ hücre agregatlarına dönüşürler. Bunlar immünsüprese fareye enjekte edildiklerinde yeni tümör oluşturabilme kabiliyetine sahiptirler. Büyüme faktörleri ortamdan uzaklaştırılıp, serum eklendiğinde tümör sferleri yavaş yavaş sitokeratin-20 ekspresyon eden aderent hücrelere farklılaşırlar ve kolon karsinomuna özgü bir belirleyici olan CDX2’yi yüksek düzeyde ekspresyon ederler. Ayrıca CD133 ekspresyonu da belirgin derecede azalır. Beklendiği gibi; CD133⁻ sferlerden elde edilen diferansiye hücreler, deney hayvanına transfer edilemez⁹².

Ayrıca CD133’e dayalı kolon kanser kök hücre tanımlanmasına ek olarak; Dalebra ve ark. kolon kanser başlatıcı hücrelerini göstermek için alternatif yüzey belirleyicileri (EpCAM^{high}, CD44⁺, CD166⁺) tanımlamışlardır⁹³. Bunlardan EpCAM ve CD44 daha önceden meme kanseri kök hücre belirleyicisi olarak; CD166 ise mezenkimal kök hücre belirleyicisi olarak da bilinmektedir. CD166’nın artmış ekspresyonu, kolon kanserinde kötü prognoz göstergesi olabileceği bildirilmiştir⁹⁴. Ksenograft hücre serileri üzerinde yapılan deneyler, EpCAM⁺ hücre popülasyonunun tümörojenik potansiyelinin aynı hücre grubu içindeki CD44⁺/CD166⁺ hücrelerle sınırlı olduğunu göstermiştir. Ayrıca CD133⁻ hücre grubu içindeki CD44 ekspresyon eden hücreler ile yeni tümör oluşturmak mümkün olmuştur⁹³. Bunlara dayanarak yazarlar EpCAM ve CD44’ün CD133’e göre daha sağlıklı belirleyici olduklarını savunmuşlardır.

III GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Araştırmanın Şekli

Bu çalışma, kolon tümöründeki kök hücre yoğunluğu ile tümörün derecesi, tümörün invazyon derinliği (T), lenf nodu (N)-uzak metastaz (M) durumu ve hastalığın evresi ile hastaların yaşam süreleri arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmaya yönelik, immünohistokimyasal ve istatistiksel verilere dayanan retrospektif klinikopatolojik bir çalışmadır.

3.2 Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Özellikleri

Araştırma, Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Eğitim Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

3.3 Araştırmanın Örneklemi

Bu amaçla 1996-2007 yılları arasında tanı alan ve takip altında olan, 97 hastadan oluşan bir seri retrospektif olarak incelenmiştir. Tüm hastaların histopatolojik tanısı, tanı sırasındaki TNM evresi, tümörün histolojik derecesi not edilmiştir. Prognostik veriler için GATA Genel Cerrahi AD Bşk.lığından hastaların telefon ve adres bilgilerine ulaşıp çalışmaya katılmak isteyen hastalar belirlenmiştir. Demografik verileri elde edilen tüm hastalara ait hemotoksilen-eozin boyalı preparatlar GATA Patoloji AD. arşivinden çıkartılarak tekrar incelenmiş; normal kolon mukozası ve tümörlü dokuyu da içerecek şekilde blok seçimi yapılmıştır.

3.4 Verilerin Toplanması

Seçilen her bloktan adheziv lamlar üzerine, 5 mikron kalınlığında, ikişer adet kesit alınmıştır. Kesitler, etüvde 65-70°C sıcaklıkta 30 dakika bekletilerek deparafinizasyon işlemi yapılmıştır. Etüvden çıkarılan lamlar, sırasıyla 3'er defa 5 dakika süre ile ksilol ve %96'lık alkol içinde tutulmuş ve distile su içinde yıkanarak deparafinizasyon işlemi tamamlanmıştır. pH=6.0 sitrat tampon içinde "basınçlı pişirici" ile 2 dakika kaynatılarak "antijen retrieval" sağlandıktan sonra PBS (pH:7.4) ile örnekler yıkanmıştır. Takiben % 3'lük H₂O₂ solüsyonu dökülüp, 10 dakika bekletilerek endojen enzim blokajı sağlanmış ve tekrar PBS ile yıkanmıştır. Lamaların üzerine primer antikor (CD133 Ab-stem cell marker, ab19898, rabbit policlonal, ABCAM, USA, 1:300 ve Musashi-1 Ab, ab52865, rabbit monoclonal, ABCAM, USA,

1:200) damlatılarak bir saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda PBS ile yıkanan lamların üzerine biotinlenmiş sekonder antikor (SS Multi Link, Biogenex, ABD) damlatılarak 20 dakika bekletilmiştir. Tekrar PBS ile yıkanan lamların üzerine bu kez peroksidaz konjuge streptavidin (SS Label Link, Biogenex, ABD) damlatılarak 20 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda tekrar PBS ile yıkanan lamların üzerine kromojen (Liquid AEC chromogen, Biogenex, ABD) damlatılarak 5 dakika bekletilmiştir. Distile su ile yıkanan lamların üzerine Mayer's hematoksilen damlatılıp, 1 dakika bekletilerek zemin boyaması yapılmış ve takiben yıkanan lamlar uygun kapama maddesi ile kapatılmıştır.

İmmünohistokimyasal yöntemin uygunluğunun değerlendirilebilmesi için pozitif internal kontrol olarak neoplastik olmayan komşu kolon mukozası kullanılmıştır.

İmmünohistokimyasal yöntem uygulanan preparatlar iki patolog tarafından (Doç. Dr. Önder ÖNGÜRÜ ve Patoloji Uzm. Öğr. Dr. Ali Fuat ÇİÇEK) değerlendirilmiştir. Ekspresyon, tüm tümör alanındaki hücreler dikkate alınarak incelenmiştir.

Sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edilmiştir. Hücrelerin % 5'inden azının boyandığı durumlar negatif boyanma kabul edilmiştir. Boyanmanın yaygınlığı boyanan hücre yüzdesine göre; 1 (% 6 - 33), 2 (% 34 – 75) ve 3 (% 76'dan yüksek) olarak belirlenmiştir. Ayrıca her iki antikor için de normal kolon kriptlerindeki boyanma yoğunluğu da göz önüne alınarak tümör hücrelerindeki boyanma yoğunluğu 1(+), 2(+), 3(+) olarak derecelendirilmiştir. Yoğunluk ve yaygınlık için verilen 1-3 arasındaki skorlar çarpılarak her bir olgu için 1 ile 9 arasında değişen immünohistokimya skorları (İHS) elde edilmiştir. (Örneğin Musashi-1 için 2+ yoğunluk ve %76'nın üzerinde (3) boyanma oranı varsa İHS:2x3=6 olarak belirlenmiştir.) Daha sonra İHS'ları da 3 grupta kategorize edilmiştir: İHS'ları 1,2,3 olan olgular hafif derecede ekspresyon grubu (grup 1); İHS'ları 4 veya 6 olan olgular orta derecede ekspresyon grubu (grup 2) ve İHS'ları 9 olan olgular belirgin derecede ekspresyon grubu (grup 3) olarak tanımlanmıştır. İstatistiksel çalışmada bu gruplar dikkate alınmıştır.

Tablo 3.1: Boyanma yoğunluğu ve yaygınlığına göre immünohistokimyasal skorların (İHS) ve grupların belirlenmesi

Boyanma yoğunluğu	Boyanma yaygınlığı	İHS	Grup
1	1	1	1 (hafif derecede ekspresyon)
1	2	2	1 (hafif derecede ekspresyon)
2	1	2	1 (hafif derecede ekspresyon)
1	3	3	1 (hafif derecede ekspresyon)
3	1	3	1 (hafif derecede ekspresyon)
2	2	4	2 (orta derecede ekspresyon)
2	3	6	2 (orta derecede ekspresyon)
3	2	6	2 (orta derecede ekspresyon)
3	3	9	3 (belirgin derecede ekspresyon)

3.5 Verilerin Değerlendirilmesi

Veriler bilgisayar ortamına aktarıldıktan sonra SPSS 15.0 paket programı ile değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistik olarak sıklık, yüzde, ortalama ve standart sapma verilmiştir. Histolojik derece ile CD133, histolojik derece ile Musashi, postop "T" ile CD133, postop "T" ile Musashi-1, karşılaştırmalarında Ki-kare testi kullanılmıştır. Musashi ve CD133 arasındaki ilişkiye Pearson korelasyonu ile bakılmıştır. Histolojik derece, Musashi ve CD133'ün hastaların sağ kalımları ile karşılaştırılması Kaplan-Meier yöntemi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

IV BULGULAR

4.1 Hasta Sayısı ve Klinik Özellikleri

GATA Patoloji AD'da 1995-2007 yılları arasında kolorektal karsinoma tanısı alan ve prognostik verilerine ulaşılabilen toplam 97 olgu çalışmaya dahil edilmiştir.

Ortalama hasta yaşı 66.3 (21-82) dir.

73 hasta (%75.25) pür adenokarsinoma, 1 hasta (%1.03) pür müsinöz adenokarsinoma, 1 hasta (%1.03) pür taşlı yüzük hücreli karsinoma tanısı almıştır. 15 hastada (%15.46) adenokarsinoma yanısıra tümörde müsinöz komponent; 1 hastada (%1.03) adenokarsinoma yanısıra tümörde taşlı yüzük hücreli komponent; 5 hastada (%5.15) ise adenokarsinoma yanısıra hem müsinöz hem de taşlı yüzük hücreli komponent bulunmaktadır. 1 hastada (%1.03) ise tümör skuamöz farklılaşma göstermektedir.

Olguların 38'inde (%39.2) tümör rektum; 34'ünde (%35.1) sigmoid kolon; 6'sında (%6.2) inen kolon; 5'inde (%5.2) transvers kolon ve 14'ünde (%14.4) çıkan kolon yerleşimlidir.

97 hastadan 17'si (%17.5) tümör nedeniyle ex; 80'i (%82.5) hayattadır. Takip altında olan hastalardan en uzun süre yaşayan (olgu no: 54) 172 aydır yaşamakta ve halen hayattadır. En kısa yaşam süresi 1 aydır. Ortalama yaşam süresi 49.8 aydır.

Aşağıdaki tabloda 97 hastanın yaş, tanı, tümör yerleşim yeri ve yaşam süresi bilgileri ayrı ayrı sunulmuştur (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Olguların yaş ve klinik özellikleri.

