

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**KOLOREKTAL KARSİNOMA VE ÖNCÜ LEZYONLARINDA
MİKROSATELLİT İNSTABİLİTESİNİN
İMMÜNHİSTOKİMYASAL OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Seher YÜKSEL

**TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Berna SAVAŞ**

**ANKARA
2014**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**KOLOREKTAL KARSİNOMA VE ÖNCÜ LEZYONLARINDA
MİKROSATELLİT İNSTABİLİTESİNİN
İMMÜNHİSTOKİMYASAL OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Seher YÜKSEL

**TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Berna SAVAŞ**

“Bu çalışma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
Koordinatörlüğü tarafından 13L3330019 Proje
numarası ile desteklenmiştir.”

**ANKARA
2014**

KABUL VE ONAY

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Seher YÜKSEL	Tarih: 24/01 / 2014
Anabilim/Bilim Dalı	: Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı	: Doç.Dr.Berna SAVAŞ	

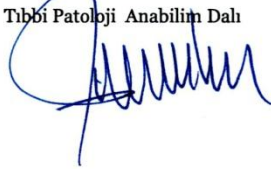
II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı: : Kolorektal karsinoma ve öncü lezyonlarında mikrosatellit instabilitesinin immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi	
Tezin Niteliği:	☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☒ 1 ☐ 2 ☐ 3

III. KARAR
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak ☒ Kabulüne ☐ Reddine ☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine oy birliği ile karar verilmiştir.

IV. AÇIKLAMALAR
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

Jüri Başkanı

Prof.Dr.İşın KUZU
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı



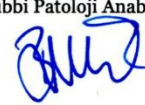
Jüri Üyesi

Prof.Dr.Ayşe SERTÇELİK
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı



Jüri Üyesi

Doç.Dr.Berna SAVAŞ
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı



ÖNSÖZ

Tezimin tüm aşamalarında desteğini ve yardımını esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Berna SAVAŞ'a, uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde katkısı olan, beni patoloji ailesine kabul eden ve her zaman destek veren A.Ü.T.F Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında görevli tüm değerli hocalarıma teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca çalıştığım ve asistanlığım boyunca hep yanımda olan uzman ve asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim. Beni hiç yalnız bırakmayan, desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen Elçin KADAN, Banu İNCE ALKAN, Ayşegül EROL, Hilal ÖZAKINCI, Seda AKTÜRK, Hale KIVRAK, Fatma ALTINTAŞ, Sonay KUŞ, Melahat MUSAYEVA, Ahmet Faruk ARMAN ve Aslıhan YAVAŞ CAN'a teşekkür ederim.

Ayrıca tezimin hazırlanması boyunca bana yardımcı olan A.Ü.T.F Patoloji ve İmmünopatoloji laboratuvarı çalışanlarına; arşiv materyallerinin elime ulaşmasında ve çalışma ortamımın sağlanmasında yardımlarını esirgemeyen Yusuf ASLAN ve Alahattin ALPTEKİN'e, doku "array" bloklarının yapımında büyük emeği olan Dilek ŞANVER'e, kesitlerin hazırlanmasında yardımını esirgemeyen Mesut ÖZKALE'ye teşekkür ederim.

Tüm asistanlığım boyunca hep yanımda olan ve hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı sekreteri Fatma KARATAŞ ve Anabilim Dalı görevlisi Dursun DAĞCI'ya teşekkür ederim.

Hayatımın her anında, asistanlığım ve tez hazırlama dönemimde hep yanımda olan, sonsuz sabır ve ilgi gösteren, beni bugünlere getiren aileme teşekkür ederim.

Seher Yüksel

Ocak 2014

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Genel Bilgiler	4
2.1.1. Anatomi	4
2.1.2. Kan Dolaşımı	6
2.1.3. Venöz Drenaj	7
2.1.4. Lenfatik Drenaj	7
2.1.5. Sinirleri	8
2.1.6. Embriyoloji	8
2.1.7. Fizyoloji	8
2.1.8. Histoloji	9
2.1.9. Hücre Proliferasyonu	9
2.2. Kolorektal Karsinoma	10
2.2.1. Epidemiyoloji.....	10
2.2.2. Etyoloji.....	11
2.2.2.1. Diyet ve Yaşam Tarzı	11
2.2.2.2. Genetik Faktörler	12
2.2.2.3. Herediter Non-Polipozis Kolorektal Karsinoma (HNPCC-Lynch Sendrom).....	13
2.2.2.4. Polipozis Sendromları.....	16
2.2.2.5. Kronik inflamasyon	19
2.2.2.6. Diğer faktörler.....	20
2.3. Kolorektal Karsinogenez	20

2.3.1. Kromozomal İnstabilite (“Chromosomal instability”-CIN)	21
2.3.2. Mikrosatellit İnstabilite (MSI)	26
2.3.4. Epigenetik İnstabilite (CpG Ada Metilator Fenotip “CIMP”).....	31
2.4. Kolorektal Kanserlerde Moleküler Sınıflandırma	33
2.5. Kolorektal Karsinogeneze Morfolojik Spektrum	34
2.5.1. Adenoma-Karsinoma Sekansı.....	34
2.5.2. “Serrated” Neoplazi Sekansı.....	36
2.5.3. “Serrated” Polipozis.....	42
2.6. Kolorektal Kanserin Özellikleri	43
2.6.1. Karsinomlar	43
2.6.2. Lokalizasyon.....	44
2.6.3. Klinik Özellikler	44
2.6.4. Makroskopi	44
2.6.5. Kolon ve Rektum Tümörlerinde TNM Sınıflaması.....	45
2.6.6. Histopatoloji.....	47
2.6.7. Histolojik “Grade” leme	48
2.6.8. Tedavi	49
2.6.9. MSI Değerlendirmesi.....	50
3. MATERYAL VE METOD	52
3.1. Olgu Seçimi	52
3.2. Doku “Array” Yöntemi	54
3.3. İmmünohistokimyasal Boyama	55
3.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	55
3.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	56
4. BULGULAR	57
4.1. Olgular.....	57
4.1.1. Genel Bulgular-KRK Grubu	58
4.1.2. Genel Bulgular-Polip Grubu	61
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	64
4.2.1. KRK Grubunda İmmünohistokimyasal Bulgular	65
4.2.2. Polip Grubunda İmmünohistokimyasal Bulgular	70
5. TARTIŞMA	80

6. SONUÇLAR	103
ÖZET.....	106
SUMMARY	108
KAYNAKLAR	110

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AKO	: Aberan Kript Odağı
APC	: Adenomatöz polipozis koli
CIMP	: “CpG” ada hipermetilasyonu
CIN	: Kromozomal instabilite
FAP	: Familyal Adenomatöz Polipozis
HNPCC	: Herediter non-polipozis kolorektal karsinoma
HP	: Hiperplastik Polip
KRK	: Kolorektal Karsinoma
MLH1	: MutL homolog 1
MMR	: “Mismatch” onarım genleri
MSH2	: MutS homolog 2
MSH6	: MutS homolog 6
MSI	: Mikrosatellit İnstabilitesi
MSS	: Mikrosatellit Stabil
PCR	: “Polymerase Chain Reaction”
PMS2	: “Postmeiotic segregation 2”
SSA/P	: Sesil “Serrated” Adenom/Polip
TA	: Tübüler Adenom
TSA	: “Traditional Serrated” Adenom
TVA	: Tübülovillöz Adenom
VA	: Villöz Adenom

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Kolonun anatomisi	6
Resim 2.	Kolonun arterleri	7
Resim 3.	Tümör makroskopisi	45
Resim 4.	Olgu tiplerine ait histolojik resimler	53
Resim 5.	Doku “array” bloklarının hazırlanışı.....	54
Resim 6.	MLH1, MSH2, MSH6 VE PMS2 pozitif, MSS konvansiyonel adenokarsinoma olgusu.....	73
Resim 7.	MLH1, MSH2, MSH6 VE PMS2 pozitif, MSS müsinöz adenokarsinoma olgusu.....	74
Resim 8.	MLH1 VE PMS2 ekspresyon kaybı gösteren MSI konvansiyonel adenokarsinoma olgusu.....	75
Resim 9.	MLH1 VE PMS2 ekspresyon kaybı gösteren MSI müsinöz adenokarsinoma olgusu.....	76
Resim 10.	AP-TVA olgusuna ait mikroskopik ve immünhistokimyasal görüntüler	77
Resim 11.	Hiperplastik polip olgusuna ait mikroskopik ve immünhistokimyasal görüntüler	77
Resim 12.	SSA/P olgusuna ait mikroskopik ve immünhistokimyasal görüntüler	78
Resim 13.	TSA olgusuna ait mikroskopik ve immünhistokimyasal görüntüler	78
Resim 14.	“Serrated” polipozisli olguya ait odaksal MLH1 ekspresyon kaybı gösteren SSA/P.....	79

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Hereditör kalıtım gösteren KKK Sendromları.....	13
Tablo 2.	Kolorektal adenokarsinomlarda histolojik “grade” kriterleri.....	49
Tablo 3.	Olgu grupları ve sayıları.....	52
Tablo 4.	Kullanılan antikorların isimleri, klonları, dilüsyon oranları ve ticari isimleri	55
Tablo 5.	Olgu gruplarının dağılımı.....	57
Tablo 6.	Olguların TNM’ye göre dağılımı	60
Tablo 7.	Polip grubundaki olguların histolojik tipleri ve lokalizasyonları.....	62
Tablo 8.	KKK olgularının immünhistokimyasal markerlar ile boyanma oranları	65
Tablo 9.	MSI durumuna göre KKK olgularının grade dağılımı	69
Tablo 10.	MSS ve MSI olgularında invazyon derinliğinin TNM’ye göre dağılımı.....	69
Tablo 11.	Polip grubunda odaksal ekspresyon kaybı gösteren olguların özellikleri.....	72

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	T.C Sağlık Bakanlığı 2008 Kolorektal Kanser Tarama Programı Cinsiyete Göre Kanser İnsidansları	10
Şekil 2.	WNT ileti yolağı	23
Şekil 3.	RAS yolağı	26
Şekil 4.	E. Coli'deki DNA MMR sistem	28
Şekil 5.	MMR genleri	30
Şekil 6.	KRK olgularının anatomik yerleşim bölgeleri	58
Şekil 7.	Adenokarsinom olgularının cinsiyet ve yaş dağılımı	59
Şekil 8.	KRK olgularının Grade'i, TNM evresine göre dağılımı	60
Şekil 9.	Poliplerin tiplerine göre dağılımı	61
Şekil 10.	Polip grubundaki olguların anatomik lokalizasyona göre dağılımı	62
Şekil 11.	Poliplerin anatomik lokalizasyona göre dağılımı	63
Şekil 12.	Polip grubundaki olguların cinsiyet ve yaş dağılımı	63
Şekil 13.	Poliplerin displazi durumlarına göre dağılımı	64
Şekil 14.	KRK olgularının immünohistokimyasal markerlar ile boyanma oranları	66
Şekil 15.	KRK olgularında MSI saptanan olgu sayısı ve negatif markerların dağılımı	67
Şekil 16.	MSI gösteren tümörlerin lokalizasyonları	67
Şekil 17.	MSS ve MSI gösteren olguların cinsiyet dağılımı	68
Şekil 18.	MSI gösteren olguların histolojik tipine göre dağılımı	68
Şekil 19.	MSS ve MSI olgularında lenf nodu metastazının TNM'ye göre dağılımı	70
Şekil 20.	“Serrated” polipozisli olguya ait poliplerin ve odaksal MLH1 ekspresyon kaybı gösteren poliplerin histolojik tipleri ve dağılımı	71

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal karsinomlar (KRK) tüm dünyada kanser ilişkili ölümlerin en önemli nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. KRK erkeklerde akciğer, prostat ve mide kanserinden sonra 4.; kadınlarda meme ve uterin serviks kanserinden sonra 3. sırada görülmektedir (S.R. Hamilton 2010). KRK görülme sıklığı toplumlara göre değişmektedir. Multifaktöriyel nedenlerle oluşan KRK için risk 50-75 yaş arasında değişir ve yaş arttıkça risk oranı da yükselir. KRK klinik olarak ailesel, sporadik ve kalıtsal olarak sınıflandırılmaktadır (Clarens 2004).

Kolorektal karsinogenezis 3 farklı ana moleküler yolak içermektedir: Kromozomal instabilite, mikrosatellit instabilitesi (MSI) ve epigenetik instabilite yolakları (Jeong M. Bae 2012). Kromozomal instabilite yolağı karsinogeneziste en önemli yoldur. Sporadik KRK'lerin yaklaşık %75'inin kromozomal instabilite ara yolunu izlediği bilinmektedir. En temel moleküler değişiklik bir tümör supresör gen olan APC geninde oluşan mutasyon ve bunun sonucunda ortaya çıkan gen inaktivasyonu ile başlamaktadır. Bunu KRAS mutasyonu, SMAD inaktivasyonu, p53 mutasyonu ve daha birçok gen değişikliğinin takip ettiği ve bu basamakların gelişimi ile paralel olarak kolon kript epitelinden adenoma ve karsinoma gelişimine kadar olan süreçte morfolojik değişikliklerin takip edildiği bilinmektedir.

Sporadik KRK'lerin yaklaşık %10'unun gelişimine epigenetik instabilite yolağının neden olduğu bildirilmektedir. Epigenetik mekanizmalar; DNA sekansında değişiklik oluşturmadan, genin fonksiyonunda kalıtsal değişiklikler ortaya çıkarması ile tanımlanmaktadır. Çoğu gen promoter bölgelerinde guanin ve sitozin dinükleotidlerinden zengin alanlar içerir ve bunlar "CpG" adaları olarak adlandırılır. "CpG" adalarında bulunan sitozin kalıntılarına DNA metiltransferaz ile metil grubu eklenmekte ve tümör supresör genler ve tümör ilişkili genlerde inaktivasyona neden olan "CpG" ada hipermetilasyonu (CIMP) gelişmektedir. CIMP gelişimi sonucunda bir genin belli bölgelerinde ya da bazen tamamının etkilenmesi sonucunda gende sessizleşme ve protein ekspresyonunda kayıp ortaya çıkmaktadır. MMR genlerinde hipermetilasyon olduğunda MSI tümörler gelişebilir. "Serrated" ara yolu olarak da bilinen bu yolda invaziv tümör, prekürsör bir "serrated" lezyon üzerinden gelişir ve

klasik adenoma-karsinoma sekansında izlenen moleküler yolağı içermez. Bu yolakta karsinogenezi başlatan olay BRAF genini aktive eden bir mutasyondur ve bu durum kolon epitel hücrelerinde fizyolojik apoptozun inhibisyonu ile sonuçlanır. Bu olay sonucunda hiperplastik veya “serrated” polipler gelişebilir (J. Perea 2011).

Sporadik KRK’lerin %15’inin gelişiminde MSI’nin etkili olduğu bilinmektedir. Mikrosatellitler insan genomu boyunca serpiştirilmiş şekilde dağılım gösteren, 1-5 baz arasında, kısa ve çiftler halinde tekrar eden DNA dizileridir (Chun-Chi Lin 2012). DNA replikasyonu sırasında mikrosatellit allellerinin insersiyon veya delesyon ile uzunluğu değişebilmekte, ortaya çıkan hatalar normal koşullarda DNA “mismatch” onarım genleri (MMR) tarafından düzeltilmektedir. DNA “mismatch” onarım sisteminde defekt olması sonucunda kodlanan genin egzonunda oluşan tekrarlayan nükleotid dizileri tamir edilememekte, “frame-shift” mutasyonlar meydana gelmekte ve bunun sonucunda MSI gelişmektedir. Kolorektal mukoza veya diğer hücrelerde somatik mutasyon oluşması ile diğer allelin de kaybedilmesi ile DNA MMR geni işlevini kaybeder ve bu durum neoplazi gelişimiyle sonuçlanır. KRK gelişiminde MMR genleri arasında en sıklıkla mutL homolog 1 (hMLH1), mutS homolog 2 ve 6 (hMSH2 ve hMSH6) ve postmeiotic segregation increased 2 (hPMS2)’de oluşan mutasyonların etkili olduğu bilinmektedir.

MSI bulunan tümörlerin, sporadik veya Lynch sendromu ilişkili, daha çok sağ kolon yerleşimli oldukları, müsinöz ya da medüller tip histoloji gösterdikleri bilinmektedir. MSI varlığının tanımlanması; klinik olarak prognostik öneme sahiptir. MSI-H tümörler, MSI-L/MSS ve kromozomal instabilite gösteren tümörlere göre iyi prognoza sahiptir. Evre II MSI gösteren karsinomların klinik olarak iyi gidişli olduğu belirtilmiştir. Ek olarak Evre II MSI gösteren karsinomların cerrahi rezeksiyon sonrası ek tedaviye gerek olmadığı bildirilmiştir (Giovanni Lanza 2006). MSI-H tümörlerin 5-fluorouracil ve diğer sitotoksik ilaçlara cevabının az olduğu ve “topoizomerase inhibitör irinotecan” tedavisinden yarar görebileceği belirtilmektedir (Vicki Whitehall 2011).

Sporadik KRK ve öncü lezyonlarında farklı moleküler ve morfolojik özelliklerin tanımlanmasının prognoz ve tedaviyi etkileyebildiği ortaya çıkmaktadır. Bu özelliklerin tanımlanması ve özellikle rutin patoloji uygulamalarında kullanılması

hastaların takibi ve tedavisi açısından günümüzde bir zorunluluk haline gelmiştir. Bu nedenle bu tez çalışmasında; KRK'nin ana moleküler yolları ile ilişkilendirilmiş adenom-karsinoma sekansı ve “serrated” polip-karsinoma sekansını içeren öncü lezyonlar ve kolorektal kanserlerde immünohistokimyasal olarak MSI'nin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Genel Bilgiler

2.1.1. Anatomi

Kolon gastrointestinal sistemin son 1-1,5 metre uzunluğundaki kısmını oluşturmaktadır. Çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumdan oluşmaktadır. Kolon periton içinde ve retroperitoneal alanda çok sayıda organla komşuluk göstermektedir. İnce barsaklardan farklı olarak longitudinal kas liflerinin yoğunlaşmasıyla oluşan tenyalara, yağ dokusundan oluşan periton ile örtülü “appendices epiploica”lara, sirküler kas liflerinin oluşturduğu haustralara sahiptirler. Kolon duodenum önünden geçen dikey bir planla sağ ve sol kolon olmak üzere iki kısma ayrılır. Sağ kolon; çekum, apendiks, çıkan kolon, fleksura hepatica ve transvers kolonun başlangıcını içermektedir. Sol kolon; transvers kolonun distali, fleksura lienalis, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumdan oluşmaktadır. Terminal ileum ile kolon, sfinkter görevi görerek içeriğin kolona hızla boşalmasını sağlayan ve reflüye engel olan, “ileoçekal valv” ile birbirinden ayrılmaktadır.

Çekum, kolonun başlangıç bölümüdür. Yaklaşık 7-8 cm uzunluğunda, mezenteri olmayan, geniş bir poş özelliğinde kolonun en geniş kısmıdır. Sigmoid kolona doğru çap küçülür ve kolonun en dar kısmı sigmoid kolondur. Bu çap farklılığı çekumdaki tümörlerin daha büyük boyutlara ulaştığında bulgu verirken, sigmoid kolonda daha küçük boyutta semptomatik olmasını açıklamaktadır. Geniş çapı nedeniyle distal obstrüksiyon durumunda kolon rüptürünün en sık görüldüğü kısmıdır.

Çıkan kolon, çekumdan karaciğer sağ lobuna kadar uzanan, çekumdan daha dar, 15-20 cm uzunluğundaki kolon segmentidir. Ön ve yan duvarları periton ile örtülüdür ve karın arka duvarına Told fasyası ile tutunmaktadır.