Olgu No	Hasta Yaşı	Tanı	Tümör yeri	Takip süresi (ay)	Sonuç (Yaşıyor/Ex)
1	79	AK	Sigmoid	30	Yaşıyor
2	86	AK	Rektum	35	Yaşıyor
3	34	AK	Rektum	56	Yaşıyor
4	59	AK	Rektum	80	Yaşıyor
5	72	AK	Sigmoid	100	Yaşıyor
6	72	AK	Sol kolon	110	Yaşıyor
7	83	AK	Transvers Kolon	70	Yaşıyor
8	62	AK	Sigmoid	66	Yaşıyor
9	82	AK	Sağ Kolon	50	Yaşıyor
10	58	AK	Sağ Kolon	50	Yaşıyor
11	53	AK	Sigmoid	64	Yaşıyor
12	56	AK	Rektum	86	Yaşıyor
13	60	AK	Rektum	72	Yaşıyor
14	44	AK	Sigmoid	67	Yaşıyor
15	69	AK	Sigmoid	55	Yaşıyor
16	49	AK	Sigmoid	51	Yaşıyor
17	59	AK	Sigmoid	49	Yaşıyor
18	55	AK	Transvers Kolon	63	Yaşıyor
19	74	AK	Rektum	59	Yaşıyor
20	57	AK	Sigmoid	71	Yaşıyor
21	70	AK	Rektum	55	Ex
22	25	AK+M	Rektum	70	Yaşıyor
23	47	AK+M	Rektum	68	Yaşıyor
24	71	AK	Sol kolon	67	Yaşıyor
25	63	AK	Rektum	67	Yaşıyor
26	83	AK+M	Rektum	64	Ex
27	74	AK	Sigmoid	61	Yaşıyor
28	48	AK	Rektum	63	Yaşıyor
29	51	AK	Sigmoid	62	Yaşıyor
30	47	AK	Sigmoid	70	Yaşıyor
31	50	AK+M+TY	Sağ Kolon	96	Yaşıyor
32	49	AK	Sigmoid	75	Yaşıyor
33	82	AK	Sigmoid	60	Yaşıyor
34	50	AK	Rektum	61	Yaşıyor
35	61	AK	Sigmoid	61	Yaşıyor
36	71	AK	Sağ Kolon	54	Yaşıyor
37	71	AK	Sigmoid	60	Yaşıyor
38	63	AK	Sol kolon	60	Yaşıyor
39	31	AK+M	Sağ Kolon	60	Yaşıyor
40	64	AK	Sigmoid	56	Yaşıyor
41	62	AK	Rektum	61	Yaşıyor

Olgu No	Hasta Yaşı	Tanı	Tümör yeri	Takip süresi (ay)	Sonuç (Yaşıyor/Ex)
42	52	AK	Rektum	72	Yaşıyor
43	62	AK+M	Sağ Kolon	55	Yaşıyor
44	39	AK	Rektum	55	Yaşıyor
45	79	AK	Sigmoid	50	Yaşıyor
46	50	AK	Rektum	57	Yaşıyor
47	54	AK	Rektum	50	Yaşıyor
48	40	AK+M	Rektum	71	Yaşıyor
49	60	AK	Rektum	25	Ex
50	74	AK	Rektum	68	Yaşıyor
51	83	AK	Sigmoid	55	Yaşıyor
52	56	AK+M	Sigmoid	60	Yaşıyor
53	68	AK+M	Rektum	55	Yaşıyor
54	60	AK	Sol kolon	172	Yaşıyor
55	69	AK+M	Sağ Kolon	79	Yaşıyor
56	77	AK	Rektum	56	Ex
57	25	AK+M	Rektum	86	Yaşıyor
58	62	AK	Rektum	85	Yaşıyor
59	65	AK	Sigmoid	86	Yaşıyor
60	37	AK	Sigmoid	56	Yaşıyor
61	40	AK	Sigmoid	25	Yaşıyor
62	60	AK	Rektum	160	Yaşıyor
63	43	AK	Transvers kolon	40	Yaşıyor
64	55	AK	Rektum	13	Yaşıyor
65	52	AK	Sağ Kolon	41	Yaşıyor
66	27	AK	Sigmoid	23	Ex
67	69	AK	Sigmoid	28	Yaşıyor
68	65	AK	Sigmoid	14	Yaşıyor
69	55	AK	Sigmoid	11	Ex
70	40	AK+SQ	Sigmoid	35	Yaşıyor
71	76	AK+TY	Sağ Kolon	23	Yaşıyor
72	57	AK+M	Sigmoid	1	Ex
73	57	AK	Rektum	20	Ex
74	27	AK	Rektum	67	Yaşıyor
75	61	AK	Sağ Kolon	53	Yaşıyor
76	70	AK	Sağ Kolon	63	Yaşıyor
77	31	AK+TY+M	Rektum	14	Yaşıyor
78	21	AK	Rektum	25	Yaşıyor
79	55	MAK	Sol kolon	25	Yaşıyor
80	55	AK	Rektum	20	Yaşıyor
81	50	AK	Rektum	20	Yaşıyor
82	72	AK	Sol kolon	6	Ex
83	34	AK+TY+M	Sağ Kolon	27	Ex
84	65	AK+M	Rektum	14	Yaşıyor
85	88	AK+M	Sağ Kolon	52	Ex
86	70	AK	Sigmoid	20	Ex

Olgu No	Hasta Yaşı	Tanı	Tümör yeri	Takip süresi (ay)	Sonuç (Yaşıyor/Ex)
87	67	AK	Transvers kolon	2	Ex
88	77	AK	Sigmoid	1	Ex
89	65	AK	Rektum	8	Ex
90	41	AK+M+TY	Sağ Kolon	30	Yaşıyor
91	23	AK+M+TY	Rektum	11	Yaşıyor
92	66	AK+M	Rektum	5	Ex
93	46	AK+M	Sigmoid	1	Yaşıyor
94	79	AK	Transvers kolon	5	Ex
95	50	TYHK	Rektum	25	Yaşıyor
96	48	AK	Sigmoid	20	Yaşıyor
97	58	AK	Sigmoid	14	Yaşıyor
Ort	66,3			49,8	

AK: Adenokarsinoma, **AK+M:** Müsinöz komponent içeren adenokarsinoma, **AK+M+TY:** Taşlı yüzük ve müsinöz komponent içeren adenokarsinoma, **AK+SQ:** Skuamöz farklılaşma gösteren adenokarsinoma **MAK:** Müsinöz adenokarsinoma, **TYHK:** Taşlı yüzük hücreli karsinoma

4.2 Histolojik Derece

Olguların 9'u (%9.3) iyi diferansiye (grade I), 55'i (%56.7) orta derecede diferansiye (grade II) ve 33'ü (%34.0) az diferansiyedir (grade III) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2: Histolojik derecenin olgulardaki dağılımı.

Histolojik derece (grade)	Olgu sayısı	Yüzde (%)
İyi diferansiye (grade I)	9	9.3
Orta derecede diferansiye (grade II)	55	56.7
Az diferansiye (grade III)	33	34.0
Toplam	97	100

4.3 TNM Durumları ve Postop Evre:

Üç olguda tümör, (%3.1) T1, 9 olguda (%9.3) T2, 22 olguda (%22.7) T3 ve 63 olguda (%64.9) T4 seviyesindedir.

Ellibir olguda (%52.6) bölgesel lenf nodlarında metastaz saptanmamıştır (N0). 26 olguda (%26.8) 1-3 adet metastatik lenf nodu mevcuttur (N1). 20 olguda (%20.6) ise 4 ve üzerinde lenf nodu metastazı saptanmıştır (N2).

Sekseniki olguda (%84.5) uzak metastaz yokken (M0), 15 olguda (%15.5) tanı sırasında uzak organ metastazı mevcuttur (M1).

Buna göre 97 olgunun 9'u (%9.3) tanı sırasında evre I; 9'u (%9.3) evre IIA; 33'ü (%34.0) evre IIB; 2'si (%2.1) evre IIIA; 19'u (%19.6) evre IIIB; 10'u (%10.3) evre IIIC ve 15'i (%15.5) evre IV olarak saptanmıştır. (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: TNM durumları ve klinik evre dağılımları

Postop T		Postop N		Postop M		Postop evre	
1	3 (%3.1)	0	51 (%52.6)	0	82 (%84.5)	1	9 (%9.3)
2	9 (%9.3)	1	26 (%26.8)	1	15 (%15.5)	2A	9 (%9.3)
3	22 (%22.7)	2	20 (%20.6)			2B	33 (%34.0)
4	63 (%64.9)					3A	2 (%2.1)
						3B	19 (%19.6)
						3C	10 (%10.3)
						4	15 (%15.5)
Toplam	97 (%100)	Toplam	97 (%100)	Toplam	97 (%100)	Toplam	97 %100)

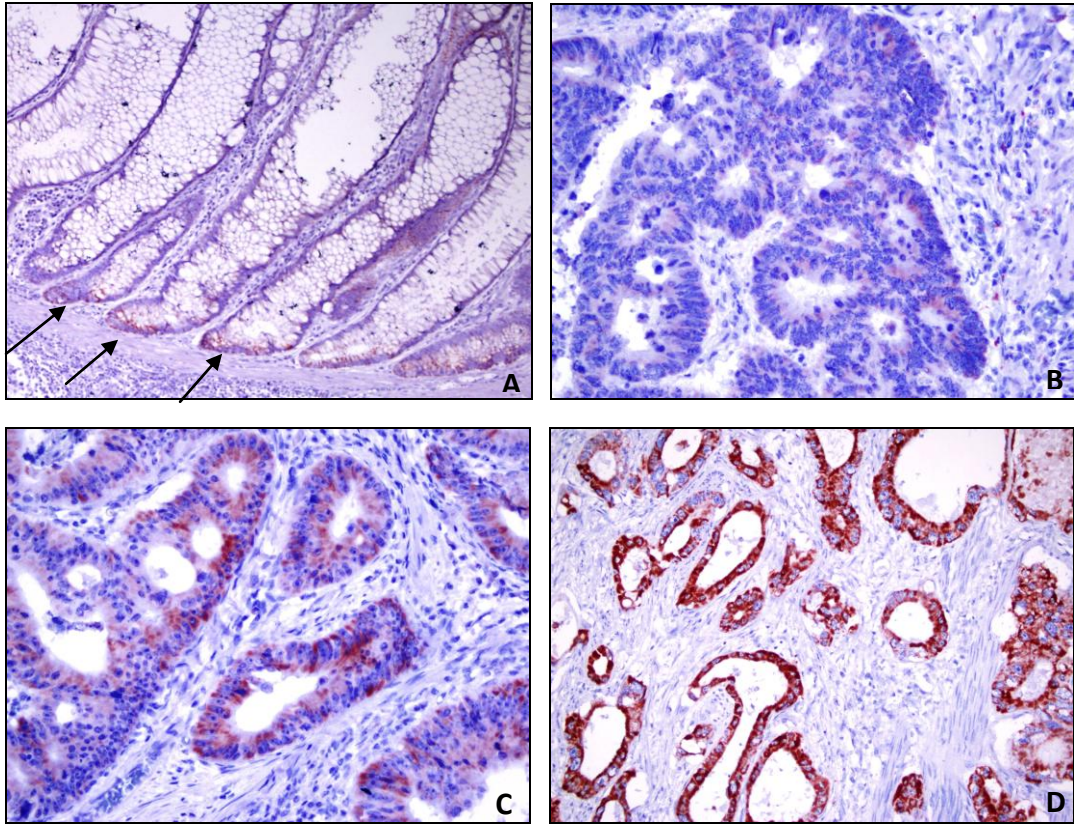
4.4. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.4.1 Musashi-1 Yoğunluk:

Doksanyedi olgunun 45'inde (%46.4) zayıf (1+), 29'unda (%29.9) orta derecede (2+) ve 23'ünde (%23.7) kuvvetli (3+) boyanma saptanmıştır. (Tablo 4.4).