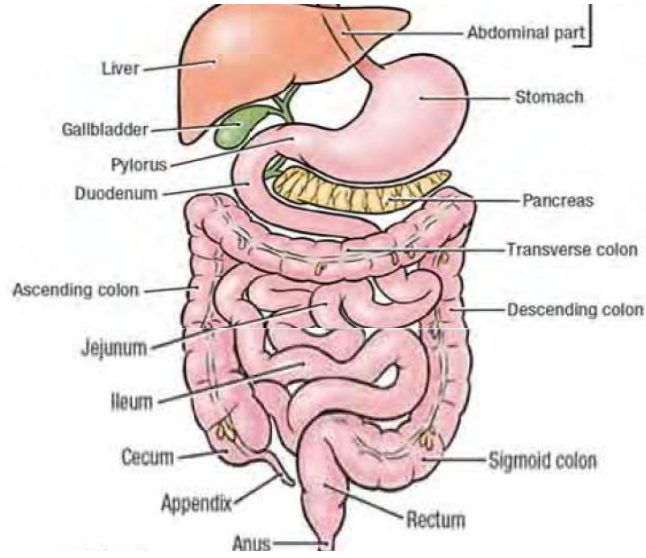
Transvers kolon, 40-50 cm uzunluğundadır ve kolonun en uzun segmentidir. Hepatik fleksuradan başlayarak sola doğru ilerler ve dalak alt kısmında splenik fleksurayı oluşturur. Transvers kolon tamamen intraperitoneal yerleşimlidir.

İnen kolon, splenik fleksuradan sol iliak fossaya kadar uzanan, yaklaşık 25 cm uzunluğunda kolon segmentidir. Kolonun en dar ve en kalın kas tabakasına sahip bölümüdür. Ön ve yan yüzleri periton ile çevrili olup retroperitoneal yerleşimlidir. İnen kolon medialde üreter seyreder ve arkada gonadal damarları çaprazlar. Bu nedenle cerrahi sırasında bu yapılar korunmalıdır.

Sigmoid kolon, krsta iliaka hizasından başlayarak üçüncü sakral vertebra hizasında rektumda sonlanır. Uzunluğu ortalama 40 cm'dir. Üst ve alt kısımları fikse, orta kısmı çok mobildir. Bu nedenle volvulus en sık sigmoid kolonda görülür. Sigmoid kolon intraperitoneal yerleşimlidir.

Rektum, kolonun son bölümüdür. Üçüncü sakral vertebra hizasından başlayarak koksiksin alt kısmındaki anorektal ringe kadar devam eder. Rektum yaklaşık 12-15 cm'dir. Rektumun 1/3 üst kısmı peritonla örtülü, 2/3 alt kısmı ekstraperitonealdir. Kolonun diğer kısımlarında görülen haustra ve tenialar bu bölgede kaybolur. Ön yüzü örten periton erkeklerde mesaneye geçerek "excavatio rectovesicalis"i, kadınlarda uterusu geçerek "excavatio rectouterina"yı (Douglas) oluşturmaktadır. Bu alanlar karın boşluğunun en dip bölgeleridir.

Anal kanal, pelvik diaframdan başlayıp anal sınırda biten yaklaşık 4 cm uzunluğundaki segmenttir. Anal sınır anodermal ve perianal deri arasındaki birleşme yeridir. Anatomik anal kanal anal sınırdan dentat sınıra kadar uzanmaktadır. Dentat sınır anal sınırın 1,5-2 cm üzerinde yerleşmiş gerçek bir mukokutanöz bileşkedir. Pratikte cerrahi anal kanal ise anal sınırdan puborektalisin rektal tuşe ile palpe edilebilen sirküler anorektal halkaya dek uzanan alan olarak tanımlanır.

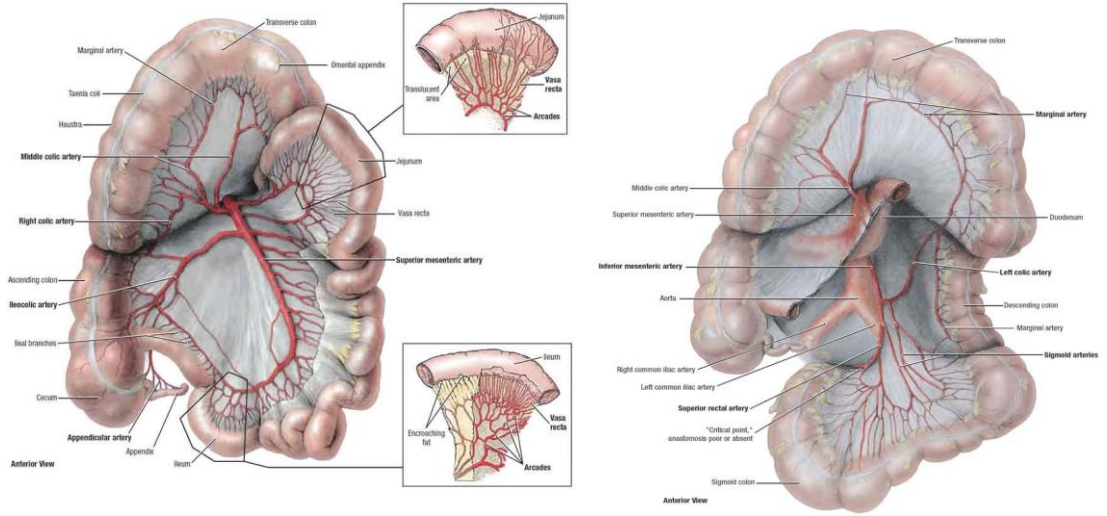


Resim 1. Kolonun anatomisi (Grant's Atlas of Anatomy, 12th Edition)

2.1.2. Kan Dolaşımı

Sağ kolon arteriyel beslenmesini süperior mezenterik arter (SMA) sağlar. SMA, L1 seviyesinde aortun ön yüzünden çıkar ve 3 ana dala ayrılır: A. kolika media, a. kolika dekstra ve a. ileokolika. A. ileokolika çekumu ve apendiksi; a. kolika dekstra çıkan kolon ve hepatik flesurayı; a. kolika media transvers kolonu besler.

Sol kolon arteriyel beslenmesini inferior mezenterik arter (İMA) sağlar. İMA, L3 seviyesinde, renal arterlerin distalinden aortun ön yüzünden çıkar. İMA'dan ayrılan a. kolika sinistra yukarı ve aşağı olmak üzere 2 dal verir. Üstteki dalı transvers mezokolonda seyrederek ve distal transvers kolon hizasında veya splenik fleksurada a. kolika media ile anastomoz yapar. Aşağı doğru uzanan dalı sigmoid mezokolon içerisinde seyrederek, inen kolonu besler ve sigmoid arter ile anastomoz yapar. İMA'nın terminal dalı a. rektalis superior S3 seviyesine kadar uzanır ve rektosigmoid bölgeyi besler. Rektum ve anal kanal superior, medial ve inferior rektal arterden beslenir.



Resim 2. Kolonun arterleri (Grant's Atlas of Anatomy, 12th Edition)

2.1.3. Venöz Drenaj

Sağ kolonun venöz dönüşü süperior mezenterik ven yoluyla portal vene, sol kolonun venöz dönüşü inferior mezenterik ven yoluyla önce splenik vene sonra portal vene olur.

2.1.4. Lenfatik Drenaj

Kolon ve rektumda submukoza ve subserozada olmak üzere iki lenfatik pleksus vardır. Bu pleksuslar mezenter içerisindeki lenf nodüllerine drene olurlar. Submukoza ve muskularis mukozada sirküler dizilmiş lenfatikler nedeniyle tümörler barsağı çepeçevre sarma eğilimindedirler. Bu nedenle tümörlerin longitudinal intramural yayılımı sınırlandırılmış olur. Lenfatikler arterleri takip ederler. Rektum ve anal kanal lenfatik drenajı biri pektinat çizgi üstünde, diğeri altında olmak üzere iki duvar dışı pleksus ile sağlanır. Rektum alt, anal kanal, perineal derinin lenfatik drenajı her iki taraf inguinal lenf bezleri ve internal iliak arter etrafındaki lenf bezlerine olmaktadır.

2.1.5. Sinirleri

Kolonda sempatik sinirler sekresyonu ve peristaltizmi inhibe eder. Parasempatikler ise sekresyonu ve peristaltizmi stimüle eder. Sempatik lifler T7-T12'den çıkar, submukozal (Meissner) ve myenterik (Auerbach) sinir ağlarında sonlanır. Sağ kolonun parasempatikleri n.vagus'tan, sol kolonun sakral pleksuslardan gelir.

2.1.6. Embriyoloji

Dördüncü gestasyonel haftada gelişen primitif barsak; ön basak (foregut) orta barsak (midgut), son barsak (hindgut) olarak üçe ayrılmaktadır. Orta barsaktan ince barsak ve transvers kolonun orta kısmının proksimalinde kalan kalın barsaklar oluşmaktadır. Son barsaktan transvers kolonun distali, inen kolon ve oluşmaktadır. Erken dönemlerde orta barsağın uzaması dorsal mezenterin oluşmasına ve mezenterin karın arka duvarına asılmasına neden olur.

Altıncı gestasyonel haftada orta barsak superior mezenterik arter etrafındaki dönüşünü tamamlayarak abdominal kavitedeki son halini alır. Bu dönemde distal arka barsak ise kloakaya girer ve anal kanalı oluşturur.

2.1.7. Fizyoloji

Kolonun ilk yarısı sıvı ve elektrolit emilimi, son yarısı sindirim artıklarının depolanması görevi görür. Kolonda karıştırıcı ve ilerletici olmak üzere iki hareket çeşidi görülür. Karıştırıcı hareketler, haustraların sırasıyla kasılmasıyla içeriğin karışması ve sıvı-elektrolit emilimi için mukoza ile temasını sağlar. İtici hareketler birden fazla haustranın bir arada kasılması ile içeriğin distale doğru taşınmasını sağlar. Ağızdan alınan gıda yaklaşık 20 saatte rektosigmoid bölgeye ulaşır.

Kolon mukozasında Lieberkühn kriptleri enzim içermeyen, koruyucu bariyer oluşturan, alkali bir mukus salgırlar. Kolon ve rektumda bulunan bazı bakteriler bazı vitaminlerin (K vitamini, riboflavin gibi) sentezinde görev alırlar. Kolon mukozasında en çok bulunan anaerob bakteri *Bacteriodes Fragilis*'tir.

2.1.8. Histoloji

Tüm kolon; mukoza, submukoza, müsküler tabaka, seroza olmak üzere dört kısımdan oluşur.

Mukoza; epitel, lamina propria, mskularis mukozadan oluşmaktadır. Epitel basit kolumnar veya küboidal hücrelerden oluşur. Kriptler çok sayıda goblet hücre, absorbtif hücre, nöroendokrin hücre içerir. Lamina propriada fibroblastlar, inflamatuvar hücreler, düz kas, damar ve sinir bulunur. Lenfatikler lamina propria alt 1/3 kısmında yer alır.

Submukoza; lamina propria ve epitelden ince bir kas tabakası olan muskularis mukoza ile ayrılır. Lamina propriadaki hüresel içerik submukozal stromada da bulunur. Meissner ve derin submukozal pleksus, arterioller, venüller ve lenfatikler de burada yer alır.

Musküler tabaka; ite sirküler, dışta longitudinal kaslardan oluşur. İki kas tabakası arasında Auerbach sinir pleksusu yer alır. Dış longitudinal kas tabakası lifleri tenya coli denilen üç bant halinde toplanmıştır.

Seroza; tek sıralı kübik veya yassılaşmış mezotel hücre, döşeli periton ve fibroelastik dokudan oluşmaktadır. Çekum, apendiks, transvers ve sigmoid kolonu tamamen sarar (intraperitoneal). ıkan ve inen kolon, rektumun bir bölümü ve anal kanal peritonun arka kısmında yer alır (retroperitoneal).

2.1.9. Hücre Proliferasyonu

Kolon epiteli aktif proliferasyon gösteren ve kendini yenileyen sisteme sahiptir. Normal koşullarda çoğalma zonu; kolonik epitelin 1/3 alt kısmında yer alır. Kolonik epitelin üst kısmında ve yüzey epitelinde çoğalma zonu bulunmaz. Hücreler glandın daha yüzeyel kısımlarına g ederler ve mukozal yüzeye itilirler. Bu süreç 4-6 gün sürmektedir (M. Ponz de Leon 2001).

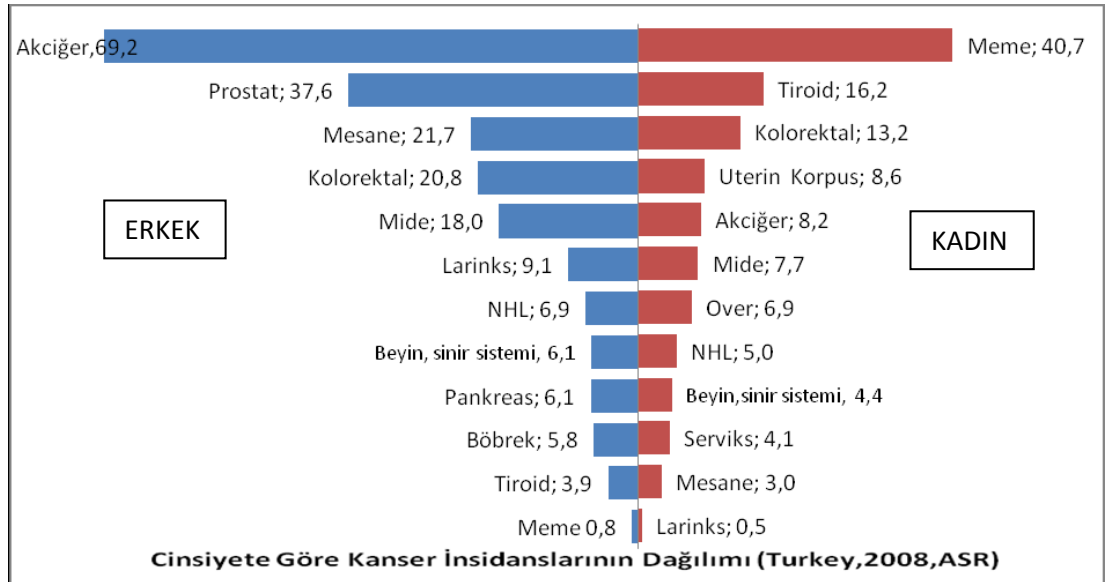
Kolorektal karsinogenezisin erken evrelerinde, epitelyal hücreler kriptin alt seviyelerinden üst seviyelerine olan g sırasında DNA sentezini baskılayamaz ve çoğalma kapasitesinde artış gelişir. Bunun sonucunda çoğalma zonu genişler, gland boyunca S fazındaki hücreler gözlemlenir (M. Ponz de Leon 2001).

2.2. Kolorektal Karsinoma

2.2.1. Epidemiyoloji

Kolorektal karsinomalar, tüm yeni tanı alan kanserler içinde %9,7 oranına sahiptir ve yılda yaklaşık 1,23 milyon yeni vaka bildirilmektedir. Dünyada KRK erkeklerde akciğer, prostat ve mide kanserinden sonra 4. sırada; kadınlarda meme ve uterin serviks kanserinden sonra 3. sırada yer almaktadır (S.R. Hamilton 2010).

T.C Sağlık Bakanlığı'nın Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığının 2008 verilerine göre ülkemizde kanser sıklığı giderek artmaktadır. KRK kadınlarda meme ve tiroid kanserinden sonra 3. en sık görülen; erkeklerde akciğer, prostat ve mesane kanserinden sonra 4. en sık görülen kanserdir (T.C 2008) (ŞEKİL-1).



Şekil 1. T.C Sağlık Bakanlığı 2008 Kolorektal Kanser Tarama Programı Cinsiyete Göre Kanser İnsidansları

KRK; Birleşik Devletler ve Kanada, Avustralya, Yeni Zelanda, Kuzey Amerika ve Japonya gibi gelişmiş ülkelerde en yüksek görülme oranına sahip iken, Hindistan, Güney Amerika ve Afrika'da 30 kez daha düşük bir insidansa sahiptir (V. Kumar 2003). Bu coğrafi insidans farklarından yaşam biçimi, çevresel faktörler ve özellikle diyet sorumlu tutulmaktadır.

KRK görölme insidansı yaşla birlikte artmaktadır ve 40 yaşından önce KRK nadir görölmektedir. 40 yaşın altında görölen KRK’lardan genetik predispozisyon ve idiopatik inflamatuvar barsak hastalığı gibi predispozan durumlar sorumlu tutulmaktadır.

KRK’lerin büyük kısmı sigmoid kolon ve rektum yerleşimlidir. Yaş arttıkça proksimal yerleşimli tümörlerin görölme sıklığı artar (S.R. Hamilton 2010). Rektum yerleşimli tümörlerde erkek ve kadınlarda görölme oranı 1,2:1 iken, daha proksimalde izlenen tümörlerde erkek-kadın dağılımı arasında fark yoktur (J Turner 2010).

KRK mortalite oranları insidansın yaklaşık yarısı kadardır, ancak uygulanan tedavilere bağı mortalite oranlarında belirgin değışkenlik görölmektedir (Ferlay J 2004, P Boyle 2008).

2.2.2. Etyoloji

2.2.2.1. Diyet ve Yaşam Tarzı

KRK gelişme riski kişiye bağı yapısal farklılıklar ve çevresel etkenlerden etkilenmektedir. KRK’lerin çoğı batı tip diyet ve sedanter yaşam birlikteliğinde gelişmektedir. Obezite, kırmızı et tüketimi, sigara ve alkol tüketimi değıştirilebilir önemli risk faktörlerindendir. Meyve-sebze tüketimi, tam tahılların kullanımı, kalsiyum ve D vitamini, uzun süreli non-steroid anti-inflamatuvar ilaç (NSAİD) kullanımı, kadınlarda östrojen replasman tedavisi ve fiziksel aktivitenin KRK gelişim riskini azalttığı bildirilmektedir (S.R. Hamilton 2010).

Hayvansal yağların alınması ile normal safra asitlerinin kanserojene dönüşmesi ile sonuçlanan barsak mikroflorasında orantılı olarak anerop mikroorganizmaların artışı gözlenmektedir. Düşük oranlı yağ içeren balık gibi ürünlerin tüketilmesi tavsiye edilmektedir. Lifli yeşil yapraklı sebzeler ve meyveler antioksidan kaynağı olup kanser gelişimini önlemektedir. Aynı zamanda lifli yiyeceklerin posası fekal transit zamanını azaltarak karsinojenlerle kolonun temasını azaltır, dışkı kütlesini arttırarak karsinojenleri dilüe eder (Slattery ML 1998, Terry P 2001).

C vitamini, tokoferol, selenyum barsak epitelini kuvvetli mutajenlerden ve karsinojenik tahribattan korumaktadır.

2.2.2.2. Genetik Faktörler

Genetik yatkınlık, kanser gelişme riskini belirgin olarak arttırmaktadır. Sporadik KRK'li hastaların birinci derece yakınlarında kanser gelişme riski 2 kattan fazla olduğu, eğer kanser 50 yaşından küçük aile bireyinde ortaya çıktıysa birinci derece yakınarda kanser gelişme riski 3 kattan daha fazla olduğu bildirilmektedir. KRK'lerin yaklaşık %35 'inde ailesel kümelenme gözlenir ve bunların bir kısmı bilinen sendromlar ile açıklanabilir. Yüksek riskli “germline” mutasyon bulunduran, KRK'ye yatkınlık gösteren sendromlar bütün olguların %6'sından daha azdır (Aaltonen L 2007, S.R. Hamilton 2010).

Yüksek riskli genetik hastalıklar morfolojik olarak çok sayıda adenomatöz polip ile karakterli polipozis sendromları (örneğin; Familial adenomatöz polipozis (FAP)) ve polip bulundurmayan veya az sayıda adenomatöz polip ile karakterli non-polipozis sendromları (örneğin; Lynch Sendromu-HNPCC) olmak üzere temelde iki kategoriye ayrılır (S.R. Hamilton 2010). Bu sendromlar otozomal dominant kalıtım gösterirken, MUTHY-ilişkili polipozis (MAP) otozomal resesif kalıtım göstermektedir.

Diğer gastrointestinal polipozis sendromlarında adenomlar yerine çoğunlukla hiperplastik, hamartomatöz veya inflamatuvar tipte polipler görülür (örneğin; “Serrated” polipozis sendromu, Peutz-Jeghers sendromu). Ancak bu poliplerde de displazi veya karsinom gelişimi görülebilmektedir.

Tablo 1. Herediter kalıtım gösteren KRK Sendromları

SENDROMLAR
Otozomal dominant kalıtlı KRK
Polip bulundurmayan veya birkaç adenomatöz polip içeren - <i>Lynch Sendrom</i> ¹⁻² Adenomatöz polipler - <i>FAP ve Atenuate FAP</i> Hamatomatöz/mikst/hiperplastik polipler - <i>Peutz-Jeghers Sendrom (PJS)</i> - <i>Juvenil Polipozis Sendrom (JPS)</i> - <i>Herediter hemorajik telenjiyektazi sendrom (HHT)*</i> - <i>“Serrated” polipozis sendrom*</i> - <i>Herediter mikst polipozis sendrom (HMPS)*</i> - <i>PTEN hamartoma sendrom (Cowden Sendrom/Bannayan-Ruvalcaba-Riley Sendromları)*</i> - <i>Birt-Hogg-Dube Sendromu*</i>
Otozomal resesif kalıtlı KRK
Adenomatöz, serrated adenoma ve hiperplastik polipler - <i>MUTY ilişkili polipozis (MAP)</i> ²
¹ Turcot sendromu: Lynch Sendromu varyantı veya beyin tümörlerinin FAP’e eşlik etmesi ² Muir-Torre Sendromu: Lynch Sendromu varyantı veya sebace gland tümörlerinin MAP’e eşlik etmesi *KRK riski belli değil

2.2.2.3. Herediter Non-Polipozis Kolorektal Karsinoma (HNPCC-Lynch Sendrom)

Herediter non-polipozis kolorektal karsinoma (HNPCC-Lynch Sendrom) DNA MMR genlerinde defektin bulunduğu, otozomal dominant kalıtım gösteren, erken başlangıçlı KRK, gastrointestinal sistem ve ürogenital sistem yerleşimli epitelyal tümörler ile karakterli sendromdur. Bu olgularda kolon dışı yerleşim gösteren kanserler; endometrium, mide, ince barsak, karaciğer, bilier sistem, pankreas, over, üreter, renal pelvistir (Robert D. Odze 2009). Ortalama tanı yaşı 42’dir. HNPCC tüm KRK’lerin yaklaşık %5’ini oluşturmaktadır (Sandrine Jacob

2002). HNPCC'li hastaların yaklaşık %18'sinde senkron veya metakron KRK görülmektedir.

Turcot Sendromu malign beyin tümörleri ve HNPCC ilişkili tümörlerin birlikte bulunması ile, Muir Torre Sendromu ise multipl benign ve malign sebace tümörlerin ve keratoakantomun HNPCC ilişkili tümörlere eşlik etmesi ile karakterlidir (Katherine B. Geiersbach 2011).

HNPCC tanısı aile hikayesi, patolojik bulgular, MMR genlerindeki mutasyon analizlerinin ortak değerlendirilmesi ile konur. HNPCC hastalarında aile hikayesi araştırmaları halen önemini korumaktadır. Bu nedenle Amsterdam kriterleri öne sürülmüştür. Genetik testlerin yapılmasına uygun KRK'li olguların seçiminde bu kriterler kullanılmaktadır. Hastalarda HNPCC riskini değerlendirmek için günümüzde Amsterdam II ve revize edilmiş Bethesda kriterleri kullanılmaktadır (Vasen HF 1999, Umar A 2004). Mikrosatellit testlerinin uygulanmaya başlanması ile Amsterdam II kriterlerinin HNPCC tanısı için yetersiz kaldığı saptanmış, Bethesda kriterleri geliştirilmiştir. Amsterdam II ve Bethesda kriterlerinden en az 3'ünü taşıyan hastalar HNPCC grubuna dahil edilmektedir.

Amsterdam II Kriterleri:

1. Üç veya daha fazla aile üyesinde HNPCC ilişkili kanser olmalı ve bunlardan birisi diğer ikisinden birisi ile birinci derece akraba olmalı,
2. En az iki jenerasyon hastalıktan etkilenmeli,
3. HNPCC ilişkili kanser tanısı alanlardan biri veya daha fazlası 50 yaşın altında olmalı,
4. FAP dışlanmalı,
5. Tümörler patolojik olarak doğrulanmalı.

Revize Edilmiş Bethesda Kriterleri:

1. KRK tanısının 50 yaşından önce konulmuş olması,
2. Yaştan bağımsız, senkron ve metakron kolorektal ve diğer HNPCC ilişkili tümörlerin gelişmesi,
3. MSI-H histolojisi gösteren KRK tanısının 60 yaşın altında konulması,

4. Bir veya daha fazla birinci derece akrabasında KRK ve HNPCC ilişkili tümör bulunan hastalar; hastaların birinde kanser 50 yaştan önce saptanmış olmalı,
5. KRK'li hastada, yaşa bakılmaksızın, birinci veya ikinci derece akrabalarında iki veya daha fazla HNPCC ilişkili tümör bulunması.

HNPCC'li olgularda kolorektal kanser gelişimi erken yaşlardadır ve tümör proksimal kolonda yerleşimlidir. Tümör histolojik olarak tümörü infiltrate eden lenfositler, müsinöz özellikler, medüller büyüme paterni, Crohn benzeri lenfositik reaksiyon ile karakterlidir (Katherine B. Geiersbach 2011).

HNPCC'den MMR genlerindeki “germ-line” mutasyon sorumludur. “Germ-line” mutasyon sonucunda zigottan oluşan tüm embriyoner hücrelerde DNA tamir genlerinden biri mutant, diğeri ise doğal (“wild”) olarak bulunur. İlerleyen dönemlerde çevresel faktörlerin etkisiyle ikinci vuruş (“second hit”) gerçekleşir. Böylece doğal allel gende inaktivasyon veya mutasyon oluşmasıyla hücre neoplastik sürece girmiş olur.

HNPCC ilişkili tümörlerde DNA “mismatch” onarım genlerinde oluşan defektin neden olduğu MSI karakteristiktir. Bu genler;

- ✓ Kromozom 3p21'de yerleşimli **MLH1** (MutL homolog 1),
- ✓ Kromozom 2p21-22'de yerleşimli **MSH2** (MutS homolog 2),
- ✓ Kromozom 7p22'de yerleşimli **PMS2** (postmeiotic segregation 2),
- ✓ Kromozom 2p16'da yerleşimli **MSH6** (MutS homolog 6)'dır.

DNA MMR genlerinde oluşan mutasyonlar; tutarsız mRNA veya protein oluşumu ya da protein-protein etkileşimini engelleyen sonuçlar meydana getirir. Bu özellikleri ile MMR proteinleri immünohistokimyasal olarak değerlendirilebilmekte ve kayıpları durumunda MSI lehinde değerlendirilmektedir.

Mikrosatellitler insan genomu boyunca serpiştirilmiş şekilde dağılım gösteren, 1-5 baz arasında, kısa ve çiftler halinde tekrar eden DNA dizileridir (Chun-Chi Lin 2012). DNA replikasyonu sırasında mikrosatellit allellerinin insersiyon veya delesyon ile uzunluğu değişebilmekte, ortaya çıkan hatalar normal koşullarda DNA “mismatch” onarım genleri (MMR) tarafından düzeltilmektedir. DNA “mismatch” onarım sisteminde defekt olması sonucunda kodlanan genin egzonunda oluşan

tekrarlayan nükleotid dizileri tamir edilememekte, “frame-shift” mutasyonlar meydana gelmekte ve bunun sonucunda MSI gelişmektedir.

MSI, polimeraz zincir reaksiyonu ile tümördeki etkilenmiş mikrosatellit tekrar boyutu normal doku ile karşılaştırılarak saptanabilir. MSI değerlendirmesi için “Bethesda” paneli kullanılmaktadır. Bu panelde 5 marker bulunmaktadır: BAT25, BAT26, D5S346, D2S123, D17S250 (S.R. Hamilton 2010). Tümörde bu markerlardan 2 veya daha fazlası “unstabil” ise MSI-H, 1 marker “unstabil” ise MSI-L, herhangi bir marker “unstabil” değil ise MSS olarak adlandırılır.

2.2.2.4. Polipozis Sendromları

Familiyal Adenomatöz Polipozis (FAP): Yüzlerce veya binlerce kolorektal adenomatöz polip varlığı ile karakterli otozomal dominant kalıtmı bir sendromdur. FAP yeni tanı almış KRK’li hastaların %1’den daha azında görülür. 5. kromozomun uzun kolunda (5q21-22) yer alan Adenomatöz polipozis koli (APC) geninde “germline” mutasyon sonucu ortaya çıkar. Klasik FAP için tanısal kriterler şöyledir (S.R. Hamilton 2010):

1. 100’den fazla kolorektal adenoma varlığı,
2. APC geninde “germline” mutasyon,
3. Ailede FAP öyküsü ve genç yaşta herhangi bir sayıda adenom varlığı.

Atenue FAP, otozomal dominant kalıtım gösteren, yaklaşık 30 kadar adenom bulunduran sendromdur. Klasik FAP’a benzer şekilde APC geninde mutasyon saptanır.

FAP; 2 veya 3. dekatta oluşur. Yaş arttıkça poliplerin sayısı ve boyutu artar. 50 yaşlarında, tedavi edilmeyen FAP olgularında KRK gelişme oranı %90’ın üzerindedir. Polipler küçük (genellikle <5 mm), sesil ve yuvarlak özelliktedir. Bu poliplerin çoğu tübüler adenom, daha az kısmı villöz ve tübülovillöz adenomdur. Ayrıca “flat” veya deprese adenomlar, normal mukozada bir veya iki kriptten oluşan “aberran kript odağı” ya da mikroskopik adenomlar sık görülür. FAP’ta görülen adenomlar ve karsinomlar sporadik olanlarla histopatolojik olarak aynıdır.

FAP olgularında midede fundik gland polipleri, duodenal ve ince barsak adenomları sıktır. FAP sendromlu hastalarda standart tedavi profilaktik kolektomidir. Ancak adenomların gastrointestinal sistemde kolon dışında özellikle mide, duodenum- ampulla çevresinde de ortaya çıkabilecek olması nedeniyle hastalar kolektomi sonrası da malignite riski taşımaya devam ederler. Bu nedenle yakın takip altında tutulmaları gereklidir.

FAP Varyantları:

Gardner Sendromu; APC mutasyonu sonucu oluşan, epidermoid kist, osteomalar, diş anomalileri, desmoid tümörler ve gastrointestinal poliplerle karakterli FAP varyantıdır (S.R. Hamilton 2010, Melissa W. Taggart 2011).

Turcot Sendromu; intestinal polipler ve beyin tümörlerinin birlikte görülmesi ile karakterlidir. Eğer bu sendromlu hastalarda APC mutasyonu saptanmış ise beyin tümörünün medulloblastom ve astrositom olduğu ve bu sendromun FAP varyantı olarak sınıflandırıldığı belirtilmektedir. Bu hastalarda MMR genlerinde defekt saptanmış ise beyin tümörünün glioblastoma olduğu ve hastaların Lynch Sendromlu oldukları kabul edilmektedir (S.R. Hamilton 2010, Melissa W. Taggart 2011).

Diğer Polipozis Sendromları:

MUTYH-ilişkili polipozis (MAP); otozomal resesif kalıtmı, farklı histolojik tip ve değişken sayıda, malignite potansiyeli taşıyan kolorektal polip ile karakterlidir. Polipler kolon boyunca, ince barsak (sıklıkla duodenum) ve midede yerleşim gösterebilirler. Poliplerin büyük kısmı konvansiyonel adenom iken, bir kısmı hiperplastik polip ve “sesil serrated” adenom/polipten oluşur. MAP olgularının %60’ında KRK ile ilk tanı konulmaktadır. 40-70 yaşlarında (ortalama 45 yaş), >10 polip ve biallelik MUTHY mutasyonu olması ile tanı konulmaktadır.

Juvenil polipozis; otozomal dominant kalıtım gösteren, ailesel kanser sendromudur. Kolon, mide ve ince barsakta multipl juvenil polip ile karakterlidir. Tanısal kriterleri arasında kolorektumda 4 veya 5 adet juvenil polip bulunması veya gastrointestinal trakt boyunca juvenil poliplerin bulunması veya juvenil polipozis aile hikayesi olanlarda juvenil poliplerin bulunması yer almaktadır (S.R. Hamilton 2010). Juvenil polipozis insidansı FAP’ın görülme insidansından 10 kat daha düşüktür. İlk 2 dekatta gelişir. Juvenil polipozis sendromlu hastaların %11-15’inde konjenital

anomaliler görülebilir. Konjenital anomaliler kalp, santral sinir sistemi, yumuşak doku, gastrointestinal ve ürogenital sistem ile ilişkilidir. Juvenil polipler makroskopik olarak genellikle saptır; ancak midede sesil görünümde de gelişebilirler. 5cm uzun çapa kadar ulaşabilirler ve multilobe görünümündedirler. Mikroskopik olarak yüzeyi erode görünümde, inflamatuvar hücrelerin yer aldığı ödematöz stroma içeren, reaktif epitelle döşeli kistleşmiş dilate glandarın yer aldığı polip özelliğindedir. Olguların %50-60'ında juvenil polipozise SMAD4 veya BMPR1A “germline” mutasyonu neden olmaktadır (S.R. Hamilton 2010). Kolorektal kanser oluşma riski yaşam boyu yaklaşık %39 olarak saptanmıştır (Lodewijk A A Brosens, E Romans et al. 2007, S.R. Hamilton 2010). Juvenil polipozis sendromlu olgularda tipik olarak kolon kanseri 35-45 yaşları arasında, üst gastrointestinal sistem kanseri 21-73 yaşları arasında geliştiği bildirilmektedir (S.R. Hamilton 2010).

Peutz-Jeghers sendrom (PJS); nadir görülen, mukokutanöz melanin pigmentasyonu ve hamartomatöz gastrointestinal polipozis ile karakterli otozomal dominant kalıtım gösteren sendromdur. PJS'li olgular over, uterin serviks, testis, pankreas ve meme kanserlerinde artmış riske sahiptirler. Tanısal kriterleri arasında 3 veya daha fazla histolojik olarak doğrulanmış Peutz-Jeghers polibinin bulunması veya aile öyküsünde PJS olan bir olguda, herhangi bir sayıda Peutz-Jeghers polibinin bulunması veya aile öyküsünde PJS olan bir olguda, karakteristik, belirgin mukokutanöz pigmentasyonun olması veya karakteristik mukokutanöz pigmentasyon ve herhangi bir sayıda Peutz-Jeghers polibinin bulunması yer almaktadır (S.R. Hamilton 2010). Peutz-Jeghers polipleri genellikle ince barsakta yerleşim göstermekle birlikte gastrointestinal sistemin herhangi bir bölgesinde gelişebilir. Peutz-Jeghers polipleri makroskopik olarak lobüle görünümündedir ve boyutları 5-50 milimetre arasında değişmektedir. Mikroskopik olarak santral korda yer alan düz kasın ağaç benzeri dallanma göstermesi ve bunu normal görünümde mukozanın örtmesi tanısal özelliktir. PJS olgularının bir kısmında 19p13.3 bölgesinde yer alan LKB1/STK11 geninde “germline” mutasyon saptanmaktadır (N C M Hearle 2006, WWJ de Leng 2007). PJS ilişkili kanserlerin daha agresif olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır.

Cowden sendromu; PTEN hamartomu sendromu olarak da bilinen, 3 germ hücre yaprağından gelişen organlarda oluşan multipl hamartomatöz polipler ile

karakterli otozomal dominant kalıtım gösteren sendromdur. Trikoilemmoma ve papillomatöz papül olguların tanınmasında önemlidir. Tanı genellikle 3. dekatta konur. İntestinal hamartomatöz polipler mide, duodenum, ince barsak ve kolonda yerleşimlidir. Kolon ve rektumda bu poliplerin boyutu 3-10 mm arasında değişmektedir. Mikroskopik olarak muskularis mukoza ile devam eden düz kas lifleri, distorsiyone glandlar, lipomatöz ve ganglionöromatöz lezyonlar ve lenfoid hiperplazi izlenebilmektedir. Cowden sendromlu olgularda gastrointestinal malignite ile ilişki ve risk net olarak bilinmemektedir. Cowden sendromlu olguların %85'inde 10q23.3 bölgesinde yer alan PTEN geninde “germline” mutasyon saptanmaktadır (S.R. Hamilton 2010).

2.2.2.5. Kronik inflamasyon

İnflamatuvar barsak hastalığı (İBH; Ülseratif kolit, Crohn hastalığı) ve *Schistosoma mansoni* enfeksiyonu gibi kronik inflamatuvar barsak hastalıkları KRK için risk faktörüdür (Konda A 2008, Triantafillidis JK 2009, S.R. Hamilton 2010).

Crohn hastalığı (CH) ve Ülseratif kolit (ÜK) barsağın kronik ve ataklarla seyreden idiopatik inflamatuvar hastalıklarıdır. Günümüzde CH ve ÜK'te kanser gelişim patogenezi henüz kesinlik kazanmamıştır. Kronik inflamasyonun oluşturduğu moleküler ve hücrel değişimler kanser gelişiminde rol oynamaktadır. Bu hastalıkların KRK'lerin yaklaşık %1'inden sorumlu olduğu belirtilmektedir. Sporadik kolon karsinogenezinde rol alan kromozomal instabilite ve mikrosatellit instabilite yollarının kolit kaynaklı karsinogenezde de benzer olduğu düşünülmektedir. Epigenetik faktörlerde burada rol oynamaktadır. Ancak sporadik KRK'de erken görülen APC gen kaybı İBH'da daha geç, p53 mutasyonu ise daha erken ve displazi görülmeyen mukozada görülmektedir (Jianlin Xie 2008).

ÜK'li hastalar için genel KRK gelişme riski yaklaşık %2-3'tür. ÜK'te KRK gelişiminde risk faktörleri; genellikle splenik fleksura üstünü de içeren pankolit olması, “backwash ileitis” varlığı, hastalığın süresi (>8yıl), sürekli aktif hastalık, hastalığın şiddeti, hastalığın erken yaşta başlaması, sklerozan kolanjitin eşlik etmesi, ailede KRK bulunmasıdır.

CH'da KRK gelişme riski ÜK'li hastalara oranla daha düşüktür. İleri yaş, uzun süreli hastalık ve kolon tutulumundaki yaygınlık KRK ve displazi görülmesinde etkili olmaktadır (Juan C. Cendan 2007). CH'da KRK gelişiminde risk faktörleri; ÜK'te tespit edilen risk faktörlerine ek olarak kolon striktürleri, bypasslanan segment ve fistüllerin bulunmasıdır (Juan C. Cendan 2007). Crohn kolitinde %4-16 oranında striktür gelişimi olmaktadır. Bu alanlarda kanser gelişiminin 10 kat arttığı bildirilmektedir.

İBH'da displazinin saptanması hastaların izleminde önemli bir aşamayı oluşturmaktadır. İBH'da displazi ilişkili lezyon veya kitle (dyplasia-associated lesion or mass--DALM); inflame alanlar arasında odaklar halinde, plak veya polipoid lezyon görünümünde olabilir. DALM, kuvvetle karsinom varlığını düşündürmekte ve kolektomi için endikasyon oluşturmaktadır.

2.2.2.6. Diğer faktörler

Kolorektal adenom veya karsinom öyküsünün bulunması, terapötik pelvik radyasyon tedavisi, üreterosigmoidostomi KRK için risk faktörleri arasında yer almaktadır.