Tablo 4.4: Musashi-1'in yoğunluk skoru yüzdeleri

Musashi-1 Yoğunluk	Yoğunluk Skoru	Olgu Sayısı	Yüzde
Zayıf (+)	1	45	%46.4
Orta (++)	2	29	%29.9
Kuvvetli (+++)	3	23	%23.7
Toplam		97	%100



Şekil 4.1: Musashi-1 antikorunun boyanma yoğunluğu

A: Normal kolon epiteli. Kriptlerin tabanında(ok) 3(+) boyanma (x100, *musashi-1*)

B: Grade 2 adenokarsinoma-1(+) boyanma (x200, *musashi-1*)

C: Grade 2 adenokarsinoma-2(+) boyanma (x200, *musashi-1*)

D: Grade 2 adenokarsinoma-3(+) boyanma (x200, *musashi-1*)

4.4.2 Musashi-1 Yaygınlık:

Otuzdört olguda (%35.1) neoplastik yaygınlık skoru 1, 41 olguda (%42.3) 2, 22 olguda (%22.7) ise yaygınlık skoru 3 olarak saptanmıştır. (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: Musashi-1'in yaygınlık skoru yüzdeleri

Musashi-1 Yaygınlık	Yaygınlık Skoru	Olgu Sayısı	Yüzde
%6-%33	1	34	%35.1
%34-%75	2	41	%42.3
(%76 <)	3	22	%22.7
Toplam		97	%100

4.4.3. Musashi-1 İmmünohistokimya Skoru ve Musashi-1 Kategorizasyonu

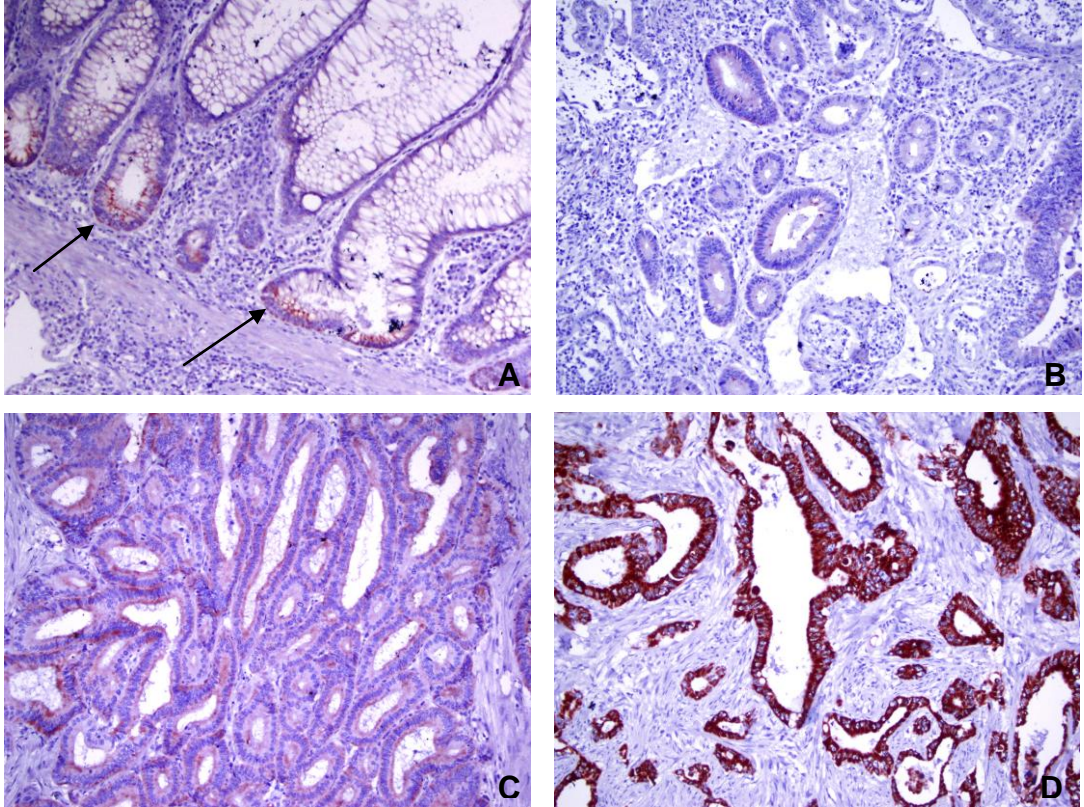
Yaygınlık ve yoğunluk skorlarının çarpımından elde edilen İHS'larına göre; İHS skoru 1,2 veya 3 olan 55 olgu (%56.7) hafif derecede (grup 1) Musashi-1 ekspresyon grubu olarak; İHS skoru 4 veya 6 olan 31 olgu (%32) orta derecede (grup 2) Musashi-1 ekspresyon grubu olarak ve İHS skoru 9 olan 11 olgu (%11.3) ise belirgin derecede (grup 3) Musashi-1 ekspresyon grubu olarak tanımlanmıştır.(Tablo 4.6).

Tablo 4.6: Musashi-1'in İHS ve Musashi-1 kategorizasyonu

Musashi-1 İmmünohistokimya skoru (İHS)	Musashi-1 ekspresyonu	Olgu Sayısı	Yüzde
1,2,3	Hafif derecede ekspresyon (grup 1)	55	%56.7
4,6	Orta derecede ekspresyon (grup 2)	31	%32.0
9	Belirgin derecede ekspresyon (grup 3)	11	%11.3
Toplam		97	%100

4.4.4 CD133 Yoğunluk

Doksanyedi olgunun 28'inde (%28.9) zayıf (1+), 36'sında (%37.1) orta derecede (2+) ve 33'ünde (%34.0) kuvvetli (3+) boyanma saptanmıştır. (şekil 4.2) (tablo 4.7)



Şekil 4.2: CD133 antikorunun boyanma yoğunluğu

A: Normal kolon epiteli. Kriptlerin tabanında(ok) 3(+) boyanma (x100, CD133)

B: Grade 2 adenokarsinoma-1(+) boyanma (x200, CD133)

C: Grade 2 adenokarsinoma-2(+) boyanma (x200, CD133)

D: Grade 2 adenokarsinoma-3(+) boyanma (x200, CD133)

Tablo 4.7: CD133'ün yoğunluk skoru yüzdeleri

CD133 Yoğunluk	Yoğunluk Skoru	Olgu Sayısı	Yüzde
Zayıf (+)	1	28	%28.9
Orta (++)	2	36	%37.1
Kuvvetli (+++)	3	33	%34.0
Toplam		97	%100

4.4.5 CD133 Yaygınlık

Yedi olguda (%7.2) neoplastik hücrelerin %6 ile %33'ü oranında boyanma görülmüştür ve bunlara "1" skoru verilmiştir. 43 olguda (%44.3), neoplastik hücrelerin %34 ile %75 oranında işaretlenme mevcut olup; bunlara "2" skoru verilmiştir. 47 olguda ise (%48.5) neoplastik hücrelerin %76'sından fazlasında işaretlenme izlenmiş olup; bunlara da "3" skoru verilmiştir. (tablo 4.8)

Tablo 4.8: CD133'ün yaygınlık skoru yüzdeleri

CD133 Yaygınlık	Yaygınlık Skoru	Olgu Sayısı	Yüzde
%6-%33	1	7	%7.2
%34-%75	2	43	%44.3
(%76 <)	3	47	%48.5
Toplam		97	%100

4.4.6 CD133 İmmünohistokimya Skoru ve CD133 Kategorizasyonu

Otuzbir olgu (%32.0) grup 1 olarak; 45 olgu (%46.4) grup 2 olarak ve 21 olgu (%21.6) grup 3 olarak kategorize edilmiştir. (tablo 4.9)

Tablo 4.9: CD133'ün İHS ve CD133 kategorizasyonu

CD133 İmmünohistokimya skoru (İHS)	CD133 Ekspresyonu	Olgu Sayısı	Yüzde
1,2,3	Hafif derecede ekspresyon (grup 1)	31	%32.0
4,6	Orta derecede ekspresyon (grup 2)	45	%46.4
9	Belirgin derecede ekspresyon (grup 3)	21	%21.6
Toplam		97	%100

4.5 İmmünohistokimyasal Bulgular ile Prognostik Verilerin Karşılaştırılması

4.5.1 Musashi-1 Ekspresyonunun Histolojik Derece ile İlişkisi

Hafif derecede Musashi-1 eksprese eden (grup 1) 55 olgudan 4'ü (%7.3) iyi diferansiye; 32'si (%58.2) orta derecede diferansiye ve 19'u (%34.5) az diferansiyedir .

Orta derecede Musashi-1 eksprese eden (grup 2) 31 olgudan 2'si (%6.5) iyi diferansiye; 20'si (%64.5) orta derecede diferansiye ve 9'u (%29) az diferansiyedir.

Belirgin derecede Musashi-1 eksprese eden (grup 3) 11 olgunun yaklaşık yarısı (6 olgu -%54) iyi ve orta derecede diferansiye iken; kalan yarısı da (5 olgu- %46) az diferansiyedir. (Tablo 4.10)

Tablo 4.10: Musashi-1 Ekspresyonunun Histolojik Derece ile İlişkisi

Histolojik Derece	Musashi-1 Ekspresyonu			Toplam
	Hafif (Grup1)	Orta (Grup2)	Belirgin (Grup3)	
İyi Diferansiye	4 %7.3	2 %6.5	3 %27.0	9
Orta Derecede Diferansiye	32 %58.2	20 %64.5	3 %27.0	55
Az Diferansiye	19 %34.5	9 %29.0	5 %46.0	33
Toplam	55 %100	31 %100	11 %100	97

4.5.2 CD133 Ekspresyonunun Histolojik Derece ile İlişkisi

Hafif derecede CD133 eksprese eden (grup 1) 31 olgudan 1'i (%3.3) iyi diferansiye; 21'i (%67.7) orta derecede diferansiye ve 9'u (%29) az diferansiyedir.

Orta derecede CD133 eksprese eden (grup 2) 45 olgudan 2'si (%4.5) iyi diferansiye (grade 1); 24'ü (%53.3) orta derecede diferansiye ve 19'u (%42.2) az diferansiyedir.

Belirgin derecede CD133 eksprese eden (grup 3) 21 olgudan 6'sı (%28.6) iyi diferansiye (grade 1) ; 10'u (%47.6) orta derecede diferansiye ve 5'i (%23.8) az diferansiyedir (tablo 4.11)

CD133 antikorunun histolojik derece bakımından olgularda dağılımında dikkat çekici bir farklılık göze çarpmamıştır.

Tablo 4.11: CD133 ekspresyonunun histolojik derece ile ilişkisi

Histolojik Derece	CD133 Ekspresyonu			Toplam
	Hafif (Grup1)	Orta (Grup2)	Belirgin (Grup3)	
İyi Diferansiye	1 %3.3	2 %4.5	6 %28.6	9
Orta Derecede Diferansiye	21 %67.7	24 %53.3	10 %47.6	55
Az Diferansiye	9 %29.0	19 %42.2	5 %23.8	33
Toplam	31 %100	45 %100	21 %100	97

4.5.3 Musashi-1 Ekspresyonunun Tümörün İnvazyon Derinliği (T) ile İlişkisi

Hafif derecede Musashi-1 eksprese eden (grup 1) 55 olgudan 2'si (%3.6) T1; 5'i (%9.1) T2; 12'si (%21.8) T3 ve 36'sı (%65.5) T4 düzeyindedir.