2.3. Kolorektal Karsinogenez

Kolorektal karsinogenezisin moleküler temelini anlaşılmaması KRK'nin prognoz ve tedavisinde önemli yer tutmaktadır. Kolorektal karsinogenez; normal hücrenin malign hücreye dönüşümünde onkogenlerin aktivasyonu ve tümör supresör genlerinin kaybı sonucu oluşan bir dizi genetik ve epigenetik değişikliklerin rol aldığı çok basamaklı bir süreçtir. Genetik ve epigenetik değişiklikler, hücre metabolizma, proliferasyon, diferansiyasyon, yaşam ve apoptoz için gerekli olan sinyal iletiminin bozulmasına neden olmaktadır.

Genomik instabilite, normal hücrenin malign hücreye dönüşüm sürecinin yapı taşı oluşturmaktadır. Günümüzde kolorektal karsinogenez 3 farklı moleküler yolak içermektedir (Jeong M. Bae 2012):

1. Kromozomal instabilite (CIN) yolağı,

2. Mikrosatellit instabilite (MSI) yolağı,
3. Epigenetik instabilite yolağı.

Bu yolakların tümüyle birbirinden bağımsız olmadığı ve bazı tümörlerin birden fazla yolağın özelliklerini gösterebildiği bildirilmektedir (Sam Al-Sohaily 2012).

2.3.1. Kromozomal İnstabilite (“Chromosomal instability”-CIN)

Kromozomal instabilite (CIN); kolorektal karsinogenezdeki genomik instabilitenin en sık nedenidir. CIN, sporadik KRK’lerin yaklaşık %65-70’inde saptanmaktadır (Sam Al-Sohaily 2012). CIN, kromozomun ve kolorektal karsinogenezde yer alan genlerin bulunduğu bölgelerin kaybı veya çoğalması ile karakterlidir. CIN, anöploidile sonuçlanan kromozomun ayrılma bölgesinde hasar, telomer disfonksiyonu, DNA hasarına cevap mekanizmalarında bozukluk oluşmasına neden olmaktadır (Maria S. Pino 2010). Sonuçta kromozom sayısında dengesizlik, kromozomal genomik amplifikasyon, heterozigozite kaybına (LOH) yatkınlık oluşmaktadır.

Kromozomal instabilite arayolunun morfolojik karşılığı adenoma-karsinoma sekansıdır. Fearon ve Vogelstein’in tanımladığı bu modele göre erken dönemde, adenom gelişiminde APC tümör supresör gen mutasyonu gözlenirken, daha ileri dönemde KRAS ve maligniteye geçişte p53 ve 18q delesyonu saptanmaktadır (Fearon ER 1990).

Kromozomal instabilite oluşmasına neden olan faktörler heterojendir ve birçok gen saptanmıştır. Bunlar arasında mitoz düzenleyici proteinleri (BUBR1) kodlayan genler, AURKA (Aurora Kinase A) amplifikasyonu, APC, TP53’ü kodlayan genlerdeki mutasyonlar yer almaktadır.

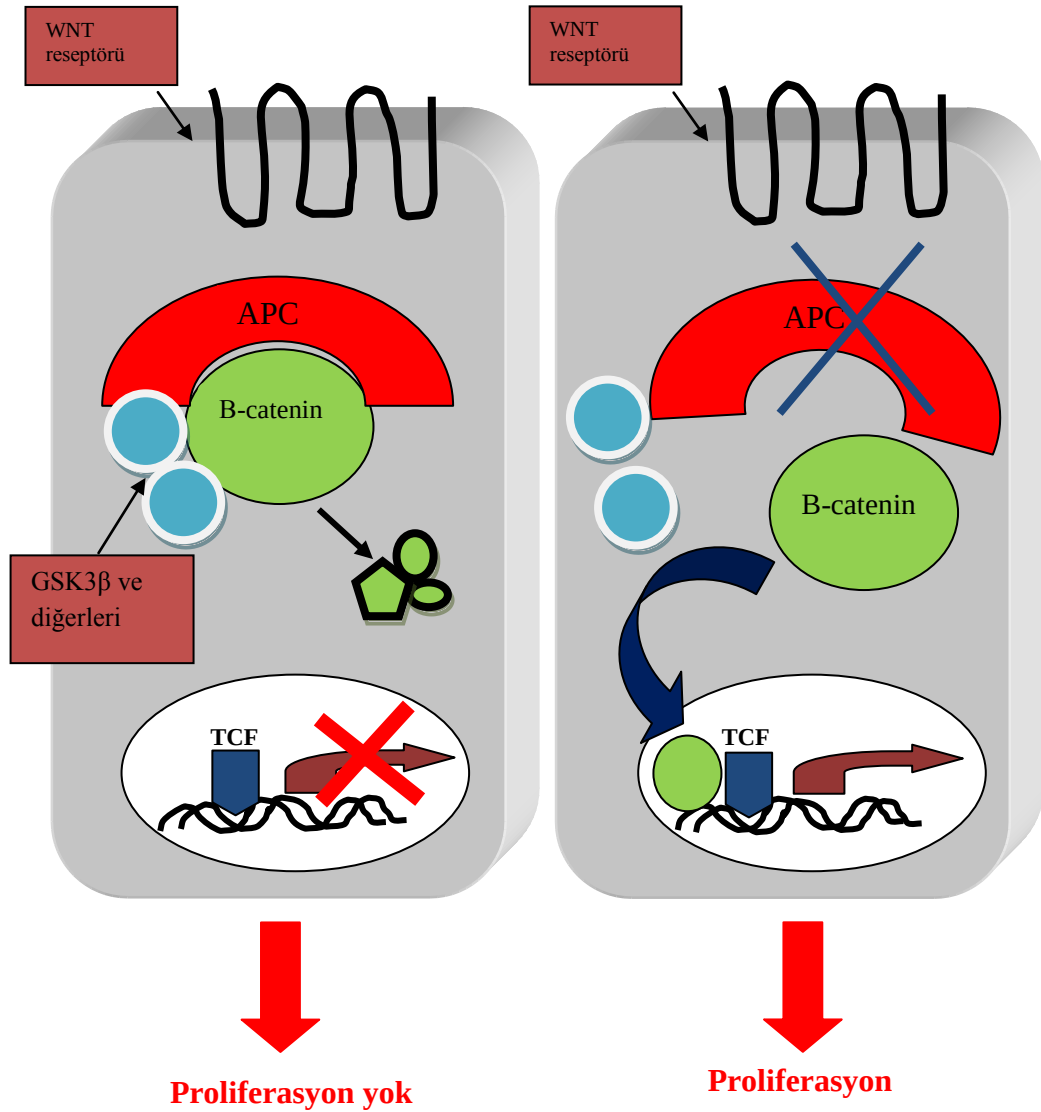
BUB (“budding uninhibited by benzimidazoles”) gen ürünleri, kardeş kromatinlerin ayrılmasının kontrolünde denetleme sensörlerini ve sinyal dönüştürücülerini yönettikleri belirtilmektedir (Maria S. Pino 2010). Bu genin aktivasyonu hücre siklusunu durdurmaktadır. BUB geninde oluşan somatik mutasyon kromozomal instabiliteye neden olmaktadır.

Aurora A (AURKA) gen ürünleri, sentrozom fonksiyonu ve duplikasyonunda, hücrenin mitozu girmesinde ve kutuplaşma evrelerinde rol aldığı saptanmıştır (Maria S. Pino 2010). AURKA overekspresyonu; sentrozom amplifikasyonu, tamamlanmamış mitozun durdurulması ve multinükleasyon ile ilişkilidir. Kolorektal tümörlerdeki CIN derecesi ile doğru orantılı olarak AURKA geninin amplifiye olduğu saptanmıştır.

CIN ara yolunda 4 önemli sinyal ileti yolağı vardır: WNT, p53, K-RAS, TGF β /SMAD.

WNT yolağı: WNT sinyalinin aktivasyonu kolorektal karsinogenezde oluşan en erken genetik değişikliklerdendir. 5q21 lokusunda yerleşim gösteren APC geninde oluşan mutasyon WNT sinyalinin aktivasyonuna neden olur. FAP'ın oluşmasında APC geninde oluşan “germline” mutasyon sorumlu tutulmaktadır. Somatik APC mutasyonları ise displastik aberran kript odaklarında %5, sporadik adenomlarda %30-70, sporadik tümörlerde %72 oranında saptanmaktadır (Tetsuji Takayama 2006, Maria S. Pino 2010). APC genindeki somatik mutasyonlar kodon 1286-1513 arasında yer almaktadır. APC gen inaktivasyonunun alternatif mekanizması ise APC promotor bölgesinin hipermetilasyonudur ve bu yol primer kolorektal kanserlerde ve adenomlarda yaklaşık %18 oranında bulunmuştur (Maria S. Pino 2010).

Bir tümör supresör gen olan APC geninin ürünü birçok fonksiyonel alanı olan büyük bir proteindir. Bu gen ürünü diferansiyasyon, adezyon, polarite, göç etme, gelişim, apoptoz ve kromozomal ayrılmayı düzenlemektedir. APC gen ürününün önemli fonksiyonu WNT/Wingless sinyal ileti yolağının ana komponentleri olan glikojen sentaz kinaz-3 β (GSK3 β) ve β -catenin ile olan etkileşimidir (Maria S. Pino 2010). APC fonksiyon kaybı sonucu (mutasyon, LOH, promotor metilasyonu) sitoplazmik β -catenin'de artış meydana gelir. β -catenin artışı nükleer translokasyona ve β -catenin ile “T-cell factor (TCF)/lymphoid enhancer factor (LEF)” bağlanmasına neden olmaktadır (Maria S. Pino 2010, Sam Al-Sohaily 2012). Bunun sonucunda hedef genler, hücre siklus progresyonu (c-myc, cyclin D1), hücre proliferasyonu, angiogenez ve apoptozu içeren hücre fonksiyonları etkilemektedir. Bu nedenle WNT ileti yolağı KKK başlamasında ve ilerlemesinde önemli role sahiptir.



Şekil 2. WNT ileti yolağı (V. Kumar 2004)

P53 Mutasyonu: p53 geni 17. kromozomun kısa kolunda lokalize, tümör supresör gendir. p53 geni, tümör supresör ve strese karşı hücrel cevabın düzenlenmesinde görevli transkripsiyon faktörlerine ait 393 aminoasidi kodlar. Malign tümörlerde çeşitli oranlarda mutasyonu saptanır.

“Genom muhafızı” olarak adlandırılan p53; DNA metabolizması, apoptoz, hücre siklus düzenlenmesi, yaşlanma, anjiogenez, immün cevap, hücre diferansiyasyonu, hareket ve göç etmede görevli yüzlerce genin transkripsiyonun kontrolünde ana düzenleyicidir. p21 hücre siklus inhibitörü; GADD45 ve 14-3-3 (G2

duraklamasında görevli); BAX, FAS (APO1), PIG3 ve KILLER (DR5) (kaspaz aktivasyonu ve apoptozda görevli) p53'ün hedef genleridir (Maria S. Pino 2010). Hücre siklusunda G1-S arasında oluşabilecek DNA hasarında p53 ekspresyonu artar ve p53 DNA'ya bağlanarak birçok genin transkripsiyonunu stimüle eder. Hücre siklusunun durdurulması ile p53 DNA onarımına yardımcı proteinlerin ekspresyonunu artırır. Eğer hasar onarılamadıysa hücrenin apoptoz ile ortadan kalkmasına neden olmaktadır.

Kolorektal karsinogeneizde p53 mutasyonu genellikle adenomdan kanser gelişim basamağında oluşmaktadır. Adenomlarda %4-26, invaziv tümör bulunduran adenomlarda %50, KRK'de %50-75 oranında p53 mutasyonu saptandığı belirtilmektedir (A. Leslie 2002, Maria S. Pino 2010). Sporadik KRK'de %40-50 oranında p53 mutasyonu bildirilmiştir (Tetsuji Takayama 2006). p53 mutasyonu yaklaşık %80 oranında "missense" mutasyon (GC-AT) şeklindedir. Bu mutasyonlar temel olarak beş kodonda (175, 245, 248, 273, 282) oluşmaktadır (Christophe Beroud 2003, Tetsuji Takayama 2006, Maria S. Pino 2010).

Distal kolon ve rektal kanserlerinde p53 mutasyonu proksimal kolon kanserlerine göre daha sıktır. p53 mutasyonu gösteren kanserli hastaların mutasyon bulundurmayan kanserli hastalara göre daha kötü klinik gidişe sahip olduğu ve sağkalımın daha kısa olduğu belirtilmektedir (Antonio Russo 2005, Tetsuji Takayama 2006).

K-RAS Yolağı: K-RAS gen ürünü, 21 kDa ağırlığında, ekstrasellüler sinyallere cevap oluşumunda aktive olan, sinyal iletimi ile ilişkili membran bağlı proto-onkogendir. RAS aktivasyonu; hücresel büyüme, diferansiyasyon, sağkalım, apoptoz, hücre iskeleti organizasyonu, hücre hareketliliği, proliferasyon ve inflamasyonu kontrol eden birçok hücresel yolağı etkilemektedir (Maria S. Pino 2010, Sam Al-Sohaily 2012).

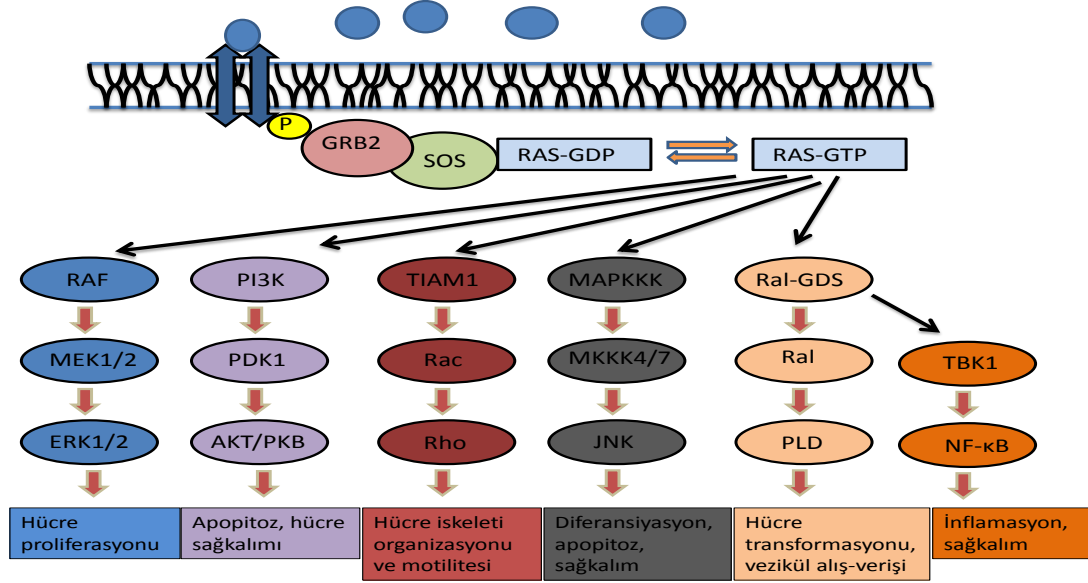
RAS proteinin aktive olması için posttranslasyonel modifikasyondan sonra membrana yerleşmesi gerekmektedir. Membran yerleşimli RAS, hücreye büyüme sinyali geldiğinde RAS-GTP haline dönüşür ve hücre içinde RAF-MEK-ERK kaskadı, Fosfatidilinozitol-3-kinaz (PI3K) kaskadı, RALGDS, RALGDS-benzeri gen ve RGL2 kaskadını aktive eder (Maria S. Pino 2010).

RAS-GTP, RAF'ı aktive eder, RAF-MEK-ERK yolağı aktiveleşir. Aktif hale gelen MEK1/2, ERK1/2'ye fosforil grubu eklenmesine neden olur. Bunların sonucunda hücre proliferasyonu uyarılmış olur. RAF ailesinden olan BRAF mutasyonu insan tümörlerinin %8'inde, kolorektal tümörlerin %5-12'sinde saptandığı belirtilmiştir (Helen Davies 2002, Efsevia Vakiani 2011). ERK aktivasyonunun, kolorektal karsinogenezdeki rolü aydınlatılamamış olsa da MEK aktivasyonunun KRK'lerde sıklıkla saptandığı bildirilmektedir (Maria S. Pino 2010).

RAS-GTP, katalitik alt birim olan PI3K'a bağlanmaktadır. PI3K yolağının hedefi, hücre büyümesi, proliferasyonu ve bazı proapoptotik proteinlerin inaktivasyonu ile sağkalımı düzenleyen AKT/PKB proteinin uyarılmasıdır. PI3K, KRK'lerin yaklaşık %20'sinde mutant olarak saptanmıştır. Bu mutasyonlar onkogenik olan ekzon 9 (E542K,E545K) ve ekzon 20 (H1047R)'de yerleşimlidir (Maria S. Pino 2010).

RAS-GTP; RALGDS, RALGDS-benzeri gen, RGL2'yi aktive ettiği bildirilmektedir. RALGDS'nin, RAS bağımlı deri tümör karsinogenezisinde fare modellerinde tümör oluşumunda anahtar rol oynadığı saptanmıştır (Ana González-García 2005). RAS, inflamatuvar ve immün cevapları, hücrel yaşamı düzenleyen nükleer faktör κ B (NF- κ B)'e bağlanmaktadır. Bu yolda mutasyon oluştuğunda antiapoptotik sinyal oluştuğu bildirilmektedir.

K-RAS'ın KRK ve büyük adenomların %30-60'ında mutant olduğu saptanmıştır (Sam Al-Sohaily 2012). Ekzon 2'nin 12 ve 13 kodonları, ekzon 3'ün 61 kodonunda oluşan nokta mutasyonu guanozin trifosfata bağlı enzimin kilitlemesine neden olarak RAS'ın aktive formda kalmasına ve sinyal iletiminin akışının devamlılığına neden olduğu bilinmektedir. Non-displastik veya hiperplastik aberran kript odağında yaklaşık %60-95 oranında K-RAS mutasyonu saptanmış, bu lezyonların adenoma veya kanser öncülü olabileceği savunulmuştur (Theresa P. Pretlow 2005).



Şekil 3. RAS yolağı (Maria S. Pino 2010)

TGFβ/SMAD Yolağı: “Cables”, “Deleted in Colorectal Cancer” (DCC), SMAD2, SMAD4’ün içinde olduğu yolağa ait tümör supresör genler kromozom 18q’da yerleşim göstermektedir. 18q heterozigozite kaybı KRK’de %50-70 oranında saptanmıştır (Wei Wang 2010). “Cables”, hücre siklus regultuar proteinidir. KRK’lerde %65 oranında mutasyon veya promoter hipermetilasyona bağlı ekspresyonunda azalma saptanmıştır (Sam Al-Sohaily 2012). DCC; 170-190 kDa ağırlığında, immünglobulin ailesinden proteini kodlar. Bu protein hücre adezyonu, göçünde rol oynamaktadır. Ayrıca DCC ligandının yokluğunda apoptozu indükler. SMAD2 ve SMAD4, transforming growth factor β (TGFβ) yolağında intrasellüler mediatör olarak görev almaktadır. TGFβ yolağı hücre büyümesi, diferansiyasyonu ve apoptozun düzenlenmesi ile ilişkilidir (Maria S. Pino 2010). SMAD2 ve SMAD4 mutasyonu kolon kanserlerinde yaklaşık %10 oranında saptandığı bildirilmektedir.