Orta derecede Musashi-1 eksprese eden (grup 2) 31 olgudan 1'i (%3.2) T1; 3'ü (%9.7) T2; 6'sı (%19.4) T3 ve 21'i (%67.7) T4 düzeyindedir.

Belirgin derecede Musashi-1 eksprese eden (grup 3) 11 olgunun hiçbiri T1 düzeyinde değildir. Sadece 1'i (%9.1) T2 iken; yaklaşık %90'nında (10 olgu) tümörün lokal evresinin ileri (T3/T4) olması (kas tabakası ve/veya serozal yüzeye infiltre olması) dikkati çekmiştir. (Tablo 4.12)

Tablo 4.12: Musashi-1 Ekspresyonunun Tümörün İnvazyon Derinliği (T) ile İlişkisi

Postop T	Musashi-1 Ekspresyonu			Toplam
	Hafif (Grup1)	Orta (Grup2)	Belirgin (Grup3)	
T1	2 %3.6	1 %3.2	0 %0	3
T2	5 %9.1	3 %9.7	1 %9.1	9
T3	12 %21.8	6 %19.4	4 %36.4	22
T4	36 %65.5	21 %67.7	6 %54.5	63
Toplam	55 %100	31 %100	11 %100	97

4.5.4 CD133 Ekspresyonunun Tümörün İnvazyon Derinliği (T) ile İlişkisi

Hafif derecede CD133 eksprese eden (grup 1) 31 olgudan 1'i (%3.2) T1; 2'si (%6.5) T2; 9'u (%29) T3 ve 19'u (%61.3) T4 düzeyindedir.

Orta derecede CD133 eksprese eden (grup 2) 45 olgudan 2'si (%4.4) T1; 5'i (%11.1) T2; 8'i (%17.8) T3 ve 30'u (%66.7) T4 düzeyindedir.

Belirgin derecede CD133 eksprese eden (grup 3) 21 olgudan T1 seviyesinde olan olgu yoktur. 2 olgu (%9.5) T2 düzeyindedir. CD133 antikorunu belirgin derecede eksprese eden 3.gruptaki olguların yaklaşık %90'ında (21 olgudan 19'unda) Musashi grup-3 teki ile benzer şekilde tümör lokal olarak ileri seviyededir. (T3/T4) (Tablo 4.13)

Tablo 4.13: CD133 ekspresyonunun tümörün invazyon derinliği (T) ile ilişkisi

Postop T	CD133 Ekspresyonu			Toplam
	Hafif (Grup1)	Orta (Grup2)	Belirgin (Grup3)	
T1	1 %3.2	2 %4.4	0 %0	3
T2	2 %6.5	5 %11.1	2 %9.5	9
T3	9 %29.0	8 %17.8	5 %23.8	22
T4	19 %61.3	30 %66.7	14 %66.7	63
Toplam	31 %100	45 %100	21 %100	97

4.5.5 Musashi-1 Ekspresyonunun Lenf Nodu Metastazı (N) ile İlişkisi

Hafif derecede Musashi-1 eksprese eden (grup 1) 55 olgudan 27'sinde (%49.0) ameliyat sonrası bölgesel lenf nodlarında metastaz saptanmamıştır (N0). 14 olguda (%25.5) 1-3 adet metastatik lenf nodu (N1) mevcutken; 14 olguda da (%25.5) 4 veya üzerinde lenf nodu metastazı (N2) izlenmektedir.

Orta derecede Musashi-1 eksprese eden (grup 2) 31 olgudan 18'inde (%58.0) lenf nodu metastazı yoktur (N0). 10 olguda (%32.3) 1 ile 3 arasında değişen sayılarda pozitif lenf nodu mevcuttur (N1). 3 olguda (%9.7) ise 4 veya üzerinde lenf nodunda tutulum izlenmiştir (N2).

Belirgin derecede Musashi-1 eksprese eden (grup 3) 11 olgunun 6'sında (%54.5) bölgesel lenf nodu tutulumu mevcut değilken (N0); 2 olgu (%18.2) N1 ve 3 olgu (%27.3) N2 düzeyindedir. (Tablo 4.14)

Bu bulgular değerlendirildiğinde Musashi-1 ekspresyonu ile lenf nodu tutulumu açısından belirgin bir fark göze çarpmamaktadır.

Tablo 4.14: Musashi-1 ekspresyonunun lenf nodu metastazı (N) ile ilişkisi

Postop N	Musashi-1 Ekspresyonu			Toplam
	Hafif (Grup1)	Orta (Grup2)	Belirgin (Grup3)	
N0	27 %49.0	18 %58.0	6 %54.5	51
N1	14 %25.5	10 %32.3	2 %18.2	26
N2	14 %25.5	3 %9.7	3 %27.3	20
Toplam	55 %100	31 %100	11 %100	97

4.5.6 CD133 Ekspresyonunun Lenf Nodu Metastazı (N) ile İlişkisi

Hafif derecede CD133 eksprese eden (grup 1) 31 olgudan 15'inde (%48.4) bölgesel lenf nodlarında metastaz yoktur (N0). 11 olguda (%35.5) 1-3 adet lenf nodu metastazı saptanmıştır (N1). 5 olguda (%16.1) ise 4 veya üzerinde pozitif lenf nodu mevcuttur (N2).

Orta derecede CD133 eksprese eden (grup 2) 45 olgudan 24'ünde (%53.3) bölgesel lenf nodlarında metastaz saptanmamıştır (N0). 10'unda (%22.2) 1-3 adet (N1) ve 11'inde (%24.4) 4 veya üzerinde (N2) sayıda pozitif lenf nodu mevcuttur.

Belirgin derecede CD133 eksprese eden (grup 3) olguların bulunduğu grupta da lenf nodu tutulumu bakımından anlamlı bir dağılım görülmemektedir. Bu gruptaki 21 olgunun 12'sinde (%57.1) lenf nodu

metastazı yokken; 9 olguda (%42.9) (N1:5 ve N2:4) lenf nodu metastazı mevcuttur. (Tablo 4.15)

Tablo 4.15: CD133 ekspresyonunun lenf nodu metastazı (N) ile ilişkisi

Postop N	CD133 Ekspresyonu			Toplam
	Hafif (Grup1)	Orta (Grup2)	Belirgin (Grup3)	
N0	15 %48.4	24 %53.3	12 %57.1	51
N1	11 %35.5	10 %22.2	5 %23.8	26
N2	5 %16.1	11 %24.5	4 %19.1	20
Toplam	31 %100	45 %100	21 %100	97

4.5.7 Musashi-1 Ekspresyonunun Uzak Metastaz (M) ile İlişkisi

Tanı sırasında uzak metastazı mevcut olan 15 olgunun Musashi-1 ekspresyonuna baktığımızda; 11 olguda (%74) hafif derecede ekspresyon (grup1); 4 adet olguda (%26) ise orta derecede ekspresyon (grup-2) izlenmiştir. Metastazı olan olguların hiçbirinde (%0) belirgin derecede ekspresyon görülmemiştir. Bir başka ifadeyle belirgin derecede Musashi-1 ekspresyonu gösteren 11 olgunun hiçbirinde tanı sırasında uzak metastaz yoktur. (Tablo 4.16)

Tablo 4.16: Musashi-1 ekspresyonunun uzak metastaz (M) ile ilişkisi

Musashi-1 Ekspresyonu	M0	M1	Toplam
Hafif (grup1)	44 (%54)	11 (%74)	55
Orta (grup 2)	27 (%33)	4 (%26)	31
Belirgin (grup3)	11 (%13)	0 (%0)	11
Toplam	82 (%100)	15 (%100)	97

4.5.8 CD133 Ekspresyonunun Uzak Metastaz (M) ile İlişkisi

Tanı sırasında uzak metastazı olan 15 olgunun 13'ünde (%88) hafif ve orta derecede (grup1 ve grup2); 2 olguda (%12) ise belirgin derecede CD133 ekspresyonu (grup3) saptanmıştır. (Tablo 4.17)

Tablo 4.17: CD133 ekspresyonunun uzak metastaz (M) ile ilişkisi

CD133 Ekspresyonu	M0	M1	Toplam
Hafif (grup1)	26 (%32)	5 (%34)	31
Orta (grup 2)	37 (%45)	8 (%54)	45
Belirgin (grup3)	19 (%23)	2 (%12)	21
Toplam	82 (%100)	15 (%100)	97

4.5.9 Musashi-1 Ekspresyonunun Evre İle İlişkisi

Hastalığın evreleri ve olguların Musashi-1 ekspresyonu arasındaki ilişki aşağıdaki tabloda sunulmuş olup; dağılımlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.

Prognostik olarak en kötü grup olan evre 4'te toplam 15 olgunun 11'inde hafif derecede, 4'ünde orta derecede ekspresyon izlenmiş olup; evre 4 olguların hiçbirinde belirgin ekspresyon saptanmamıştır. (Tablo 4.18)

Tablo 4.18: Musashi-1 ekspresyonunun evre ile ilişkisi

Musashi-1 Ekspresyonu			
Evre	Hafif (grup 1)	Orta (grup 2)	Belirgin (grup 3)
1 (n:9)	5 (%9.1)	3 (%9.7)	1 (%9.1)
2A (n:9)	4 (%7.3)	3 (%9.7)	2 (%18.2)
2B (n:33)	19 (%34.5)	11 (%35.5)	3 (%27.3)
3A (n:2)	2 (%3.6)	0 (%0)	0 (%0)
3B (n:19)	8 (%14.5)	8 (%25.8)	3 (%27.3)
3C (n:10)	6 (%10.9)	2 (%6.5)	2 (%18.2)
4 (n:15)	11 (%20.0)	4 (%12.9)	0 (%0)
Toplam (n:97)	55 (%100)	31 (%100)	11 (%100)

4.5.10 CD133 Ekspresyonunun Evre ile İlişkisi

CD133 ekspresyonu ile evreler arasındaki dağılım aşağıdaki tabloda sunulmuştur. Evre ile CD133 ekspresyonu arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmamıştır. (Tablo 4.19)

Tablo 4.19: CD133 ekspresyonunun evre ile ilişkisi

CD133 Ekspresyonu			
Evre	Hafif (grup 1)	Orta (grup 2)	Belirgin (grup 3)
1 (n:9)	2 (%6.5)	5 (%11.1)	2 (%9.5)
2A (n:9)	3 (%9.7)	3 (%6.7)	3 (%14.3)
2B (n:33)	10 (%32.3)	16 (%35.6)	7 (%33.3)
3A (n:2)	1 (%3.2)	1 (%2.2)	0 (%0)
3B (n:19)	7 (%22.6)	7 (%15.6)	5 (%23.8)
3C (n:10)	3 (%9.7)	5 (%11.1)	2 (%9.5)
4 (n:15)	5 (%16.1)	8 (%17.8)	2 (%9.5)
Toplam (n:97)	31(%100)	45 (%100)	21 (%100)

4.5.11 Musashi-1 Ekspresyonunun Tümör Lokalizasyonu ile İlişkisi

Tümörün sol kolon yerleşimli olduğu 78 adet olgudan 43'ü (%55) hafif derecede Musashi-1 ekspresyonu göstermiştir (grup 1). 26 olguda (%34) orta derecede (grup 2) ve 9 olguda (%11) belirgin derecede Musashi-1 ekspresyonu (grup3) mevcuttur.

Transvers kolon yerleşimli 5 olgunun 2'si (%40) hafif (grup1), 2'si (%40) orta (grup2) ve 1'i (%20) belirgin derecede ekspresyon göstermiştir (grup3).

Sağ kolon yerleşimli 14 olgunun 10'u (%71) hafif (grup1), 3'ü (%22) orta (grup2) ve 1'i (%7) belirgin derecede ekspresyon göstermiştir (grup3). (Tablo 4.20)

Tablo 4.20: Musashi-1 ekspresyonunun tümör lokalizasyonu ile ilişkisi

Musashi-1 Ekspresyonu				
Tümör Yeri	Hafif (Grup1)	Orta (Grup2)	Belirgin (Grup3)	Toplam
Sol kolon	43(%55)	26 (%34)	9 (%11)	78 (%100)
Transvers kolon	2 (%40)	2 (%40)	1 (%20)	5 (%100)
Sağ kolon	10 (%71)	3 (%22)	1 (%7)	14 (%100)

4.5.12 CD133 Ekspresyonunun Tümör Lokalizasyonu ile İlişkisi

Tümörün sol kolon yerleşimli olduğu 78 olgunun 24'ü (%31) hafif (grup1); 36'sı (%46) orta (grup2) ve 18'i (%23) belirgin derecede (grup3) CD133 ekspresyonu göstermiştir.

Transvers kolon yerleşimli 5 olgunun 1'inde (%20) hafif; 3'ünde (%60) orta ve 1'inde de (%20) belirgin derecede CD133 ekspresyonu saptanmıştır.

Sağ kolon yerleşimli 14 olgunun 6'sında (%43) hafif; 6'sında (%43) orta ve 2'sinde (%14) ise belirgin CD133 ekspresyonu mevcuttur. (Tablo 4.21)

Tablo 4.21: CD133 ekspresyonunun tümör lokalizasyonu ile ilişkisi

CD133 Ekspresyonu				
Tümör Yeri	Hafif (Grup1)	Orta (Grup2)	Belirgin (Grup3)	Toplam
Sol kolon	24 (%31)	36 (%46)	18 (%23)	78 (%100)
Transvers kolon	1 (%20)	3 (%60)	1 (%20)	5 (%100)
Sağ kolon	6 (%43)	6 (%43)	2 (%14)	14 (%100)

4.5.13 Musashi -1 Ekspresyonunun Sağkalım ile İlişkisi

Hafif derecede Musashi-1 ekspresyonu gösteren (grup1) 55 olgunun 7'si (%12) ex, 48'i (%88) hayattadır.

Orta derecede Musashi-1 ekspresyonu gösteren (grup2) 31 olgunun 8'i (%25) ex, 23'ü (%75) hayattadır.

Belirgin derecede Musashi-1 ekspresyonu gösteren (grup3) 11 olgunun ise 2'si (%18) ex, 9'u (%82) hayattadır. (Tablo 4.22)

Tablo 4.22: Musashi-1 ekspresyonunun sağ kalım ile ilişkisi

Musashi-1 Ekspresyonu			
	Hafif (Grup1)	Orta (Grup2)	Belirgin (Grup3)
Yaşıyor	48 (%88)	23 (%75)	9 (%82)
Ex	7 (%12)	8 (%25)	2 (%18)
Toplam	55 (%100)	31 %100)	11 %100)

4.5.14 CD133 Ekspresyonunun Sağkalım ile İlişkisi

Hafif derecede CD133 ekspresyonu gösteren (grup1) 31 olgunun 2' si (%6) ex, 29'u (%94) hayattadır.

Orta derecede CD133 ekspresyonu gösteren (grup2) 45 olgunun 9'u (%20) ex 36'sı (%80) hayattadır.

Belirgin derecede CD133 ekspresyonu gösteren (grup3) 21 olgunun 6'sı (%30) ex, 15'i (%70) hayattadır. (Tablo 4.23)

Tablo 4.23: CD133 ekspresyonunun sağ kalım ile ilişkisi

CD133 Ekspresyonu			
	Hafif (Grup1)	Orta (Grup2)	Belirgin (Grup3)
Yaşıyor	29 (%94)	36 (%80)	15 (%70)
Ex	2 (%6)	9 (%20)	6 (%30)
Toplam	31(%100)	45 (%100)	21 (%100)

4.5.15 Musashi-1 Ekspresyonunun Yaşam Süresi ile İlişkisi

Hafif derecede Musashi-1 ekspresyonu gösteren (grup 1) 55 olgunun ortalama yaşam süresi 55 ay olup; tüm olguların ortalama yaşam süresinin (49.8 ay) üstündedir.

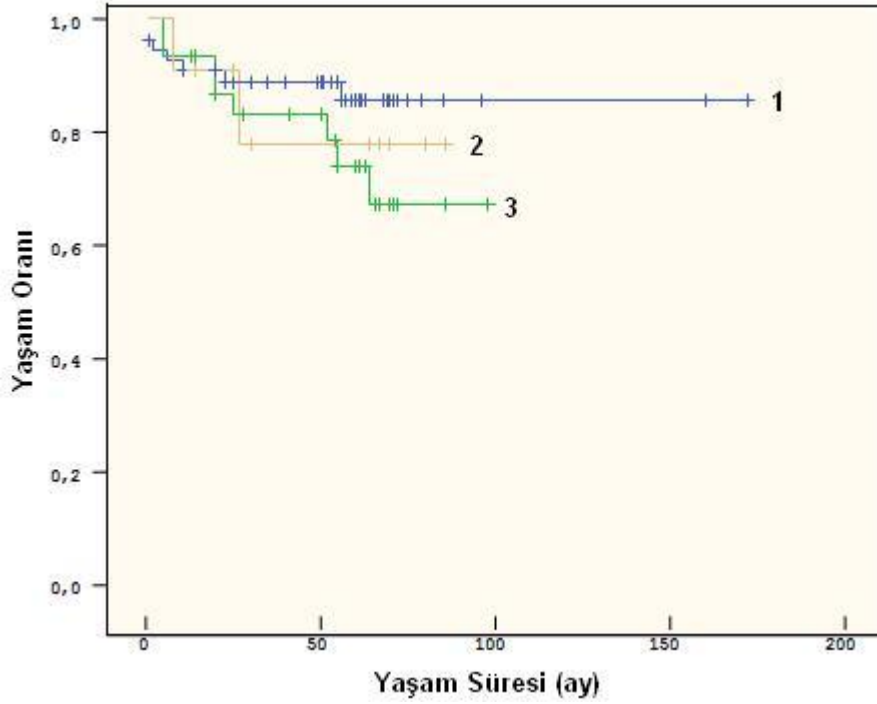
Orta derecede Musashi-1 ekspresyonu gösteren (grup 2) 31 olgunun ortalama yaşam süresi (50 ay) tüm olguların ortalama yaşam süresi (49.8 ay) ile hemen hemen eşittir.

Belirgin derecede Musashi-1 ekspresyonu gösteren (grup3) 11 olgunun ortalama yaşam süresi ise 44 ay olup; tüm olguların ortalama yaşam süresinin (49.8 ay) altındadır (Tablo 4.24).

Tablo 4.24: Musashi-1 ekspresyonunun ortalama yaşam süresi ile ilişkisi

Musashi-1 Ekspresyonu	Yaşam süresi (ay)
Hafif (grup1) (n:55)	55
Orta (grup 2) (n:31)	50
Belirgin (grup3) (n:11)	44
Toplam (N:97)	49.8

Belirgin Musashi-1 ekspresyonu gösteren olguların yaşam süresi (44 ay), hafif derecede Musashi-1 ekspresyonu gösteren olgulara göre (55 ay) daha azdır. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.



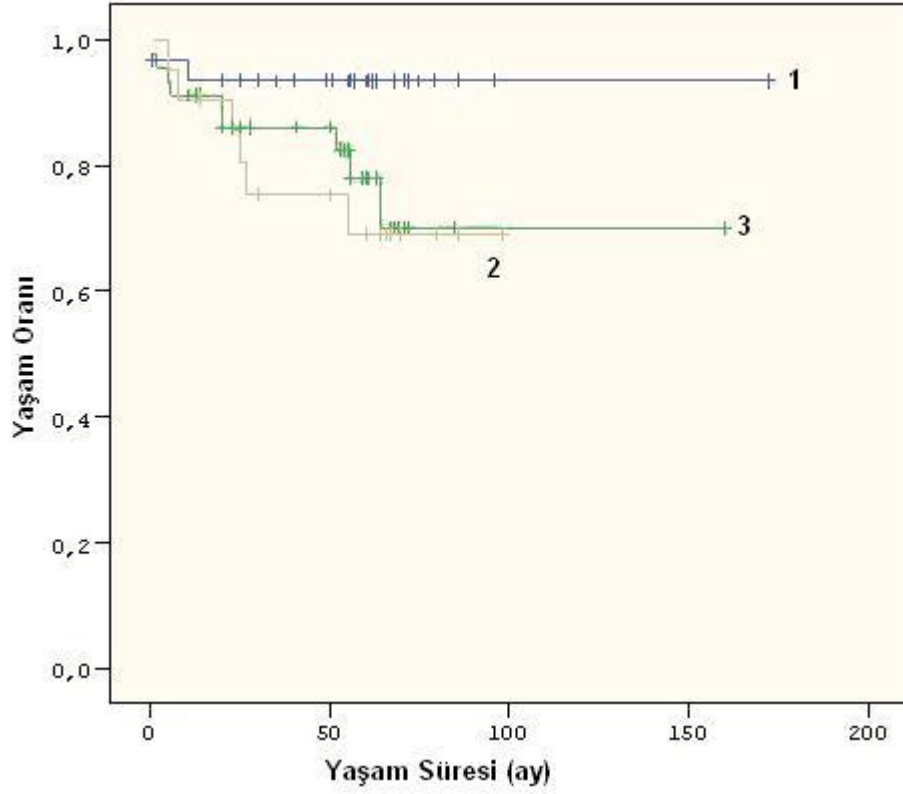
Şekil 4.3:Kaplan-Meier eğrisinde Musashi-1 ekspresyonunun yaşam süresi ile ilişkisi (1:Hafif derecede ekspresyon, 2:Orta derecede ekspresyon, 3:Belirgin derecede ekspresyon)

4.5.16. CD133 Ekspresyonunun Yaşam Süresi ile İlişkisi:

Hafif derecede CD133 eksprese eden 31 olgunun bulunduğu grup 1 de ortalama yaşam süresi 55 ay, orta derecede ekspresyon gösteren 45 olgunun bulunduğu grup 2 de 45 ay ve belirgin CD133 ekspresyonu gösteren 21 olgunun bulunduğu grup 3 te ise 50 aydır. CD133 ekspresyonu ile yaşam süresi arasında anlamlı fark izlenmemiştir. (Tablo 4.25)

Tablo 4.25: CD133 ekspresyonunun ortalama yaşam süresi ile ilişkisi

CD133 Ekspresyonu	Yaşam süresi (ay)
Hafif (grup1) (n:31)	55
Orta (grup 2) (n:45)	45
Belirgin (grup3) (n:21)	50
Toplam (n:97)	49.8



Şekil 4.4: Kaplan-Meier eğrisinde CD133 ekspresyonunun yaşam süresi ile ilişkisi (1:Hafif derecede ekspresyon, 2:Orta derecede ekspresyon, 3:Belirgin derecede ekspresyon)

4.5.17 CD133 ve Musashi-1 ekspresyonlarının birbiri ile karşılaştırılması

CD133 ve Musashi-1 ekspresyonları birbirleri ile karşılaştırıldığında orta derecede korelasyon saptanmıştır. ($R=0.693$, $p=0.001$)

V TARTIŞMA

Kolorektal kanser, gelişmiş ülkelerde tüm kanser türleri arasında 3.ncü sıklıkta görülmekte ve ölüme neden olma bakımından erkeklerde akciğer, kadınlarda meme kanserinden sonra 2.nci sırada olup; önemli bir sağlık problemidir.