2.3.2. Mikrosatellit İnstabilite (MSI)

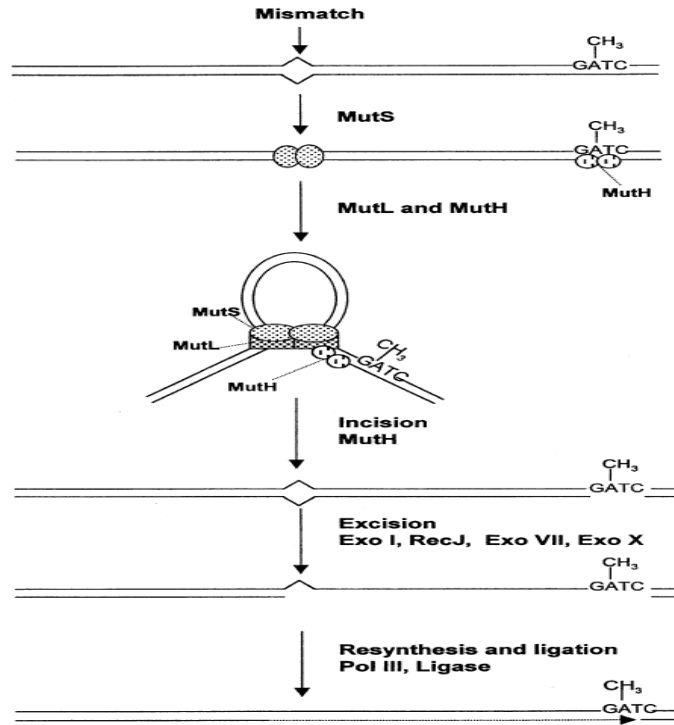
HNPCC olgularının %90’ında, sporadik KRK’lerin yaklaşık %15’inde gelişen tümörlerin mikrosatellit instabilitesi ara yolu üzerinden geliştiği bildirilmektedir.

Mikrosatellitler insan genomu boyunca serpiştirilmiş şekilde dağılım gösteren, 1-5 baz arasında, kısa ve çiftler halinde tekrar eden DNA dizileridir (Chun-Chi Lin 2012). DNA replikasyonu sırasında mikrosatellit allellerinin insersiyon veya delesyon ile uzunluğu değişebilmekte, ortaya çıkan hatalar normal koşullarda DNA “mismatch” onarım genleri (MMR) tarafından düzeltilmektedir. DNA “mismatch” onarım sisteminde defekt olması sonucunda kodlanan genin egzonunda oluşan tekrarlayan nükleotid dizileri tamir edilememekte, “frame-shift” mutasyonlar meydana gelmekte ve bunun sonucunda mikrosatellit instabilitesi (MSI) gelişmektedir.

DNA MMR genlerinde oluşan mutasyonun taşınması kolorektal kansere yakalanma riskini arttırmaktadır. DNA MMR geni mevcut “germline” mutasyon ile heterozigot durumdadır. Knudson’un ikinci vuruş hipotezindeki etkiye göre doğal (“wild”) tip allelin herhangi bir etki ile inaktive edilmesi ile heterozigosite kaybı (LOH) ortaya çıkmakta ve bunların sonucunda MSI oluşmaktadır.

Sporadik kolorektal kanserlerde doğal (“wild”) tip olan MMR genlerinin promoter bölgesinde biallelik metilasyon; her iki allelin susturulmasına ve MSI gelişimine neden olur.

MMR sistem; 1980’li yıllarda *Escherichia coli* bakterisinde tanımlanmıştır. MMR sisteminin inaktivasyonu sonucunda DNA replikasyon hatalarının düzeltilmemesine bağlı spontan mutasyon oranlarında artış saptandığı belirtilmiştir (Sandrine Jacob 2002). *E. Coli*’de MutS proteini yanlış eşleşmiş nükleotidleri tanır ve onlara bağlanır. Bu bağlanma Mut L protein ile MutS arasındaki iletişimi sağlar. MutL, “hemimetile” olan DNA sekansı GATC (yeni sentezlenmiş, metillenmemiş DNA Sekansı)’ye bağlı MutH’nin bulunduğu alana ulaşmak için ATP-bağımlı translokasyonu uyarır. MutH metillenmemiş DNA’yı uzaklaştırır ve ekzonükleazların hatalı sekansı uzaklaştırmasını destekler (John P. Lynch 2002, Sandrine Jacob 2002). Hatalı sekansın uzaklaştırılmasında MMR sisteminde en az 4 ekzonükleaz katılmaktadır: recJ, ExoVII, ExoI, ExoX (Sandrine Jacob 2002). Ayrılan bölümler daha sonra DNA polimeraz III ile tekrar sentez edilir. Bu genlerin inaktivasyonu, insan kanserlerinde gözlenen MSI ile benzer özellikte, mutator fenotipin oluşması ile sonuçlanır (John P. Lynch 2002).



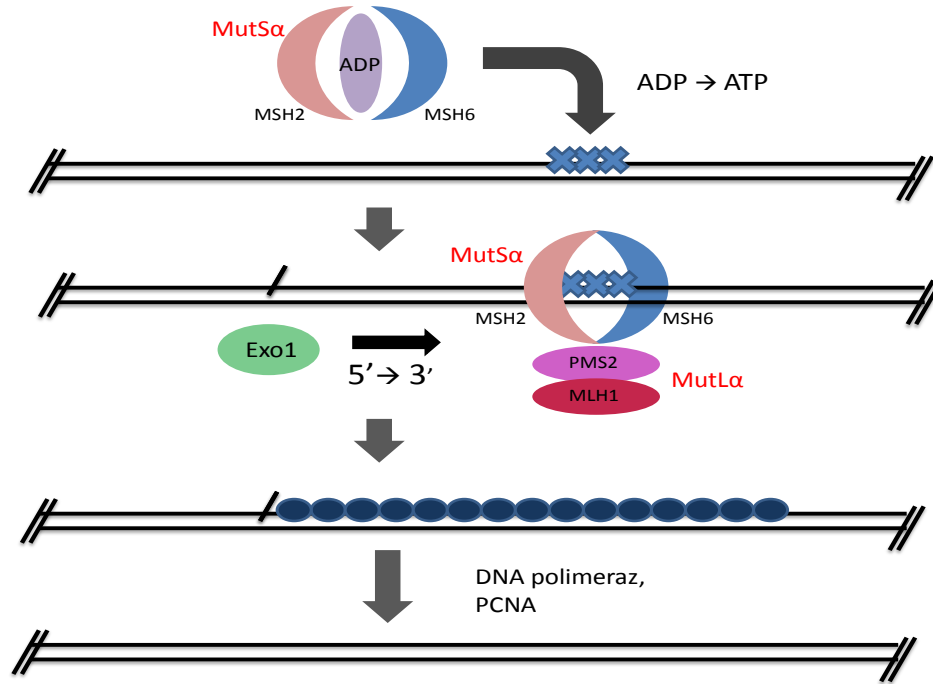
Şekil 4. *E. Coli*'deki DNA MMR sistem (Sandrine Jacob 2002)

E. coli ve *Saccharomyces cerevisiae* organizmaları üzerinde yapılan MMR sistemi ile ilgili çalışmalar, insandaki MMR sisteminin anlaşılmasını sağlamıştır. İnsanda MutS, MutS homologu (MSH), MutL ise MutL homologu (MLH) olarak adlandırılmaktadır. Bilinen 9 kadar homolog vardır: 5'i MSH (hMSH2-hMSH6), 4'ü MLH (hMLH1, hMLH3, hPMS1, hPMS2). hMSH2-hMSH6 dimeri tek baz çiftleşme hatalarını ve tek bazlık insersiyon/delesyon alanlarını yüksek afinite ile saptamaktadır. Ayrıca MSH proteinleri ATP(adenozin-trifosfat) bağlayıcı alan ve intrinsek ATPaz aktivitesi bulundurmaktadır. İnaktif durumda MSH dimerleri ADP (adenozin-difosfat)'ye bağlı konumdadır ve DNA hatalarına karşı afinitesi artmıştır. DNA replikasyonu sırasında hata oluştuğunda, MSH dimerleri hatalı DNA alanına bağlanır ve ADP'nin ATP'ye dönüşümünü sağlar. ADP/ATP dönüşümü, MSH dimerinin kayma kısıkaçı haline gelmesini ve hatalı alana yönelmesini sağlamaktadır. ATP hidrolizi ile MSH dimeri DNA'dan ayrılır ve inaktif forma geri döner (John P. Lynch 2002).

MLH heterodimerlerinin fonksiyonunun, yanlış eşleşmeyi tanıyan MSH komplekslerinin yer aldığı DNA tamirinde diğer proteinlerin olaya katılması olduğu

bildirilmektedir. Bu proteinler iplikçiğin tanınması, hatanın çıkarılması ve yerine koymada görevlidir. Bu proteinler arasında endonükleaz aktivitesi bulunan MED1, kalıp iplikçiğin belirlenmesinde görev alan PCNA (“proliferating cell nuclear antigen”) yer almaktadır (John P. Lynch 2002, Sandrine Jacob 2002).

MSH2; kromozom 2p21-22’de yerleşimli, 15 egzondan oluşan ve 934 aminoasid kodlayan gendir. MSH2 mutasyonu, HNPCC’de saptanan mutasyonların yaklaşık %40’ını oluşturmaktadır. MLH1; kromozom 3p21.3’te yerleşimli, 19 egzondan oluşan, 756 aminoasid kodlayan gendir. HNPCC’li hastalarda saptanan mutasyonun yaklaşık %55’ini oluşturmaktadır. Sporadik kolon kanserlerinde MLH1 ve MSH2’de somatik mutasyon oluşma sıklığı yaklaşık %10-20 olarak saptanmıştır. MSH6; kromozom 2p16’da yerleşimli, 11 egzondan oluşan, 1360 aminoasid kodlayan gendir. MSH2-MSH6 heterodimerinde MSH6 minör, MSH2 major komponenti oluşturmaktadır. MSH2, MSH6’nın yokluğunda MSH3 ile eşleşmektedir. Bu nedenle MSH6 mutasyonu kolorektal kanserli hastalarda nadir görülmektedir. MSH6 mutasyonu geç başlangıçlı ailesel kolorektal kanser, kolon dışı kanserler (özellikle endometrium karsinomu) ile karakterli atipik HNPCC fenotipi ile ilişkili bulunmuştur (Sandrine Jacob 2002). PMS2; kromozom 7p22’de yerleşimli, 14 egzondan oluşan, 862 aminoasid kodlayan gendir. MLH1-PMS2 heterodimerinde MLH1 major, PMS2 minör komponenti oluşturmaktadır. MLH1, PMS2’nin yokluğunda PMS1 ile eşleşmektedir. PMS2 mutasyonu, MSH6 ile benzer atipik HNPCC fenotipi ile ilişkili bulunmuştur (Sandrine Jacob 2002, Andrew M. Bellizzi 2009).



Şekil 5. MMR genleri

DNA MMR genlerinde oluşan mutasyon sonucunda kodlanan genin egzonunda oluşan hata tamir edilememektedir. Hata oluşan alanda tekrarlayan nükleotid dizileri (mikrosatellit) oluşur, bunun sonucunda da “frame-shift” mutasyonlar meydana gelir ve MSI gelişir. DNA MMR genlerinde oluşan mutasyonlar; tutarsız mRNA veya protein oluşumu ya da protein-protein etkileşimini engelleyen sonuçlar meydana getirir. Bu özellikleri ile MMR proteinleri immünohistokimyasal olarak değerlendirilebilmekte ve kayıpları durumunda MSI lehinde değerlendirilebilmektedir.

MSI değerlendirmesinde 1998 yılında mikrosatellitler için referans panel belirlenmiştir (Boland CR 1998). Bu panelde 2 mononükleotid tekrarı (BAT25, BAT26), 3 dinükleotid tekrarı (D5S346, D2S123, D17S250) yer almaktadır. Tümörde değerlendirilen bu 5 lokustan 2 ve daha fazla instabilite saptanması MSI-H (“high-level microsatellite instability”), bir lokusta instabilite saptanması MSI-L (“low-level microsatellite instability”), herhangi bir lokusta instabilite saptanmaması MSS (“microsatellite stable”) olarak adlandırılmaktadır.

Mikrosatellitler genomun genellikle “intron” bölgelerinde yer almaktadır. Ancak bazı mikrosatellit dizileri Tip II TGF-β reseptörü ve BAX gibi genlerin

promoter bölgesinde veya genlerin kodlanmış bölgelerinde yerleşim göstermektedir. TGF- β sinyali kolon epitel hücrelerinin çoğalmasını inhibe eder, BAX geni de apoptoza yol açar. “Mismatch” onarımı bozulduğunda hem bu genlerde hem de çoğalmayı düzenleyen diğer genlerde mutasyon birikir ve tümü birlikte kolorektal karsinoma gelişimine neden olur.

MSI-H ilişkili tümörlerde morfolojik bazı bulgular izlenmektedir. Bu tümörler daha proksimal yerleşimli, müsinöz histoloji gösteren, belirgin lenfositik infiltrasyon bulunduran, az diferansiye özellikte, Crohn benzeri reaksiyon içeren, ekspansil büyüme gösteren tümörlerdir (Pascal Gervaz 2004, S.R. Hamilton 2010)

Sporadik KRK’lerin çoğu CIN yolağını takip ederken, %15’inde DNA MMR genlerinde hata saptanmaktadır. HNPCC’nin aksine, MSI-H özellikleri taşıyan sporadik KRK’lerde DNA MMR genlerinde “germline” mutasyon yerine çoğunlukla genlerin epigenetik değişiklik (“silencing”) saptanmaktadır. Epigenetik değişiklikler, sitozin ve guaninden zengin bölgelerin (CpG adaları) sitozin rezidülerinin metilasyonu sonucunda gen işlevini etkilemektedir. Sonuç olarak gende transkripsiyon gerçekleşmemektedir.

2.3.4. Epigenetik İnstabilite (CpG Ada Metilator Fenotip “CIMP”)

Son yapılan çalışmalarda kanser başlangıcında ve ilerlemesinde genetik değişikliklerin yanı sıra epigenetik mekanizmalarında rol aldığı belirtilmektedir. Epigenetik mekanizmalar; DNA sekansında değişiklik oluşturmadan, genin fonksiyonunda kalıtsal değişiklikler ortaya çıkarması ile tanımlanmaktadır. Genlerin epigenetik düzenlenmesinde kabul edilmiş 3 mekanizma vardır: 1. Değişik paternlerde DNA metilasyonu, 2. Histon asetilasyon/deasetilasyonu, 3. Büyüme ve transkripsiyon faktörlerinin düzenleyici “feedback” yollarındaki değişiklikler (Myoung Sook Kim 2010).

CpG adaları, birçok CpG (sitozin-fosfoguanin) dinükleotidlerinden oluşmakta, çoğunlukla genin promoter bölgesinde yer almaktadır. İnsan genlerinin yaklaşık yarısı, genin 5’ ucunda promoter bölgelerinde CpG adaları içermektedir

(Myoung Sook Kim 2010). Promoter bölgelerde izlenen CpG adaları normal aktif bir gende metillenmemiştir.

DNA metilasyonu, DNA metiltransferazlar tarafından gerçekleştirilen enzimatik bir olaydır. DNA replikasyonundan sonra, 5'uçta yerleşimli CpG dinükleotid sekansındaki sitozine metil grubu (CH₃) eklenmesi ile DNA metilasyonu gelişir (Nagahide Matsubara 2012). Metil grubunun bağlanması; baz eşleşmelerini etkilemez, ancak transkripsiyon için gerekli DNA-protein etkileşimini engeller. Bunun sonucunda gen ifade edilemez ve protein ekspresyonu gerçekleşemez.

Yaş arttıkça, normal kolonik mukoza genlerinde bazı CpG adalarında metilasyon geliştiği gösterilmiştir. Bu genler Tip A genler olarak adlandırılmaktadır. Kolorektal kanserde tümör spesifik promoter metilasyonu bazı genler ile ilişkili bulunmuştur. Bu genler Tip C (kansere spesifik) genler olarak adlandırılmaktadır. Bunlar arasında p14, p16, MLH1, MGMT, HPP1 gibi genler yer almaktadır (Nagahide Matsubara 2012). Ayrıca normal kolonik mukozada p16, MLH1, DAPK metilasyon düzeylerinin yaşla arttığı gösterilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda CIMP değerlendirilmesinde 5 marker belirlenmiştir. Bunlar; CACNA1G, IGF2, NEUROG1, RUNX3, SOCS1. Bu 5 markerdan en az 3'ünde metilasyon saptanması CIMP pozitif olarak değerlendirilmektedir (Sam Al-Sohaily 2012). CIMP pozitif KRK'lerin ayrı karakteristik özellikler göstermektedir. Bu tümörler sıklıkla kadınlarda, daha ileri yaşlarda ve proksimal kolonda yerleşimlidirler (Sam Al-Sohaily 2012). Patolojik olarak bu tümörler az diferansiye, müsinöz veya taşlı yüzük hücre morfolojisindedir.

CIMP ara yolu ile gelişen KRK'ler mikrosatellit instabil ya da stabil olabilir. Bu tümörlerin çoğu "serrated" neoplazi sekansında, "sesil serrated" poliplerden gelişmektedir (Snover 2011). KRK'lerin yaklaşık %40'ında CpG ada metilasyonu saptanmaktadır. Kolorektal karsinomların CIMP durumu, MSI durumu ile KRAS, BRAF ve p53 mutasyonları ile ilişkilidir. CIMP üzerinden gelişen tümörlerden MSI-H ve BRAF mutasyonu gösterenler CIMP1; mikrosatellit stabil ve KRAS mutasyonu gösterenler CIMP2 olarak adlandırılmaktadır (S.R. Hamilton 2010). CIMP negatif tümörlerde sıklıkla p53 mutasyonu saptandığı bildirilmektedir.

2.4. Kolorektal Kanserlerde Moleküler Sınıflandırma

Kolorektal kanserler tanımlanan moleküler yollar üzerinden gelişebileceği gibi birden fazla ara yolu takip ederek daha karışık bir moleküler mekanizma ile ortaya çıkabileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu nedenle altta yatan genetik instabilitenin tipine ve DNA metilasyon durumuna göre KRK'lerin 5 alt grupta incelenebileceği belirtilmiştir (Jass 2007):

- **Grup 1:** “Serrated” poliplerden orjin alan, CIMP-H, MLH1 metilasyonu, BRAF mutasyonu gösteren, kromozomal olarak stabil, sporadik MSI-H özelliğindeki tümörler (%12) bu alt grupta yer almaktadır.
- **Grup 2:** “Serrated” poliplerden orjin alan, CIMP-H, kısmen MLH1 metilasyonu, BRAF mutasyonu gösteren, kromozomal olarak stabil, MSS/MSI-L özelliğindeki tümörler (%8) bu alt grupta yer almaktadır.
- **Grup 3:** Adenomlardan veya “serrated” poliplerden orjin alan, CIMP-L, MGMT metilasyonu, KRAS mutasyonu gösteren, kromozomal instabilite bulunduran, MSS/MSI-L özelliğindeki tümörler (%20) bu alt grupta yer almaktadır.
- **Grup 4:** Adenomlardan orjin alan, kromozomal instabilite bulunduran, CIMP negatif, MSS özelliğindeki tümörler (%57) bu grupta yer almaktadır.
- **Grup 5:** Adenomlardan orjin alan, kromozomal olarak stabil, CIMP negatif, BRAF mutasyonu negatif, MSI-H özelliğindeki tümörler (Lynch sendromu, %3) bu alt grupta yer almaktadır. Ayrıca ailesel MSI-H özelliğindeki tümörler de bu grupta tanımlanmıştır.

Sporadik MSI-H KRK'ler klinik, morfolojik ve moleküler özellikleri ile Grup 1'de yer almaktadır.

Her bir moleküler grubun gelişim aşamasında farklı morfolojik lezyonlar ortaya çıkmaktadır. Bunlardan bazıları bir moleküler ara yola spesifik olarak gelişirken, bazıları farklı moleküler ara yolları kullanabilmektedir. KRK'ler kromozomal instabilite ara yolu olarak bilinen moleküler yolda adenomatöz poliplerden (adenoma-karsinoma sekansı), mikrosatellit instabilitesi ve “CpG” ada

metilatör ara yolunda ise çoğunlukla serrated poliplerden (“serrated” neoplazi sekansı) gelişmektedir (S.R. Hamilton 2010).