Kolon tümörlerinde tümörün histolojik derecesi, TNM durumu, klinik evre, uzak metastaz olup olmaması, lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon gibi konvansiyonel prognostik faktörlerin dışında ek olarak; son yıllarda hücresel ve moleküler düzeyde (kök hücre konsepti, EGFR, MSI-high vb.) farklı birtakım prognostik faktörler de araştırılmaktadır.

Son yıllarda popüleritesi giderek artan konuların başında gelen “karsinogenezde kök hücre konseptinin” en çok araştırıldığı tümörlerin başında kolorektal karsinomalar gelmektedir. Kolon kanserlerinde şimdiye kadar birçok kök hücre belirleyicisi tanımlanmıştır. Bunlardan en iyi bilinenleri CD133, CD166, CD44, EpCAM, kludin-7 ve Musashi-1 dir. Birçok araştırmacı bu yüzey moleküllerinin kanser başlatıcı hücrelerin belirlenmesinde kullanılabileceğini savunmaktadırlar⁹⁵⁻¹⁰².

Kök hücreler hem uzun yaşam süreleri hem de kendi kendilerini yenileyebilme kabiliyetleri nedeniyle mutasyonlara açık bir hedef olmuşlardır ve bu özelliklerinden dolayı kanseri başlatan hücrelerin kök hücreler olduğu üzerinde durulmaktadır.

Kök hücrelerin tümörün hem başlangıç hem de invazyon ve metastaz aşamalarında rol oynadıkları düşünülmektedir. Bu nedenle tümördeki kök hücre yoğunluğunun hastalığın prognozuna olumsuz yönde etki edeceği hipotezi de gündeme gelen diğer bir konudur. Bu hipotezden yola çıkarak kolorektal kanserlerde kök hücre yoğunluğunun prognozla ilişkisini araştırmayı amaçladık ve kök hücre yoğunluğunu immünohistokimyasal yöntemle belirleyebilmek için CD133 ve Musashi-1 antikorlarını kullandık. Çalışmaya dahil ettiğimiz olguların tümü (97 olgu) heterojen CD133 ve Musashi-1 ekspresyonu göstermektedir.

Musashi-1 ilk olarak nöral progenitör hücrelerde tanımlanmış, Msi-1 geni tarafından kodlanan, hücre içinde sitoplazmada bulunan RNA bağlayıcı bir proteindir. Bu proteinin, diferansiye hücreleri meydana getiren progenitör hücrelerin erken asimetrik bölünme aşamasında görev yaptığı bilinmektedir. Santral sinir sisteminde tümörögenezdeki rolünün, apoptozu engellemek ve mitotik bölünmeyi arttırmak yoluyla olduğu düşünülmektedir. Ancak kolorektal karsinogenezdeki patogenetik rolü henüz çok açık değildir¹⁰³.

Nöral dokudan başka, Musashi-1'in gastrointestinal sistem mukozası, böbrek tübül epiteli, meme duktus epiteli gibi neoplastik olmayan epitelyal dokularda da ekspresyonu gösterilmiştir¹⁰⁶.

Normal kök hücre belirleyicisi olması dışında gliyomlarda, melanomlarda ve karaciğer tümörlerinde Musashi-1 ekspresyonunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır^{107,108}. Özellikle gliyomlarda yapılan çalışmalarda yüksek ekspresyon seviyesinin yüksek tümör derecesi ve yüksek proliferatif aktivite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir¹⁰⁹.

Son yıllarda kolorektal tümörlerde de Musashi-1'in kök hücre belirleyicisi olabileceğini gösteren çalışmalar yapılmıştır¹⁰⁵.

Bunlardan biri Sureban ve ark. tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada araştırmacılar hayvan deneylerinde in vivo ksenogreftlerde Musashi-1 proteinini bozarak tümörün gelişimini durdurmayı başarmıştır. Ayrıca Musashi-1 proteininin parçalanması neoplastik hücrelerde apoptozu indüklemiştir¹⁰³. Bu çalışma Musashi-1 antikörünün terapötik bir hedef olabileceği bakımından da umut vericidir.

Dimitriadis ve ark. tarafından yapılan çalışmada onkofetal RNA-bağlayıcı bir protein olan CRD-BP/IMP'in metastaz yapan ve rekürrens gösteren tümörlerde daha sıklıkla eksprese edildiğini ve bu proteinin ekspresyonunun Musashi-1 ekspresyonu ile orantılı olduğunu, dolayısıyla hastalığın yayılımı ve kötü prognoz ile ilişkili olduğunu savunmuşlardır¹⁰⁴.

Çalışmamızda da belirgin derecede Musashi-1 eksprese eden grubun ortalama yaşam süresinin (44 ay), hafif derecede Musashi-1 eksprese eden grubun ortalama yaşam süresine (55 ay) göre daha kısa olduğu dikkatimizi çekmiştir. Aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmasa bile bu bulgu,

kolorektal tümörlerde bir kök hücre belirleyicisi olarak kabul edilen Musashi-1'in ekspresyonu arttıkça hastaların ortalama yaşam süresinin kısalmakta olduğunu göstermektedir. (Tablo 4.24)

Ayrıca Musashi-1'i yoğun olarak eksprese eden olguların bulunduğu gruptaki (grup3) 11 olgunun 10'unda (%90) tümör kas tabakasına (4 olgu-%37) ve serozal yüzeye (6 olgu-%43) infiltredir (Tablo 4.12)

Ancak Musashi ekspresyonu ile tümörün histolojik derecesi, klinik evre, lenf nodu metastazı veya uzak metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Aynı şekilde hastaların sağ kalım oranlarına baktığımızda hafif derecede Musashi-1 eksprese eden grup1'in sağ kalım oranı (%88) ile belirgin derecede Musashi-1 eksprese eden grup3'ün sağ kalım oranı (%82) arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p=0.648$) (Tablo 4.22)

CD133; prominin olarak da bilinen, hücre sitoplazmasının luminal yüzeye bakan kısımda yerleşim gösteren, pentaspan transmembran protein ailesinin bir üyesidir. Hematopoetik ve nöral dokular başta olmak üzere birçok organda kök hücre özelliği gösteren hücrelerde ekspresyonu saptanmıştır¹¹⁰.

CD133'ün kolon tümörlerinde kök hücre belirleyicisi olarak kullanılabileceğini gösteren birçok çalışma vardır. Bunlardan; O'brien ve ark. tarafından yapılan çalışmada insan kolon tümörlerinden elde edilen dokular epidermal büyüme faktörleri içeren serumsuz hücre kültürlerinde bekletilerek CD133⁺ kolon sferleri elde edilmiş ve bunlar immün sistemi baskılanmış (NOD/SCID) farelerin böbrek kapsülü altına enjekte edildiğinde deney hayvanında aynı tümör oluşturulabilmiştir. Deneysel olarak oluşturulan tümörün, orijinal tümör ile aynı fenotipik ve benzer immünohistokimyasal özelliklere sahip; fakat davranış olarak ondan çok daha agresif olduğu bildirilmiştir⁹⁶.

CD133 ekspresyonu varlığının bazı solid organ tümörlerinde tedaviye tümör direncini artırdığını, kötü prognoz ile ilişkili olduğunu, hatta ayırıcı tanıda kullanılabileceğini gösteren çalışmalar da vardır^{111,112}. Kolon tümörlerinde yapılan çalışmalarda CD133 ekspresyonunun ileri tümör evresi,

kötü prognoz, kısa hastalısız sağ kalım süresi ve kısa beklenen yaşam süresi ile ilişkili kötü prognostik bir kriter olduğu gösterilmiştir¹¹¹.

Kojima ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada 189 hastadan oluşan bir seri retrospektif olarak incelenmiştir. Olguların hastalısız yaşam süreleri bakımından anlamlı bir fark olmasa da; toplam yaşam sürelerinin, CD133'ü yüksek oranda eksprese eden grupta daha kısa olduğu bulunmuştur. Dolayısıyla CD133 yüksek ekspresyonunun iyi ve orta derecede diferansiye tümörlü hastalarda azalmış toplam yaşam süresi için bir risk faktörü olabileceğini bildirmişlerdir.¹⁰⁰

Yasuda ve ark CD133 ekspresyonunun uzak dönem rekürrens ve metastaz açısından bir risk faktörü olduğunu savunmuşlardır¹¹².

Horst ve ark tarafından yapılan diğer bir çalışmada da kolorektal kanserde yüksek CD133 ekspresyonunun, düşük yaşam süresi ve düşük sağ kalım oranı için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir¹⁰².

Bu çalışmada da; sağ kalım oranları dikkate alındığında hafif derecede CD133 eksprese eden olguların sağ kalım oranı (yani hayatta olanların tüm olgulara oranı) (%94) ile belirgin derecede CD133 eksprese eden olguların sağ kalım oranı (%70) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.043$). Bu fark, kolorektal tümörlerde bir kök hücre belirleyicisi olarak kabul edilen CD133'ün ekspresyonu arttıkça hastaların sağ kalım oranlarının azaldığını göstermektedir. (Tablo 4.23)

Ayrıca Musashi-1 de olduğu gibi CD133 ekspresyonunun yüksek olduğu olgularda da (toplam 21 olgunun 19'unda) (yaklaşık %90) tümör lokal olarak ileri düzeydedir. (T3 ve T4). 19 olgudan 5'i T3 ve 14'ü T4 seviyesindedir. (Tablo 4.13)

Hastalısız yaşam sürelerine bakıldığında CD133 ekspresyonunu ile yaşam süreleri arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. (Tablo 4.25) Aynı şekilde CD133 ekspresyonu ile, tümörün histolojik derecesi, klinik evre, lenf nodu metastazı veya uzak metastaz arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır.

Her iki antikorun birbiri ile ilişkisine bakıldığında CD133 ekspresyonu ile Musashi-1 ekspresyonlarının birbiri ile korele olduğu dikkati çekmiştir ($R=0.693$, $p=0.001$)

VI SONUÇ

Özet olarak şunu söyleyebiliriz ki; hastalıksız yaşam süresi ortalamaları incelendiğinde Musashi-1 ekspresyonu arttıkça hastalıksız yaşam süresinin kısaldığı dikkati çekmiştir. Bu da Musashi-1 ekspresyonunun azalmış hastalıksız yaşam süresi ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Sağ kalım oranlarında ise CD133 ekspresyonunu arttıkça sağ kalım oranının %94'ten %70'e düşmesi, CD133 ekspresyonunun azalmış sağ kalım oranı bakımından kötü prognostik bir faktör olduğunu göstermiştir.

Hem CD133 hem de Musashi-1 antikoru ile tümörün derinliği (T) açısından anlamlı bir fark mevcuttur. Bilindiği gibi tümörün invazyon derinliği arttıkça hastalığın prognozu kötüleşmektedir. Bu nedenle CD133 ve Musashi-1'in yüksek ekspresyonu tümör derinliği bakımından kötü prognostik faktör olduğu söylenebilir.

CD133 ekspresyonu ile Musashi-1 ekspresyonlarının birbiri ile korele olduğu görülmektedir.

Ancak CD133 ve Musashi-1'in tümördeki ekspresyon yüzdeleri ile tümörün histolojik derecesi (farklılaşma), klinik evre, lenf nodu metastazı (N), uzak metastaz (M) ve tümör yerleşim yeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Sonuç olarak; her ikisi birlikte değerlendirildiğinde, kök hücre belirleyicisi olarak bilinen CD133 ve Musashi-1'in tümörde artmış ekspresyonu, kolorektal kanser için azalmış hastalıksız yaşam süresi ve azalmış hayatta kalma oranı ile ilişkilidir ve kötü prognostik bir faktördür.

KAYNAKLAR

1. Lotem J, Sachs L. Epigenetics and the plasticity of differentiation in normal and cancer stem cells. *Oncogene*. 2006; 25:7663–7672.
2. Mintz B, Illmensee K. Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1975; 72:3585–3589.
3. Brinster RL. Participation of teratocarcinoma cells in mouse embryo development. *Cancer Res*. 1976; 36:3412–3414.
4. Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature*. 1994; 367:645–648.
5. Al-Hajj M, Clarke MF. Self-renewal and solid tumor stem cells. *Oncogene*. 2004; 23:7274–7282.
6. Dontu G, Al-Hajj M, Abdallah WM, Clarke MF, Wicha MS. Stem cells in normal breast development and breast cancer. *Cell Prolif*. 2003; 1:59–72.
7. Knudson AG Jr, Strong LC, Anderson DE. Heredity and cancer in man. *Prog Med Genet*. 1973; 9:113–158.
8. Baum CM, Weissman IL, Tsukamoto AS, Buckle AM, Peault B. Isolation of a candidate human hematopoietic stem-cell population. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992; 89:2804–2808.
9. Spangrude GJ, Aihara Y, Weissman IL, Klein J. The stem cell antigens Sca-1 and Sca-2 subdivide thymic and peripheral T lymphocytes into unique subsets. *J Immunol*. 1988; 141:3697–3707.
10. Civin CI, Gore SD. Antigenic analysis of hematopoiesis: a review. *J Hematother*. 1993; 2:137–144.

11. Spits H, Lanier LL, Phillips JH. Development of human T and natural killer cells. *Blood*. 1995; 85:2654–2670.
12. Matsui W, Huff CA, Wang Q, et al. Characterization of clonogenic multiple myeloma cells. *Blood*. 2004; 103:2332–2336.
13. Hosen N, Park CY, Tatsumi N, et al. CD96 is a leukemic stem cell-specific marker in human acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; 104:11008–11013.
14. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*. 2001; 414:105–111.
15. Raff M. Adult stem cell plasticity: fact or artifact? *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2003; 19:1–22.
16. Smalley M, Ashworth A. Stem cells and breast cancer: a field in transit. *Nat Rev Cancer*. 2003; 3:832–844.
17. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100:3983–3988.
18. Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, et al. Identification of human brain tumor initiating cells. *Nature*. 2004; 432:396–401.
19. Kodner J, Robert DF, James WF. Colon, rectum, anus. In: Schwartz S, Shires T, Spencer F, Husser CW (Eds.). *Principles of Surgery*. New York: Mc Graw Hill Co; 1999.p.1265-382.
20. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Smigal C, Thun MJ, et al. Cancer statistic, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007;57(1):43-66.
21. Kuşakçioğlu Ö. *Kolorektal Kanser Hastalıkları*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2003:1-27.
22. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistic, 1999. *CA Cancer J Clin* 1999;49(1):33-64.

23. <http://www.saglik.gov.tr/TR/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFF71BE64510F6C8BC92747D9FFFE7A1226>, Sağlık Bakanlığı Web Sitesi.
24. Gönen Ö. Kolorektal Kanser Epidemiyolojisi, Kolorektal Özel Sayısı. Türkiye Klinikleri Journal of Surgery 2004;9:57-65
25. Erarslan E, Türkay C. Kolorektal Kanser Etyolojisi ve Predispozan Faktörler. Güncel Gastroenteroloji 2007;11:19-26.
26. Majerus E, Birnbaum E, Picus J. Colorectal Malignancies. İn: Govindan R, Arquette M (Eds.). The Washington Manual of Oncology. Philadelphia: Lippincott WW; 2002.p.191-202.
27. Norat T, Bingham S, Ferrari P, Slimani N, Jenab M, Mazuir M, et al. Meat, fish and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. J Natl Cancer 2005;97(12):906-16.
28. Bird RP, Yao K, Lasko CM, Good CK. Inability of low-or high-fat diet to modulate late stages of colon carcinogenesis in Sprague-Dawley rats. Cancer Res 1996;56(13):2896-9.
29. Kumar V, Robbins S, Cotran R (Çeviri: U. Çevikbaş). Temel Patoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000:505-514.
30. Giovannucci E. Epidemiologic studies of folate and colorectal neoplasia: a review. J Nutr 2002;132(8):2350-5. Grau MV, Baron JA, Sandler RS, Haile RW, Beach ML. Vitamin D, calcium supplementation and colorectal adenomas; results of a randomized trial. J Natl Cancer Inst 2003;95(23):1765-71.
31. Kearney J, Giovannucci E, Rimm EB, Ascherio A, Stampfer MJ, Colditz GA, et al. Calcium, vitamin D and dairy foods and the occurrence of colon cancer in men. Am J Epidemiology 1996;143(9):907-17.

32. Grau MV, Baron JA, Sandler RS, Haile RW, Beach ML. Vitamin D, calcium supplementation and colorectal adenomas; results of a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2003;95(23):1765-71
33. Garcia Rodriguez LA, Huerta-Alvarez C. Reduced incidence of colorectal adenoma among long-term users of nonsteroidal antiinflammatory drugs: a pooled analysis of published studies and a new population-based study. *Epidemiology* 2000;11(4):376-81.
34. Chan AT, Giovannucci EL, Meyerhardt JA, Schernhammer ES, Curhan GC, Fuchs CS. Long-term use of aspirin and nonsteroidal antiinflammatory drugs and colorectal cancer. *JAMA* 2005;294(8):914-23.
35. Smalley W, Ray WA, Daugherty J, Griffin MR. Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and incidence of colorectal cancer: a population based study. *Arch Intern Med* 1999;159(2):161-6.
36. Otake S, Takeda H, Suzuki Y, Fukui T, Watanabe S, Ishihama K, et al. Association of visceral fat accumulation and plasma adiponectin with colorectal adenoma: Evidence for Participation of Insulin Resistance. *Clin Cancer Res* 2005;11:3642-6.
37. Keku TO, Lund PK, Galanko J, Simmon JG, Woosley JT, Sandler RS. Insulin resistance, apoptosis and colorectal adenoma risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14(99):2076-81.
38. Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. Physical activity, obesity and risk for colon cancer and adenoma in men. *Ann Intern Med* 1995;122(5):327-34.
39. Skibber JM, Minsky BD, Hoff PM. Cancer of the colon. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (Eds.). *Cancer, Principles and Practice of Oncology*. 6th ed. Philadelphia: Lipincott Williams and Wilkins; 2001.p.1216-71.

40. Nuako KW, Ahlquist DA, Mahoney DW, Schaid DJ, Siems DM, Lindor NM. Familial predisposition for colorectal cancer in chronic ulcerative colitis: a case-control study. *Gastroenterology* 1998;115(5):1079-83.
41. Gillen CD, Andrew HA, Prior P, Allan RN. Crohn's Disease and colorectal cancer. *Gut* 1994;35(5):651-5.
42. Winawer SJ, Zauber AG, Gerdes H, O'Brien MJ, Gottlieb LS, Stenberg SS, et al. Risk of colorectal cancer in the families of patient with adenomatous polyp. National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1996;334(20):1339-40.
43. Michell RJ, Ferrington SM, Dunlop MG and H Campbell. Mismatch repair genes hMLH1 and hMSH2 and colorectal cancer. *Am J Epidemiol* 2002;156:885-902.
44. Rutsgi AK. The genetics of hereditary colon cancer. *Genes Dev* 2007;21(20):2525-38.
45. Rodriguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR, Henson DE, Jass JR, Khan PM, et al. A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90(12):939-40.
46. Lagersstedt RK, Liu T, Vandrovicova J, Halvarsson B, Clendenning M, Frebourg T, et al. Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) diagnostics. *J Natl Cancer Inst* 2007;99(4):291-9.
47. Turunen MJ, Kivilaakso EO. Increased risk of colorectal cancer after cholecystectomy. *Ann Surg* 1991;194(5):639-41.
48. Mercer PM, Reid FD, Harrison M, Bates T. The relationship between cholecystectomy, unoperated gallstone disease and colorectal cancer. A necropsy study. *Scand J Gastroenterology* 1995;30(10):1017-20.

49. Bogazzi F, Cosci C, Sardella C, Costa A, Manetti L, Rossi G, et al. Identification of acromegalic patient at risk of developing colonic adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(4):1351-6.
50. Özbal AN, Karahasanoğlu T. Kolon Kanserinde Klinik. Alemdaroğlu K, Akçal T, Buğra D (Editörler). *Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları*. İstanbul: Türk Kolon ve Rektum Cerrahi Derneği; 2003.s.421-5.
51. Menteş B, Leventoğlu S. Kolorektal Kanserlerin Klinik Özellikleri, Kolorektal Özel Sayısı. *Türkiye Klinikleri Journal of Surgery* 2004;9:36-8.
52. Bozfakıoğlu Y, Müslümanoğlu M. Kolon Hastalıkları. Değerli Ü, Bozfakıoğlu Y (Editörler). *Cerrahi Gastroenteroloji*. 4. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1997.s.142-68.
53. Duffy MJ. Carcinoembryonic antigen as a marker for colorectal cancer: is it clinically useful? *Clin Chem* 2001;624-30.
54. Türkçapar N, Özden A. Tümör Markırları ve Klinik Önemi. *Güncel Gastroenteroloji* 2005;9(4):271-81.
55. Akarsu M, Şimşek İ. Kolorektal Kanser İçin Tarama, Kolorektal Özel Sayısı. *Türkiye Klinikleri Journal of Surgery* 2004;9:28-35.
56. Walsh JM, Terdiman JP. Colorectal cancer screening: scientific review. *JAMA* 2003;289(10):1288-96.
57. Pignone M, Rich M, Teutsch SM, Berg AO, Lohr KN. Screening for colorectal cancer in adults at average risk: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task force. *Ann Intern Med* 2002;137(2):132-41.
58. Meme, Gastrointestinal Sistem, Akciğer Kanserlerinde Tanı-Tedavi ve Takip, Antalya Konsensusu 2003. Aydın A, Topuz E (Editörler). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2004. s.49.