2.5. Kolorektal Karsinogenezde Morfolojik Spektrum

2.5.1. Adenoma-Karsinoma Sekansı

İlk olarak 1962 yılında Morson tarafından tanımlanan adenoma-karsinoma sekansındaki moleküler değişiklikler 1990’lı yılların başında Fearon ve Vogelstein tarafından ortaya konmuştur. Sporadik KRK’lerin yaklaşık %60’ı adenoma-karsinoma sekansı üzerinden oluşmaktadır. Adenoma-karsinoma sekansında mukozada normal epitelin önce adenomatöz epitele daha sonra displazi ve karsinomaya doğru ilerlediği görülmektedir. Burada, tek bir kript epitelinden başlayan adenomatöz değişiklik olarak tanımlanan aberan kript odağı, tübüler adenom, villöz adenom, tübülovillöz adenomdan oluşan adenomatöz polipler ve konvansiyonel adenokarsinom yer almaktadır.

Aberan Kript Odağı (AKO): AKO, ilk olarak 1987 yılında Bird tarafından tanımlanmıştır (Bird 1987). Farelerde “azoxy-methane” tedavisinden sonra stereomikroskop ve metilen mavisi kullanarak kolonik mukozayı değerlendirmiş ve sıklıkla genişlemiş lümenli, kalın epitel tabakası ile örtülü, büyük irregüler kriptlerin yoğun boyanma gösterdiğini saptamış ve bu aberan kriptlerin kolon kanseri öncüsü olabileceğini öne sürmüştür (Bird 1987, Sadir J. Alrawi and Daniel L. Stoler 2006).

AKO, adenoma-karsinoma sekansında normal kolon mukozasından adenokarsinomaya dönüşümde ortaya çıkan en erken lezyon olarak kabul edilmektedir. Ayrıca kolorektumda epitelyal neoplazinin morfolojik prekürsörüdür. AKO, kript çapı ve kripti döşeyen hücre sayısındaki artış sonucunda epiteli girintili-çukuntılı görünümde olan kriptlerin lokalize birlikteliği ile karakterlidir. Mikroskopik olarak 2 gruba ayrılır: Hiperplastik ve displastik (adenomatöz) tip. Kolorektal adenomlara displastik (adenomatöz) tip AKO, “serrated” poliplere ise hiperplastik tip AKO öncülük etmektedir (A Ensari 2010).

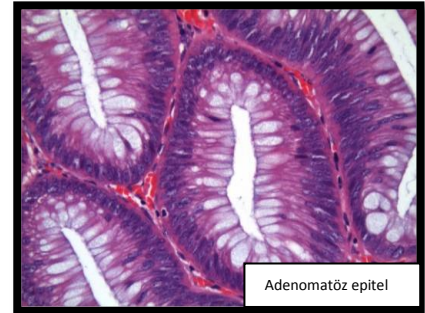
Adenomatöz Polipler: Adenomalar; morfolojik olarak kolonik epitelin displastik klonal proliferasyonu ile karakterli intraepitelyal neoplazilerdir.

Makroskopik olarak sesil veya saplı olarak sınıflandırılırlar. Multilobule, filiform özelliklerin gözlenebileceği ve yüzeyde ülserasyon bulunabileceği belirtilmektedir (Robert D. Odze 2009).

Adenomatöz poliplerin sıklığı yaş arttıkça artmaktadır. Beşinci dekattan sonra sıklığı %50'lere ulaşmaktadır (Robert D. Odze 2009). Kadın ve erkeklerde eşit sıklıkta görülmektedir. Adenomatöz poliplerin klinik önemi ise bunların genellikle iyi tanımlanmış premalign özelliğe sahip olmalarıdır. Adenomatöz poliplerde malignite oluşma riski polibin çapı (>1 cm), içerdiği villöz yapı oranı ve displazi derecesi ile ilişkilidir. 2 cm'den büyük adenomlarda kanser gelişme riski %10-20, 1-2 cm boyutlarındaki adenomlarda %5 oranında saptanmıştır (Robert D. Odze 2009).

Adenomatöz poliplerde displazi; sitolojik ve yapısal özelliklerine göre düşük (hafif ve orta) ve yüksek (şiddetli, karsinoma in-situ'yu da içerir) gradeli olarak sınıflandırılmaktadır. Bütün adenomatöz poliplerin en azından düşük gradeli displazi gösterdiği kabul edilmektedir. Mukoza ve muskularis mukozayı aşmayan invazyon gösteren adenomalar "intramukozal adenokarsinoma" olarak adlandırılmaktadır. Adenomların lamina propriasında kronik ve akut inflamasyon, eozinofil lökositler saptanabilir. Paneth hücre metaplazisi yaygın bir bulgudur. Saplı adenomlarda lamina propriada genişlemiş ve müsin ekstrasvasyonu gösteren rüptüre kriptler saptanabilir.

Düşük gradeli displazi; yapısal olarak normal olan kriptleri psödostratifikasyon gösteren, uzun, oval, hiperkromatik nükleuslu epitel hücrelerinin döşemesi ile karakterlidir. Mitoz belirgin olabilir ancak atipik mitoz, polarite kaybı, pleomorfizm genellikle saptanmaz. Kriptler paralel dizelenim gösterirler, belirgin sırt sırta verme, kribriform yapı veya tomurcuklanma göstermezler (Robert D. Odze 2009, S.R. Hamilton 2010).

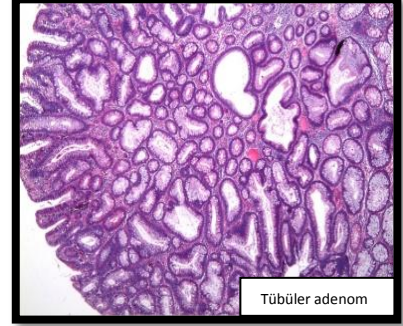


Yüksek gradeli displazi; belirgin psödostratifikasyon veya stratifikasyon, polarite kaybı, artmış mitotik aktivite ve belirgin pleomorfizm gösteren, atipik mitoz bulunduran, belirgin nükleollü, nükleus/sitoplazmik oran artışı gösteren, neoplastik

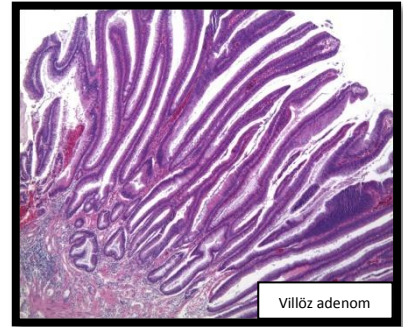
epitelyal hücrelerle karakterlidir. Kriptlerde sırt sırta verme ve tomurcuklanma ile karakterli yapısal değişiklikler gözlenir (Robert D. Odze 2009, S.R. Hamilton 2010)

Adenomatöz polipler yapısal özelliklerine göre 3 grupta incelenmektedir: Tübüler, tübülovillöz ve villöz adenom.

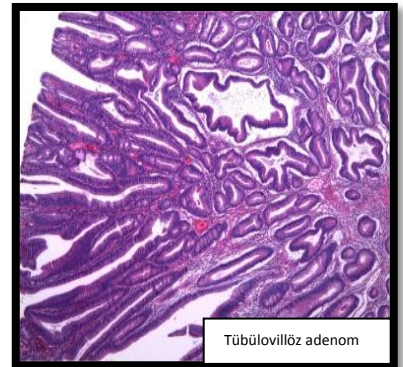
Tübüler Adenom: En sık görülen adenomlardır. Yaklaşık yarısı rektosigmoid bölgede yer almakla birlikte kolonun her yerinde bulunabilir. %75'ten fazla tübüler özellikte glandlardan oluşmaktadır. Küçük olanlar düzgün konturlu ve sesil özelliktedir. Daha büyük olan tübüler adenomlar ise lobüle özellikte ve saplı olabilirler.



Villöz Adenom: Yaşlılarda, en sık rektum ve rektosigmoidde görülen, %75'ten fazla villöz yapılardan oluşan lezyonlardır. Genellikle sesil, 2 cm'den büyük uzun çapa sahip, kadifemsi veya karnibahar benzeri kitleler oluşturmaktadır. Diğer poliplere göre karsinom gelişimi açısından yüksek riske sahiptirler.



Tübülovillöz Adenom: %25-75 arasında villöz yapılardan oluşmaktadır. Karsinom gelişme riski lezyonun içerdiği villöz komponent ile korelasyon gösterir.



Çapı >1 cm, yaygın villöz yapı bulunduran, yüksek gradeli intraepitelyal displazi/neoplazi bulunduran adenomlar “advanced” adenom olarak adlandırılmaktadır (S.R. Hamilton 2010).

2.5.2. “Serrated” Neoplazi Sekansı

Testere dişi (“serrated”) epitel örtüsü ile karakterli “serrated” polipler karsinomaya doğru ilerleyerek “serrated” neoplazi spektrumunu oluşturmaktadırlar

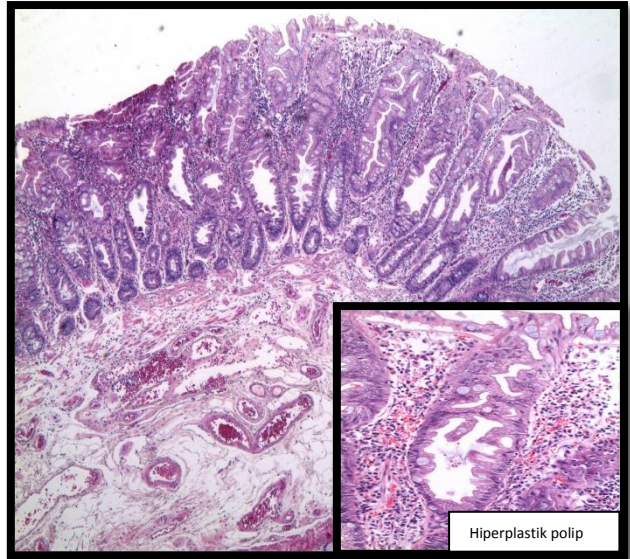
(A Ensari 2010). “Serrated” görünümüne sahip yüzey ve kript epitelinin nedeni yüzey epitelinin apoptoz ile dökülmesinin inhibisyonu ve proliferasyon zonunun kriptin üst ve orta zonuna doğru genişlemesidir (A Ensari 2010, S.R. Hamilton 2010).

“Serrated” neoplazi sekansı, adenoma-karsinoma sekansına benzer şekilde kript epitelinde ortaya çıkan hiperplastik değişiklikleri, çoğunlukla hiperplastik AKO’dan başlayarak “serrated” polipleri, müsinöz veya “serrated” karsinomları içermektedir. Bu sekansta yer alan polipler; hiperplastik polip (HP), sesil “serrated” adenom/polip (SSA/P) ve “traditional” (klasik) “serrated” adenom (TSA)’dan oluşmaktadır (S.R. Hamilton 2010, Arzu Ensari 2012).

Hiperplastik Aberan Kript Odağı: “Serrated” neoplazi sekansında yer alan en erken morfolojik lezyondur (Sadir J. Alrawi and Daniel L. Stoler 2006). Adenoma-karsinoma sekansında yer alan AKO’lardan farklı olarak uzamış, apikal dallanmalar gösteren, “serrated” görünümüne sahip birkaç kriptlerden oluşmaktadır (Sadir J. Alrawi and Daniel L. Stoler 2006).

Hiperplastik Polip (HP): HP’ler sık görülen poliplerdir. Rezeke edilen kolon poliplerinin yaklaşık %25-30’unu oluşturmaktadırlar (Mark Bettington 2013). “Serrated” poliplerin yaklaşık %70-95’i HP’dir (Douglas K. Rex 2012). HP’ler genellikle 1-5 mm uzun çaplı, sesil veya mukozadan hafif kabarık poliplerdir. Sıklıkla distal kolon ve rektum yerleşimlidirler (A Ensari 2010).

Mikroskopik olarak epitelde değişen derecelerde, kriptlerin 1/3 üst kısmında “serration” bulunduran, birbirine paralel yerleşimli, uzamış kriptlerin varlığı ile karakterlidir. Kriptler yüzeyden tabana doğru giderek daralır ve bu kriptte tepesi aşağıya bakan üçgene benzeyen görünüm verir (dekresendo patern)(A Ensari 2010). Normal



mukozaya benzer şekilde proliferatif aktivite kriptin bazal 1/3 kısmında izlenir (Arzu

Ensari 2012). HP'lerde yüzey epitelinin altında kalın bir bazal membran bulunur ve bu özellik SSA/P'lerde yaygın olarak görülmez (A Ensari 2010). HP'lerde sıklıkla BRAF veya KRAS mutasyonu saptanmaktadır (Mark Bettington 2013).

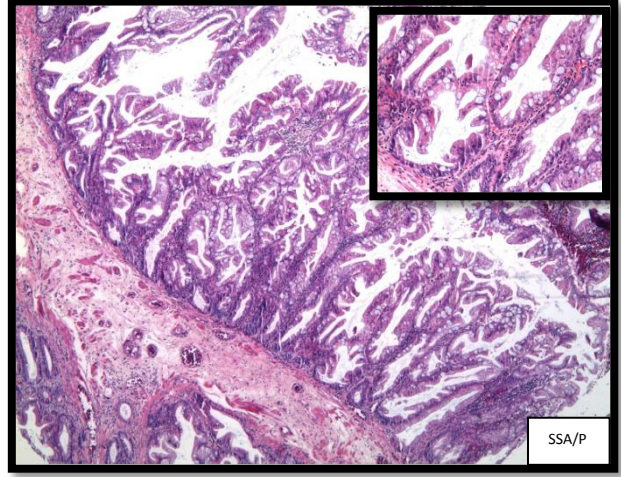
HP'ler; mikroveziküler tip HP (MVHP), goblet hücreli HP ("goblet cell" HP-GCHP), müsin fakir tip HP ("musin poor" HP-MPHP) olmak üzere 3 alt gruba ayrılmaktadır.

- **Mikroveziküler tip HP:** En sık görülen tiptir. %10-15'i transvers kolon ve sağ kolon, kalanı sol kolon yerleşimlidir (Douglas K. Rex 2012). Multipl formu sık görülmekte ve bunların bir kısmı rektumda yerleşim göstermektedir. Kriptlerin yüzeyel yarısında, "serration" ve epitelyal hücrelerin sitoplazmalarında küçük müsin damlacıkları bulundurması ile karakterlidir (Mark Bettington 2013). Dağınık goblet hücreleri de izlenebilir. Nükleer atipi, stratifikasyon ve mitoz nadirdir. İmmünohistokimyasal olarak Ki67 ile genişlemiş proliferatif zon, CK20 ile lüminal kompartmanlar gösterilebilir. p16 boyanması sıklıkla kript bazalinde saptanmaktadır. MVHP'ler genellikle MUC2, MUC5AC ve değişken MUC6 pozitifdir (Mark Bettington 2013). BRAF mutasyonu bu tipte sıklıkla saptanmaktadır (A Ensari 2010).
- **Goblet hücreli HP:** Yaklaşık %90 oranında sol kolon yerleşimlidir ve tipik olarak küçük çaplıdır (<0,5 cm)(Douglas K. Rex 2012). Yaygın goblet hücresi içermesi ile karakterlidir. Mikroveziküler müsin içeren hücreler yoktur. MVHP'ye göre daha az epitelyal "serration" göstermektedir. Proliferatif zon kriptlerin bazal kısmında yerleşimlidir. KRAS mutasyonu bu tipte sıklıkla saptanmaktadır (A Ensari 2010).
- **Müsin fakir tip HP:** Nadir görülen HP tipidir. Epitelyal hücreler çok az müsin içerir veya hiç müsin içermez. Epitelyal "serration" MVHP ile benzerdir. Büyük, yuvarlak, hiperkromatik nükleuslu hücreler ile karakterli rejeneratif atipi izlenebilir.

Sesil "Serrated" Adenoma/Polip: SSA/P' ler tüm "serrated" poliplerin yaklaşık %8-20'sini oluşturmaktadır (Arzu Ensari 2012). SSA/P'ler genellikle

proksimal kolon yerleşimlidir ve boyutları değişkendir (%36, ≤ 5 mm; %47, 6-10 mm; %17, ≥ 11 mm) (Mark Bettington 2013). Makroskopik olarak bu polipler sesil özelliktedir.

Mikroskopik olarak kriptlerde uzama, dilatasyon, horizontal kript, T veya L şeklinde kript varlığı ile karakterlidir. T şeklindeki (“inverted”) kriptlerin muskularis mukozayı aşarak submukozaya yer değiştirmesi SSA/P için karakteristik bulgulardandır. Epitelyal “serration” ve dilatasyon,



kriptlerde tepesi yukarı doğru bakan bir üçgene benzer görünüm (kreşendo patern) oluşturacak şekilde bazallerde belirgindir (A Ensari 2010). SSA/P’lerde proliferasyon zonu genellikle asimetriktir ve kriptlerin üst kısımlarına doğru yer değiştirmiştir (A Ensari 2010). Proliferasyon zonunun yer değiştirmesine bağlı olarak kriptin bazal kısımlarında normal epitel yerine yaygın goblet hücreleri ve foveolar hücreler izlenir (Mark Bettington 2013). Artmış intralüminal ve intrasellüler mükün sıklıkla izlenmektedir (Mark Bettington 2013). Kript bazalindeki hücrelerde hafif nükleer atipi sitolojik olarak kabul edilebilir (Mark Bettington 2013).

SSA/P’ler MUC2, MUC5AC ve bazal MUC6 ekspresyonu gösterirler. İmmünohistokimyasal olarak kriptin proliferatif zonunun ve matür alanlarının düzensiz olduğu ve sıklıkla üst üste geldiği gösterilebilir (Mark Bettington 2013).

SSA/P’lerde yaklaşık %70-81 oranında BRAF mutasyonu saptanmaktadır (Mark Bettington 2013). SSA/P’lerin MSI tümörlerin ve CpG ada metilasyonu gösteren tümörlerin öncüsü olarak kabul edilmektedir (Douglas K. Rex 2012). Displazi gösteren SSA/P’lerde promotor hipermetilasyonuna bağlı MLH1 ekspresyon kaybı gözlenir (Douglas K. Rex 2012). Displazi gösteren SSA/P’lerin bir bölümünde *β -catenin*’in nükleer translokasyonu gibi moleküler değişiklikler izlendiği belirtilmektedir (Mark Bettington 2013).

Displazili Sesil “Serrated” Adenoma: Displazili sesil “serrated” adenoma; geçmişte “mikst polip” (mikst hiperplastik polip-tübüler adenom) olarak adlandırılmış olmasına rağmen, bu poliplerin APC gen mutasyonu bulundurmaması, MLH1 metilasyonu sonucunda MSI göstermesi nedeniyle konvansiyonel adenomalardan farklı moleküler özelliklere sahip olduğu saptanmıştır (S.R. Hamilton 2010, Arzu Ensari 2012, Douglas K. Rex 2012).

Displazili sesil “serrated” adenomlarda adenomatöz displazi ve “serrated” displazi olmak üzere iki tip displazi bulunmaktadır (S.R. Hamilton 2010, Arzu Ensari 2012, Mark Bettington 2013). Bu lezyonların klinik davranışlarının konvansiyonel adenomlara göre agresif olduğu saptanmıştır (S.R. Hamilton 2010).

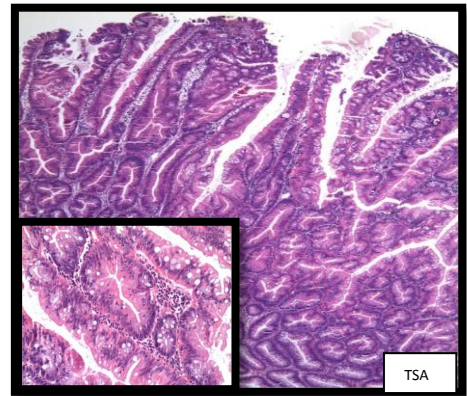
- **Adenomatöz displazi**, konvansiyonel adenomları telkin eden görünümde, psödostratifikasyon gösteren, uzamış hiperkromatik nükleuslu, bazofilik sitoplazmalı, artmış mitotik aktivite gösteren hücrelerin oluşumu ile karakterlidir.
- **“Serrated” displazi**, belirgin nükleollü, büyük yuvarlak veziküler nükleuslu, eozinofilik sitoplazmalı, artmış mitotik aktivite gösteren küboidal hücrelerin oluşumu ile karakterlidir.