59. Küpeliöğlu AA. Kolorektal Kanserde Histopatoloji, Kolorektal Özel Sayısı. Türkiye Klinikleri Journal of Surgery 2004;9:25-7.
60. Doğusoy G. Kolon Kanserinin Patolojik Özellikleri. Alemdaroğlu K, Akçal T, Buğra D (Editörler). Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları. İstanbul: Türk Kolon ve Rektum Cerrahi Derneği; 2003.s.413-20.
61. Sökmen S. Kolorektal Kanserde Prognoz, Kolorektal Özel Sayısı. Türkiye Klinikleri Journal of Surgery 2004;9:57-65.
62. Compton CC. Colorectal carcinoma: diagnostic, prognostic, and molecular features. Mod Pathol 2003;16(4):376-88.
63. Kodner J, Robert DF, James WF. Colon, rectum, anus. İn: Schwartz S, Shires T, Spencer F, Husser CW (Eds.). Principles of Surgery. New York: Mc Graw Hill Co; 1999.p.1265-382.
64. Miskovitz P, Betancourt M. What to do you if you get colon cancer. New York: John Wiley & Sons, 1997.p.34-43.
65. Nelson H, Petrelli N, Carlin A, Couture J, Fleshman J, Guillem J, et al. National Cancer İnstitute Expert Panel. Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. J Natl Cancer İnst 2001;93(8):583-96.
66. Aydıner A, Topuz E, Özmen V, Şakar B, Dinçer M. Gastrointestinal Sistem Tümörleri. Aydıner A, Topuz E (Editörler). Onkoloji El Kitabı. İstanbul: Turgut Yayıncılık; 2006.s.199-267.
67. Compton CC, Greene FL. The staging of colorectal cancer: 2004 and beyond. CA Cancer J Clin 2004;54(6):295-308.
68. Kuzu MA, Demirkıran A. Kolon Kanserinin Küratif Cerrahi Tedavisi. Alemdaroğlu K, Akçal T, Buğra D (Editörler). Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları. İstanbul: Türk Kolon ve Rektum Cerrahi Derneği; 2003.s.427-50.

69. Terzi C, Ünek T. Kolon Kanserinde Cerrahi Tedavi. Kolorektal Özel Sayısı. Türkiye Klinikleri Journal of Surgery 2004;9:71-80.
70. Martenson JA, Willett CG, Sargent DJ, Mailliard JA, Donohue JH, Gunderson LL, et al. Phase III study of adjuvant chemotherapy and radiation therapy compared with chemotherapy alone in the surgical adjuvant treatment of colon cancer: results of intergroup protocol 0130. J Clin Oncol 2004;22(16):3277-83.
71. Göker E, Şanlı UA. Kolon Kanserinde Adjuvan Kemoterapi, Kolorektal Özel Sayısı. Türkiye Klinikleri Journal of Surgery 2004;9:81-6.
72. Twelves C, Wong A, Nowacki MP, Abt M, Caarrato A, Cassidy J, et al. Capecitabine as adjuvant treatment for stage III colon cancer. N Engl J Med 2005;352(26):2696-704
73. Gramont A, Boni C, Navarro M, Tabernero J, Hickish T, Topham C, et al. Oxaliplatin/5FU/LV in adjuvant colon cancer: Updated efficacy results of the MOSAIC trial, including survival, with a median follow-up of six years. Proceedings of the 2007 ASCO Annual Meeting Abstract Book p.106, Chicago, 2007.
74. Alabaz Ö. Kolon Kanserinde Tedavi Sonuçları. Alemdaroğlu K, Akçal T, Buğra D (Editörler). Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları. İstanbul: Türk Kolon ve Rektum Cerrahi Derneği; 2003.s.457-63.
75. Mills SE. Intestinal Neoplasms. İn: Cooper HS (Ed.). Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology. Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins; 2004.p.1543-601.
76. Güler N. Tümör Belirleyicileri. İskender Sayek (Editör). Temel Cerrahi. Ankara: Güneş Kitabevi; 2004.s.581-90.
77. Reiter W, Stieber P, Reuter C, Nagel D, Lau-Werner U, Lamerz R. Multivariate analysis of the prognostic value of CEA and CA 19-9 serum levels in colorectal cancer. Anticancer Res. 2000;20(6):5195-8.

78. Aykan NF, Kolorektal Kanser. Topuz E, Karadeniz AN, Aydiner A (Editörler). Klinik Onkoloji. İstanbul: Sonuç Tic. Ltd. Şti.; 2000.s.90-5.
79. Osmanoğlu H, Sözbilen M. Tıkayıcı Kolon Kanserlerine Yaklaşım. Alemdaroğlu K, Akçal T, Buğra D (Editörler). Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları. İstanbul: Türk Kolon ve Rektum Cerrahi Derneği; 2003.s.465-72.
80. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. Arch Pathol Lab Med 2000;124:979-94.
81. Malassagne B, Valleur P, Serra J. Relationship of apikal lymph node involvomento survival in resected colon carcinoma. Dis Colon Rectum 1993;36:645-53.
82. Sarioğlu S, Sökmen S, Terzi C, Özer E, Füzün M, Küpeliolu A. Relationship of angiogenesis and p53 protein expression in colorectal carcinomas. Colorectal dis 2001;3:38-41.
83. Lanza G, Gafa R, Santini A, Maestri I, Dubini A, Gilli G, et al. Prognostic significance of DNA ploidy in patients with stage II and stage III colon carcinoma: a prospective flow cytometric study. Cancer1998;82(1):49-59
84. Frattini M, Balestra D, Suardi S, Oggionni M, Alberici P, Radice P, et al. Different genetic features associated with colon and rectal carcinogenesis. Clin Cancer Res 2004;10(12):4015-21.
85. Powell SM, Zilz N, Beazer-Barclay Y, et al. APCmtations occur early during colorectal tumorigenesis. Nature 1992;359:235-7
86. Miyoshi Y, Ando H, Nagase H, et al. Germ-line mutations of the APC gene in 53 familial adenomatous polyposis patients. Proc Natl Acad Sci USA 1992;89:4452-6

87. Shih IM, Wang TL, Traverso G, et al. Top-down morphogenesis of colorectal tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:2640-5.
88. Preston SL, Wong WM, Chan AO, et al. Bottom-up histogenesis of colorectal adenomas: origin in the monocryptal adenoma and initial expansion by crypt fission. *Cancer Res* 2003;63:3819-25.
89. Nakamura S, Kino I. Morphogenesis of minute adenomas in familial polyposis coli. *J Natl Cancer Inst* 1984;73:41-9.
90. Novelli MR, Williamson JA, Tomlinson IP, et al. Polyclonal origin of colonic adenomas in an XO/XY patient with FAP. *Science* 1996;272:1187-90.
91. Campbell F, Williams GT, Appleton MA, et al. Post-irradiation somatic mutation and clonal stabilisation time in the human colon. *Gut* 1996;39:569-73.
92. Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, et al. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature* 2007;445:111-5.
93. Dalerba P, Dylla SJ, Park IK, et al. Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:10158-63.
94. Weichert W, Knosel T, Bellach J, et al. ALCAM/CD166 is overexpressed in colorectal carcinoma and correlates with shortened patient survival. *J Clin Pathol* 2004;57:1160-4
95. L Ricci-Vitiani, A Pagliuca, E Palio, A Zeuner, R De Maria Colon cancer stem cells *Gut* 2008; 57:538-48
96. O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, et al. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature* 2007;445:106-10.

97. Naotsugu Haraguchi, et al. CD133⁺ ve CD44⁺ Population efficiently enriches colon cancer initiating cells. *Annals of Surgical Onc.* 15(10):2927-33
98. MA Chaudry et al. EpCAM an immunotherapeutic target for gastrointestinal malignancy: current experience and future challenges *Br. J. Of Cancer* (2007) 96, 1013-9
99. Sebastian Kuhn, et al. A complex of EpCAM, clauin-7, CD44 variant isoforms, and tetraspanins promotes colorectal cancer progression *Mol Cancer Res* 2007;5(6):553-67
100. Motohiro Kojima, et al. Immunohistochemical detection od CD133 expression in colorectal cancer: A clinicopathologic study. *Cancer Sci* August 2008 vol 99 no 8 1578-83
101. Pohl A, et al Stem cells in colon cancer *Clin Colorectal Cancer.* 2008 Mar; 7(2):92-8
102. Horst D, et al. CD133 expression is an independent prognostik marker for low survival in colorectal cancer *Br J Cancer.* 2008 Oct 21;99(8):1285-9
103. Sureban et al. Knockdown of RNA Binding Protein Musashi-1 Leads to Tumor Regression In Vivo. *Gastroenterology* 2008;134:1448–1458
104. Dimitriadis et al. Expression of oncofetal RNA-binding protein CRD BP/IMP1 predicts clinical outcome in colon cancer. *Int. J. Cancer:* 121, 486–494 (2007)
105. Potten CS et al. Identification of a putative intestinal stem cell and early lineage marker; musashi-1. *Differentiation.* 2003 Jan;71(1):28-41.
106. Potten, C. S, Booth, C., Tudor, G. L., Booth, D., Brady, G., Hurley, P., Ashton, G., Clarke, R., Sakakibara, S., and Okano, H.(2003) Identification of a putative intestinal stem cell and early lineage marker; Musashi-1. *Differentiation* 71, 28–41. 72.

107. Toda M, Iizuka Y, Yu W, Imai T, Ikeda E, Yoshida K, Kawase T, Kawakami Y, Okano H, Uyemura K: Expression of the neural RNA-binding protein Musashi-11 in human gliomas. *Glia* 2001, 34(1):1-7. 73.
108. Shu HJ, Saito T, Watanabe H, Ito JI, Takeda H, Okano H, Kawata S. Expression of the Musashi1 gene encoding the RNA-binding protein in human hepatoma cell lines. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002 Apr 26;293(1):150-4.
109. Kanemura Y, Mori K, Sakakibara S, Fujikawa H, Hayashi H, Nakano A, Matsumoto T, Tamura K, Imai T, Ohnishi T. Musashi1, an evolutionarily conserved neural RNA-binding protein, is a versatile marker of human glioma cells in determining their cellular origin, malignancy, and proliferative activity. *Differentiation*. 2001 Sep;68(2-3):141-52.
110. Corbeil D, Röper K, Hellwig A, Tavian M, Miraglia S, Watt S, Simmons P, Peault B, Buck D, Huttner W. The human AC133 hematopoietic stem cell antigen is also expressed in epithelial cells and targeted to plasma membrane protrusions. *J Biol Chem* (2000) 275 (8): 5512–20.
111. Horst D, Kriegl L, Engel J, Kirchner T, Jung A. Prognostic significance of the cancer stem cell markers CD133, CD44, and CD166 in colorectal cancer. *Cancer Invest*. 2009 Oct;27(8):844-50.
112. Yasuda H, Tanaka K, Saigusa S. Elevated CD133, but not VEGF or EGFR, as a predictive marker of distant recurrence after preoperative chemoradiotherapy in rectal cancer. *Oncol. Rep.* (2009) 22 (4): 709–17.
113. Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ, Maitland NJ. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res*. 2005; 65:10946–10951.
114. Kim CF, Jackson EL, Woolfenden AE, et al. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell*. 2005; 121:823–835.

115. Suetsugu A, Nagaki M, Aoki H, Motohashi T, Kunisada T, Moriwaki H. Characterization of CD133C hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006; 351:820–824.
116. Li C, Heidt DG, Dalerba P, et al. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res*. 2007; 67:1030–1037.