“Serrated” lezyonların histolojik alt tiplerinin moleküler özellikleri ile CIMP pozitif KRK tümörler birlikte değerlendirildiğinde; HP’den başlayarak kansere kadar ilerleyen sekans varlığı ileri sürülmüştür (Mark Bettington 2013):

HP ➡ SSA/P ➡ Displazili SSA/P ➡ Kanser

Bu sekans, en sık proksimal kolon yerleşimli, CIMP pozitif, MSI, BRAF mutasyonun progresif gelişimi ile karakterli tümörlerde görülmektedir.

Klasik (“Traditional”) “Serrated” Adenoma (TSA): TSA’lar en az sıklıkta görülen “serrated” poliplerdir ve kolorektal poliplerin yaklaşık %1’ini oluşturmaktadır (Mark Bettington 2013). TSA’lar kolon boyunca yerleşim gösterebilirler ancak daha çok distal kolon ve rektum yerleşimlidirler



(Mark Bettington 2013). TSA'lar makroskopik olarak sesil (%33) veya polipoid görünümde olabilirler (%67) (Mark Bettington 2013).

Mikroskopik olarak TSA'lar tübülovillöz yapı, belirgin "serration" gösteren eozinofilik sitoplazmalı, santral yerleşimli dağınık kromatinli nükleusa sahip, uzun kolumnar epitel hücreleri ile karakteristiktir. Villusları döşeyen epitel hücrelerinde mitoz çok az bulunur veya hiç bulunmaz. TSA'lar için tipik bir bulgu ektopik kript varlığıdır. Ektopik kript; muskularis mukozaya göre normal vertikal oryantasyonunu gerçekleştirememiş, horizontal oryantasyon gösteren prematür kriptlerdir. Ektopik kriptlerde mitoz bulunabilir (Mark Bettington 2013).

İmmünohistokimyasal olarak Ki67 proliferasyon indeksi eozinofilik hücrelerde oldukça düşük saptanır, ektopik kriptlerde artış gözlemlenebilir (Mark Bettington 2013). CK20 yüzey epitel hücrelerinde pozitifdir ancak ektopik kript odakları negatiftir (Mark Bettington 2013).

TSA'ların moleküler özellikleri henüz tam olarak ortaya konamamıştır. Bu poliplerde %29 oranında KRAS ve %55 oranında BRAF mutasyonu saptandığı gösterilmiştir (Mark Bettington 2013). TSA'ların yaklaşık %79'unda CpG ada metilasyonunun bulunduğu belirtilmiştir (Mark Bettington 2013). Ayrıca bu poliplerde MGMT ve EphB2 promoter bölgelerinde hipermetilasyon olduğu belirtilmiştir (A Ensari 2010). TSA'ların diğer "serrated" polipler gibi KRK öncüsü olduğu düşünülmektedir (A Ensari 2010, Mark Bettington 2013).

- **Filiform "serrated" adenoma** (Mark Bettington 2013); TSA'ların yaklaşık %4'ünü oluşturmaktadır. Distal kolonda yerleşim göstermektedir. Çok uzun villus yapıları, laminada propriada belirgin ödem, sık epitelyal erozyon ile karakterlidir. Epitel, TSA'ya benzer şekilde, eozinofilik hücreler ve goblet hücrelerinin karışımından oluşur. İmmünohistokimyasal ve moleküler özellikleri de TSA'ya benzerdir. Filiform değişiklikler aynı zamanda tübülovillöz adenomada da görülebilmektedir. Bu nedenle tübülovillöz adenoma ile filiform "serrated" adenomanın histolojik görünimleri örtüşebilir. Tübülovillöz adenomlardaki filiform görünümün polip travmasına ve prolapsusuna bağlı olduğu düşünülmektedir (Mark Bettington 2013).

2.5.3. “Serrated” Polipozis

“Serrated” polipozis KKK gelişimine yatkınlık gösteren sendromdur. “Serrated” polipozis, tarihsel olarak hiperplastik polipozis terimi yerine kullanılmaktadır. “Serrated” polipozis sendromu tanısı verilirken belirli kriterlerin varlığı önemlidir (S.R. Hamilton 2010, Carla Guarinos 2012). Bu kriterler:

1. Proksimalden sigmoid kolon kadar, ikisinin boyutu 10 mm olan, en az 5 adet “serrated” polibin olması.
2. Birinci derece akrabasında “serrated” polipozis bulunduran ve proksimalden sigmoid kolona kadar herhangi bir sayıda “serrated” polip bulundurması.
3. Kolon boyunca dağılmış, herhangi bir boyutta 20’den fazla “serrated” polip bulundurmasıdır.

“Serrated” polipozis kadın ve erkeklerde herhangi bir yaşta görülebilmekle birlikte genellikle orta ve ileri yaşlarda ortaya çıkmaktadır (S.R. Hamilton 2010). Klinik olarak genellikle asemptomatiktir. Ancak büyük polipler kanama ile semptom verebilirler. Bu hastalar kolonoskopi sırasında 1 cm’den küçük, sıklıkla sesil görünümdeki poliplerin kolon boyunca dağılmış olması ve daha büyük poliplerin genellikle proksimal kolonda saptanması ile tanınırlar (S.R. Hamilton 2010). Klinik olarak 2 varyantı tanımlanmıştır, ancak bunların birbirleri ile örtüşebileceği belirtilmektedir (Jass 2007). Tip 2 varyantı kolon boyunca dağılmış, genellikle 5 mm veya daha küçük klasik hiperplastik poliplerin varlığı ile karakterlidir. Tip 1 varyantı ise daha büyük boyutlu ve sıklıkla proksimal kolon yerleşimli multipl SSA/P’nin bulunması ile karakterlidir (Jass 2007).

“Serrated” polipozis olgularında baskın olarak SSA/P, daha az oranda mikroveziküler tip hiperplastik polip görülmektedir (S.R. Hamilton 2010). Sitolojik displazi gösteren SSA/P’lerin hızlı bir şekilde karsinomaya ilerlediği belirtilmektedir (S.R. Hamilton 2010).

“Serrated” polipozisin etiyolojisi ve patogenezi bilinmemekle birlikte patolojik ve klinik özelliklerle ilişkili genomik ve epigenetik değişiklikler içeren farklı moleküler yolaklardan gelişmekte olduğu saptanmıştır: “serrated” neoplazi yolağı ve klasik adenoma yolağı (Christophe Rosty 2013).

Tip 2 “serrated” polipozis varyantında poliplerin genellikle KRAS mutasyonuna sahip olduğu ve klasik adenoma yolağında izlenen moleküler değişiklikleri gösterdiği, Tip 1 varyantının ise BRAF mutasyonuna sahip olduğu ve “serrated” neoplazi yolağında izlenen değişiklikleri gösterdiği belirtilmektedir (Jass 2007).

“Serrated” polipozisli olgularda KRK gelişiminin pür “serrated” neoplazi yolağı ile gelişmediği belirtilmektedir (Christophe Rosty 2013). “Serrated” neoplazi sekansında normal mukozada oluşan BRAF mutasyonu sonucunda mikroveziküler tip hiperplastik polip oluşmakta ve promoter hipermetilasyon sonucunda SSA/P gelişmektedir. Bunun yanında normal mukozada aynı anda oluşan BRAF mutasyonu ve promoter hipermetilasyonu sonucunda da SSA/P gelişmektedir. SSA/P’de MLH1 metilasyonu sonucunda MSI ve sitolojik displazi gelişebilmektedir. MSI gösteren SSA/P’lerin karsinomaya hızlı bir progresyon gösterdiği ve bu aşamada tümör süpresör genlerde ve onkogenlerde mutasyon oranının arttığı saptanmıştır (S.R. Hamilton 2010).

2.6. Kolorektal Kanserin Özellikleri

Kolorektal kanserlerin %90’ından fazlası adenokarsinomdur (S.R. Hamilton 2010). 2010 WHO sınıflamasına göre kolorektal kanserler aşağıdaki gibidir:

2.6.1. Karsinomlar

- Adenokarsinoma
 - Kribriiform-komodo tip adenokarsinoma
 - Medüller karsinoma
 - Mikropapiller karsinoma
 - Müsinöz adenokarsinoma
 - “Serrated” adenokarsinoma
 - Taşlı yüzük hücreli karsinoma
- Adenoskuamöz karsinoma
- İğsi hücreli karsinoma (“Spindle cell”)
- Yassı hücreli karsinoma (Skvamöz-epidermoid)

2.6.2. Lokalizasyon

KRK'lerin büyük kısmı sigmoid kolon ve rektum yerleşimlidir. MSI gösteren tümörler ve “CpG” ada metilasyonu gösteren, mikrosatellit stabil tümörler sıklıkla çekum, çıkan kolon ve transvers kolonda yerleşim göstermektedir. “CpG” ada metilasyonu göstermeyen, mikrosatellit stabil tümörler daha çok sol kolon yerleşimlidir (S.R. Hamilton 2010).

2.6.3. Klinik Özellikler

Klinik bulgular arasında tümörün kanamasına bağlı hematokezya, anemi en sık görülenlerdir. Konstipasyon, abdominal gerginlik, kolon obstrüsiyonu ve perforasyonu diğer klinik bulgulardandır. Rektosigmoid bölgede yer alan lezyonlarda tenesmus ve rektal kanama görülebilmektedir (S.R. Hamilton 2010).

Bilgisayarlı tomografi, transrektal ultrasonografi ile tümörün invazyon derinliği, bölgesel ve uzak metastaz varlığı değerlendirilmektedir. Sintigrafi ve PET (pozitron emisyon tomografi) ile hastalık yayılımı değerlendirilmektedir.

Kolonoskopi ile kolon lümeni değerlendirilir ve biyopsi alınır. Ayrıca kolonoskopi ile polipektomi, endoskopik mukozal rezeksiyon, submukozal diseksiyon gibi lezyonların terapötik olarak uzaklaştırılması sağlanır.

2.6.4. Makroskopi

Karsinomlar değişken makroskopik görünüme sahiptir (S.R. Hamilton 2010). Bunlar:

- Intralüminal gelişimi baskın egzofitik/mantar görünümünde tümörler,
- İntratümöral gelişimi baskın endofitik/ülseratif tümörler,
- Lüminal stenoza neden olan, barsak duvarını çepeçevre saran anüler görünümde tümörler,
- Diffüz infiltratif/linitis plastika paterni gösteren tümörlerdir.

Tümörler proksimal ve transvers kolonda daha çok egzofitik görünümde iken, inen kolon ve rektumda endofitik ve anüler görünümde olma eğilimindedirler.

KRK'lerin birçoğunun kesit yüzü homojen gri-beyaz renktedir. Müsinöz tümörlerde kesit yüzü jelatinö görünüm almaktadır.



Resim 3. Tümör makroskopisi

2.6.5. Kolon ve Rektum Tümörlerinde TNM Sınıflaması

KRK'lerde evrelemede amaç; hastalığın yayılım derecesini saptamak, tedavinin planlanması ve prognozu değerlendirebilmektir. Bu amaçla en sık TNM sınıflaması kullanılmaktadır.

TNM Sınıflaması (S.R. Hamilton 2010)

T - Primer tümör

- Tx : Primer tümör değerlendirilemiyor.
- T0 : Primer tümör yok.
- Tis : Karsinoma in situ: intraepitelyal veya lamina propria invazyonu
- T1 : Tümör submukozaya infiltre.
- T2 : Tümör mükularis propriaya infiltre.
- T3 : Tümör subserozaya veya peritonla kaplı olmayan perikolik veya perirektal dokulara infiltre.
- T4 : Tümör visseral peritonu (seroza) geçmiş ve komşuluk yoluyla diğer organlara infiltre.

T4a : Tümör visseral peritonu geçmiş

T4b : Tümör diğer organ veya yapılara direkt invazyon göstermekte.

N - Bölgesel lenf nodülleri

Nx : Bölgesel lenf nodülleri değerlendirilemiyor.

N0 : Bölgesel lenf nodüllerine yayılım yok.

N1 : 1 -3 bölgesel lenf nodülünde metastaz var.

N1a : 1 bölgesel lenf nodülünde metastaz var.

N1b : 2 ve 3 adet bölgesel lenf nodülünde metastaz var.

N1c : Bölgesel lenf nodülü metastazı olmadan, subseroza ve peritonla örtülü olmayan perikolik ve perirektal yumuşak dokuda tümör depositlerinin veya satellitlerinin bulunması.

N2 : 4 veya daha fazla bölgesel lenf nodülünde metastaz var.

N2a : 4-6 bölgesel lenf nodülünde metastaz var.

N2b : 7 ve daha fazla bölgesel lenf nodülünde metastaz var.

M - Uzak metastaz

Mx : Uzak metastaz varlığı değerlendirilemiyor.

M0 : Uzak metastaz yok.

M1 : Uzak metastaz var.

M1a : Metastaz 1 organ ile sınırlı.

M1b : 1'den fazla organda veya peritonda metastaz var.

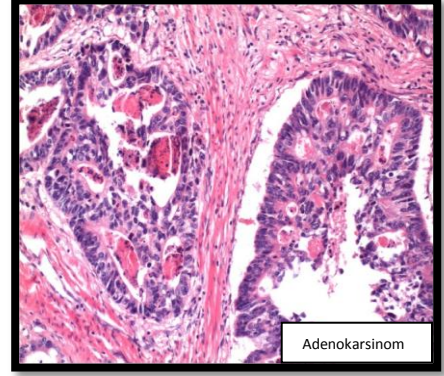
2.6.6. Histopatoloji

KRK'lerin %90'ından fazlasını adenokarsinomlar oluşturmaktadır.

Adenokarsinomlar gland oluşturma yeteneğine sahip neoplastik epitelyal hücrelerden oluşmaktadır. Adenokarsinomlar;

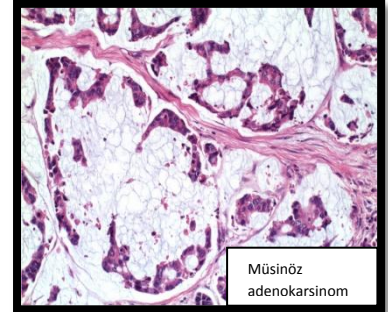
konvansiyonel adenokarsinomlar dışında müsinöz adenokarsinoma, taşlı yüzük hücreli karsinoma, medüller karsinoma, mikropapiller

karsinoma, "serrated" adenokarsinoma, kribriform komedo tip adenokarsinoma varyantlarını içermektedir (S.R. Hamilton 2010).



İmmünohistokimyasal olarak kolorektal adenokarsinomların büyük kısmı sitokeratin 7 (CK7) negatif, sitokeratin 20 (CK20) pozitifdir. Ayrıca bu tümörler CDx2 ekspresyonu gösterirler. Adenokarsinomların bir kısmı CK20 negatiftir ve bunların MSI-H eğilimi gösterdiği belirtilmektedir (S.R. Hamilton 2010). CDx2 ekspresyonu MSI ile ilişkili değildir.

Müsinöz adenokarsinom; tümörün %50'den fazlasını, asiner yapılar oluşturan veya kümeler halinde malign epitelyal hücreler içeren ekstrasellüler müsin gölcükleri oluşturmaktadır. Bu tümörlerin bir kısmının MSI-H olduğu ve bu nedenle düşük dereceli olduğu belirtilmektedir (S.R. Hamilton 2010). MSS veya MSI-L müsinöz adenokarsinomlar yüksek dereceli tümör gibi davranmaktadır. %50'den az müsinöz alan bulunduran tümörler müsinöz komponente sahip olarak adlandırılır.



Taşlı yüzük hücreli karsinom; %50'den fazla tümör hücresinin, nükleusun tipik olarak yer değiştirmesine neden olan belirgin intrasitoplazmik müsin bulundurmasıdır. MSI-H tümörler düşük derecelidir. %50'den az taşlı yüzük hücresi bulunduran tümörler taşlı yüzük komponenti içeren



adenokarsinoma olarak adlandırılır (S.R. Hamilton 2010).

Medüller karsinoma; nadir görülür. Veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü, geniş eozinofilik sitoplazmalı tabakalar halindeki tümör hücreleri ve belirgin lenfosit infiltrasyonu ile karakterlidir (S.R. Hamilton 2010).

“Serrated” adenokarsinoma; nadir görülür. Yapısal olarak sesil “serrated” polibe benzer glandüler “serration” gösteren, müsinoz, kribriform, trabeküler alanlar içeren, nükleus/sitoplazma oranı düşük epitelyal hücrelerden oluşan tümördür. Bu tümörler MSI-L veya MSI-H özellikte olabilir, BRAF mutasyonu ve “CpG” ada hipermetilasyonu gösterebilirler (S.R. Hamilton 2010).

Mikropapiller adenokarsinoma; nadir görülür. Meme ve mesane kanserlerinde tariflendiği gibi vasküler yapıları taklit eden stromal boşluklarda küçük kümeler halinde tümör hücrelerinin bulunması ile karakterlidir. Konvansiyonel adenokarsinomda da bir komponent olarak bulunabilir. İmmünohistokimyasal olarak MUC1 boyanma paterni karakteristiktir (S.R. Hamilton 2010).

Kribriform komedo tip adenokarsinoma; nadir görülür. Meme kanseri ile benzer şekilde, santralinde nekroz bulunduran büyük kribriform yapılardan oluşan tümördür. Sıklıkla “CpG” ada hipermetilasyonu gösteren MSS tümörlerdir (S.R. Hamilton 2010).

2.6.7. Histolojik “Grade” leme

Kolorektal adenokarsinomalar gland oluşturma oranına göre grade’lendirilmektedir. Buna göre; iyi, orta, az diferansiye ve “undiferansiye” karsinomlar olarak adlandırılırlar. Kolorektal adenokarsinomların diferansiyasyon ve grade’e göre sınıflandırılması tablo 2’de görülmektedir.

Tablo 2. Kolorektal adenokarsinomlarda histolojik “grade” kriterleri

Kriter	Diferansiyasyon kategorisi	Grade
>%95’ten fazla gland oluşumu	İyi diferansiye	Grade 1
%50-95 oranında gland oluşumu	Orta derecede diferansiye	Grade 2
%0-49 oranında gland oluşumu	Az diferansiye	Grade 3
Gland oluşumu ve müsin üretimi yok, nöroendokrin, skuamöz ve sarkomatoid diferansiyasyon yok	“undiferansiye” karsinom	Grade 4

2.6.8. Tedavi

Kolon kanserinde primer tedavi yöntemi cerrahidir. Yapılacak rezeksiyonun sınırları tümörün yeri, evresi, vasküler ve lenfatik drenaja göre belirlenmektedir.

Kolon kanserinde cerrahi dışında uygulanan tedavi yöntemlerinden biri kemoterapidir. Neoadjuvan kemoterapi, özellikle rektum tümörlerinde ve genellikle radyoterapi ile kombine edilerek uygulanmakta ve cerrahi tedavi öncesinde tümör hacmini küçültmek için kullanılmaktadır. Adjuvan kemoterapi ise, küratif amaçla cerrahi tedavi uygulanan ve özellikle lenf nodülü tutulumu bulunduran hastalarda vücuttaki mikrometastazları eradike etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan kemoterapi ajanları “5-fluorouracil” (5-FU) ve “levamisole” kombinasyonudur.

KRK’lerde MSI varlığının tanımlanması; klinik olarak prognostik öneme sahiptir. MSI-H tümörler, MSI-L/MSS ve kromozomal instabilite gösteren tümörlere göre iyi prognoza sahiptir. Evre II MSI gösteren karsinomların klinik olarak iyi gidişli olduğu belirtilmiştir (6 yıllık sağkalım oranı %97). Ek olarak; Evre II MSI gösteren tümörlerin cerrahi rezeksiyon sonrası ek tedaviye gerek olmadığı bildirilmiştir (Giovanni Lanza 2006). Ayrıca kemoterapiye cevabı belirlemede yol gösterici olduğu belirtilmektedir. MSI-H tümörlerin 5-fluorouracil ve diğer sitotoksik ilaçlara cevabının az olduğu belirtilmektedir (Vicki Whitehall 2011, Yong Sik Yoon

2011). MSI gösteren kanserli olguların “topoisomerase inhibitör irinotecan” tedavisinden yarar görebileceği öngörülmektedir (Vicki Whitehall 2011). Ayrıca MSI gösteren tümörlerin önemli oranda rekürrens açısından düşük riskli olduğu bildirilmektedir (Yong Sik Yoon 2011).

2.6.9. MSI Değerlendirmesi

KRK’lerde MSI varlığı moleküler ve immünohistokimyasal yöntemlerle gösterilir. Moleküler yöntemler insan genomunda mikrosatellit lokuslarının değerlendirilmesine dayanmaktadır. İmmünohistokimyasal olarak DNA MMR gen ürünü proteinlerin ekspresyonlarının kaybının gösterilmesi ile tümörlerde MSI varlığı değerlendirilebilir.

Mikrosatellitlerin boyutu bireylerde farklılık göstermesi nedeniyle moleküler yöntemlerde normal doku ile tümörlü dokunun karşılaştırılmasına gerek duyulmaktadır (Ahmed Bedeir 2011). Taze veya parafine gömülü normal ve tümörlü dokuya ait örneklerden DNA elde edilir. Seçilmiş olan mikrosatellit lokusları PCR (“polymerase chain reaction”) ile çoğaltılır ve normal dokudaki mikrosatellit boyutları değerlendirilir. Tümörlü dokudan elde edilen PCR ürünleri ile normal dokudaki mikrosatellit boyutları karşılaştırılır. Seçilmiş olan mikrosatellit lokusları “Bethesda paneli” nde belirlenmiştir. Bu panelde 2 mononükleotid tekrarı (BAT25, BAT26) ve 3 dinükleotid tekrarı (D5S346, D2S123, D17S250) yer almaktadır. Normal doku ile karşılaştırılan tümörlü dokuda bu 5 lokustan 2 veya daha fazlasında farklılık saptanması MSI-H olarak adlandırılmaktadır.

MSI gösteren KRK’lerde tipik olarak MMR genlerinden en az birisinde protein ekspresyonunun tam kaybı bulunmaktadır (Ahmed Bedeir 2011). DNA MMR proteinleri normal insan dokularında, proliferen dokularda eksprese olmaktadır. Kript epitelinde ve lenfositlerde normal nükleer pozitif ekspresyon saptanmaktadır. Bu özellikleri ile MSI gösteren KRK’de en sık saptanan 4 MMR gen (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) protein ürününe karşı oluşturulan antikorlar immünohistokimyasal yöntemde kullanılmaktadır. Tümörde 1 veya daha fazla markerın nükleer immünoreaktivitesinin tam kaybı MSI lehine değerlendirilmektedir. Sonuçların yorumlanması için bu dört MMR geni arasındaki ilişkinin anlaşılması gerekmektedir.

DNA tamiri sırasında MLH1 ile PMS2 bağlanmaktadır. Bu nedenle MLH1’de kayıp olduğunda PMS2’de de kayıp olacaktır. Aynı şekilde MSH2 ile MSH6 bağlanması nedeniyle MSH2’de kayıp olması durumunda MSH6’da kayıp olacaktır (Ahmed Bedeir 2011). Nadir olarak bazı vakalarda PMS2 ve MSH6 kaybı saptanabilmektedir (Ahmed Bedeir 2011). Lindor ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada MLH1 ve MSH2 markerlarını kullanarak MSI-H tümörlerde immünohistokimya sensitivitesini %92,3; spesifitesini %100 olarak bulmuşlardır (Noralan M. Lindor 2002).

Çalışmamızda bu bilgiler eşliğinde 60 yaş üstü KRK hastalarına ait tümörlü dokularda, farklı hastalara ait KRK öncü lezyonlarında (adenomatöz polip, hiperplastik-“serrated” polip) immünohistokimyasal olarak 4 MMR gen ürününü araştırılması ve MSI durumlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

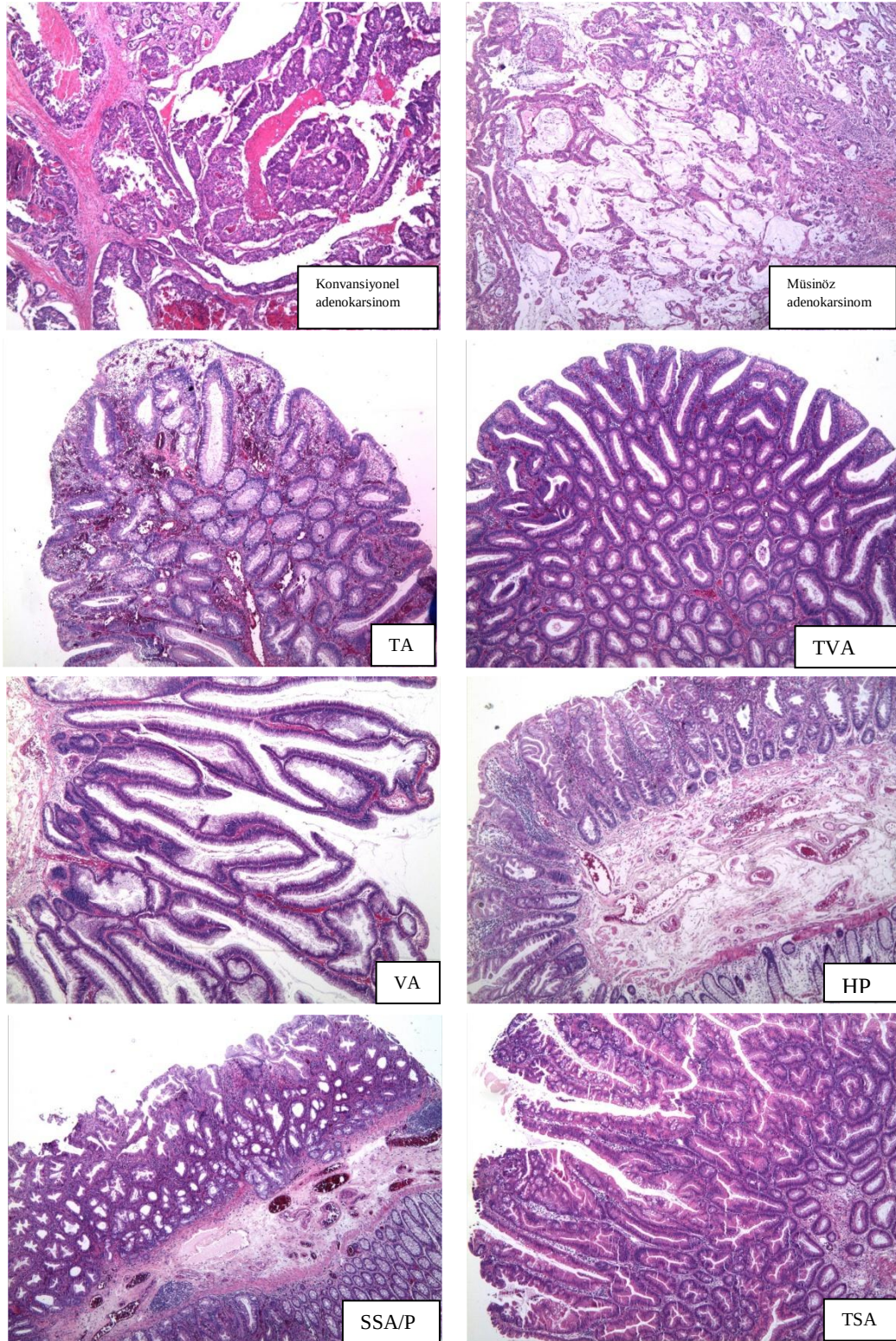
3. MATERYAL VE METOD

3.1. Olgu Seçimi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında incelenmiş materyaller bilgisayara kayıtlı arşiv sisteminden taranmış; 60 yaş üstü, erkek ve kadın olguları içeren KRK nedeniyle opere edilmiş olgular ve yaş ve cinsiyet ayrımı olmaksızın adenomatöz polip (tübüler adenoma, tübülovillöz adenoma, villöz adenoma), hiperplastik - “serrated” polip (hiperplastik polip, serrated adenoma/polip, “traditional serrated” adenoma) olgularından yeterli dokusu olanlar belirlenmiştir. Bilinen ailesel KRK olguları, FAP ilişkili polip ve tümörler, İİBH ilişkili tümörler, birden fazla kolorektal tümörü olan olgular çalışmaya dahil edilmemiştir. Seçilen KRK olgularında tümörün lokalizasyonu sağ ve sol kolon olarak gruplandırılmış ve sağ kolon grubuna çekum, çıkan kolon ve hepatik fleksura; sol kolon grubuna splenik fleksura, inen kolon, sigmoid kolon, rektosigmoid ve rektum yerleşimli tümörler dahil edilmiştir. Seçilen KRK olgularının tümörleri histolojik olarak konvansiyonel adenokarsinoma, müsinöz adenokarsinoma olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca KRK olgularının tümörlerinin boyutu, patolojik evrelemesi yapılmıştır. Tümörlerin histolojik tipi ve evrelemesinin değerlendirilmesinde WHO 2010 kriterleri kullanılmıştır (S.R. Hamilton 2010). Poliplerin histolojik tipi, lokalizasyonları, boyutu ve displazi varlığı değerlendirilmiştir.

Tablo 3. Olgu grupları ve sayıları

HİSTOLOJİK TİP	OLGU SAYISI (n)
Adenomatöz polip (TA-VA-TVA)	60 (20-20-20)
Hiperplastik-“serrated” polip (HP-SSA-TSA)	58 (31-23-4)
Konvansiyonel Adenokarsinoma (Sağ kolon-Sol kolon)	46
Müsinöz Adenokarsinoma (Sağ kolon-Sol kolon)	46
TOPLAM	210



Resim 4. Olgu tiplerine ait histolojik resimler (HE)

3.2. Doku “Array” Yöntemi

Doku “array” yöntemi; bir blokta birden fazla dokunun yer almasına ve bunların aynı cam üzerinde incelenmesine imkan veren uygulamadır. Buna göre verici bloktan biyopsi iğneleri ile elde edilen dokular alıcı blokta haritalanarak sıralanır. Biyopsi iğnesinin çapına bağlı olarak alıcı blokta incelenebilecek kor sayısı değişmektedir. Çalışmamızda 4 milimetre uzun çaplı “punch” biyopsi iğnesi kullanılmış ve bir blokta 11 farklı doku incelenmiştir.

Doku “array” yöntemi için kriterlere uygun olan ve yeterli doku bulunduran olgulara ait H&E boyalı kesitler arşivden çıkarılarak ışık mikroskobu ile tekrar değerlendirilmiş ve immünohistokimyasal inceleme için uygun alanlar işaretlenmiştir. H&E kesit üzerindeki işaretli alanlar bu kesite ait blok ile karşılaştırılarak seçilen alan belirlenmiştir. Blok üzerinde belirlenen alan biyopsi iğnesi yardımı ile bloktan çıkarılmıştır. Çıkarılan dokular numaralandırılmış ve her bir alıcı blok için hazırlanan haritaya uygun olarak 11 olgu içeren yeni parafin bloklar hazırlanmıştır. Hazırlanan doku “array” bloklarından 4 mikrometre kalınlığında kesitler polilizin kaplı camlar üzerine alınarak immünohistokimyasal inceleme için hazır hale getirilmiştir. Ayrıca kesitlerden biri H&E ile boyanarak dokular tekrar gözden geçirilmiştir.



Resim 5. Doku “array” bloklarının hazırlanışı

3.3. İmmünohistokimyasal Boyama

Sporadik kolorektal karsinomalar, adenomatöz polipler ve “serrated” poliplerden oluşan olgu gruplarında DNA MMR gen ekspresyonlarını değerlendirmek amacıyla immünohistokimyasal olarak MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 antikorları kullanılmıştır.

“Array” bloklarından 4 mikrometre kalınlığında elde edilen kesitler polilizin kaplı lama alınmıştır. Ventana otomatik boyama cihazında (Ventana Medical Systems-Roche ABD) parafin deparafinizasyonu sonrasında streptavidin biotin peroksidaz yöntemi ile primer antikor olarak Ventana DAB Kit kullanılarak olgulara ait kesitler boyanmıştır.

Kullanılan antikorlara ait bilgiler tablo 4’te özetlenmiştir.

Tablo 4. Kullanılan antikorların isimleri, klonları, dilüsyon oranları ve ticari isimleri

Antikor	Klon	Dilüsyon	Ticari İsim
MLH1	ES05	1/50	Novocastra
MSH2	G219-1129	Kullanıma hazır	Cell marque
MSH6	PU29	1/100	Novocastra
PMS2	MOR4G	1/25	Leica

3.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Tüm antikorlar (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) için kontrol dokusu olarak kolona ait örnekler kullanılmıştır. Tüm antikorların immünohistokimyasal ekspresyonlarının değerlendirilmesinde tümörlü olgularda tümör hücrelerinde ve poliplerde lezyonu oluşturan hücrelerde nükleer boyanmanın varlığı pozitif ve nükleer boyanmanın tamamen kaybı negatif olarak gruplandırılmıştır. Kolon mukoza kript epitelinde, lenfositlerde, endotel hücrelerinde nükleer boyanmanın varlığı internal pozitif kontrol olarak kabul edilmiş, değerlendirme yapılan alanda internal pozitif boyanmanın olduğu teyid edildikten sonra değerlendirme yapılmıştır.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analiz, olgu gruplarına göre yapılmıştır. Buna göre ana olgu grupları olan karsinom ve polipler alt gruplarına ayrılmıştır. KRK'ler, konvansiyonel ve müsinöz adenokarsinoma; polipler ise adenomatöz polipler (TA, TVA, VA) ve “serrated” polipler (HP, SSA, TSA) olmak üzere alt gruplara ayrılmıştır.

Tüm istatistiksel analiz ve hesaplamalar için SPSS Win. Ver. 20.0 paket programı kullanılmıştır. Tüm veriler için gruplar arasındaki karşılaştırmalar “Mann-Whitney U” testi, “Chi Square” test ve “Fisher exact” test kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel olarak saptanan 0.05'in altındaki p değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Olgular

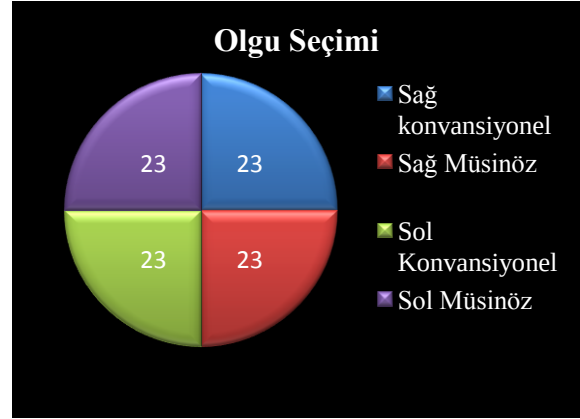
Çalışmamıza 60 yaş üzerinde, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Anabilim Dalında kolon adenokarsinomu tanısı almış, rezeksiyon materyali bulunan 92 KRK olgusu ve rastgele “array” bloğu için yeterli dokuya sahip 60 adenomatöz polip ve 58 “serrated” polip olgusu dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan olguların dökümü tablo 5’te belirtilmiştir.

Tablo 5. Olgu gruplarının dağılımı

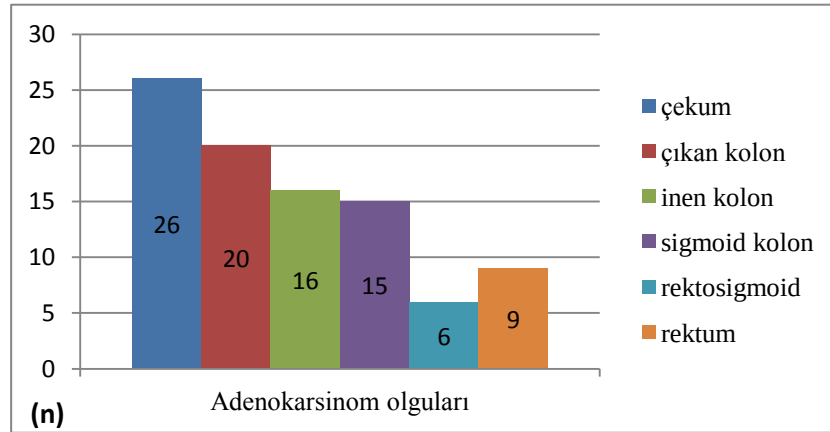
Histolojik Tip	Olgu Sayısı (n)
<u>Adenomatöz Polip</u>	<u>60</u>
- Tübüler Adenom-TA	- 20
- Tübülovillöz Adenom-TVA	- 20
- Villöz Adenom-VA	- 20
<u>Hiperplastik-“Serrated” Polip</u>	<u>58</u>
- Hiperplastik Polip-HP	- 31
- SSA/P	- 23
- TSA	- 4
<u>Konvansiyonel Adenokarsinoma</u>	<u>46</u>
<u>Müsinöz Adenokarsinoma</u>	<u>46</u>
<u>TOPLAM</u>	<u>210</u>

4.1.1. Genel Bulgular-KRK Grubu

KRK olgu grubunda 46 müsinöz adenokarsinoma ve 46 konvansiyonel adenokarsinoma olmak üzere olgular belirlenmiştir. Ayrıca bu alt gruplar sağ kolon (çekum, çıkan kolon, hepatik fleksurayı içeren transvers kolon) ve sol kolon (splenik fleksura, inen kolon, sigmoid kolon, rektosigmoid, rektum) olmak üzere eşit olacak şekilde belirlenmiştir. Buna göre; 23 olgu sağ kolon yerleşimli konvansiyonel adenokarsinoma, 23 olgu sağ kolon yerleşimli müsinöz adenokarsinoma, 23 olgu sol kolon yerleşimli konvansiyonel adenokarsinoma, 23 olgu sol kolon yerleşimli müsinöz adenokarsinoma olarak belirlenmiştir.

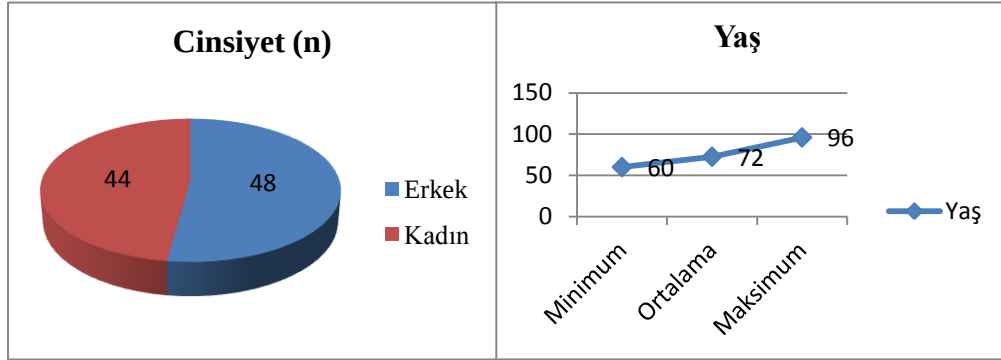


KRK olgularının 26'sı (%28,3) çekum, 20'si (%21,8) çıkan kolon, 16'sı (%17,4) inen kolon, 15'i (%16,3) sigmoid kolon, 6'sı (%6,5) rektosigmoid ve 9'u (%9,8) rektum yerleşimlidir.



Şekil 6. KRK olgularının anatomik yerleşim bölgeleri

KRK tanılı 92 olgunun 48'i (%52,2) erkek, 44'ü (%47,8) kadındır. Yaş aralığı 60-96 yaş arasında değişmektedir ve ortalama yaş 72'dir.



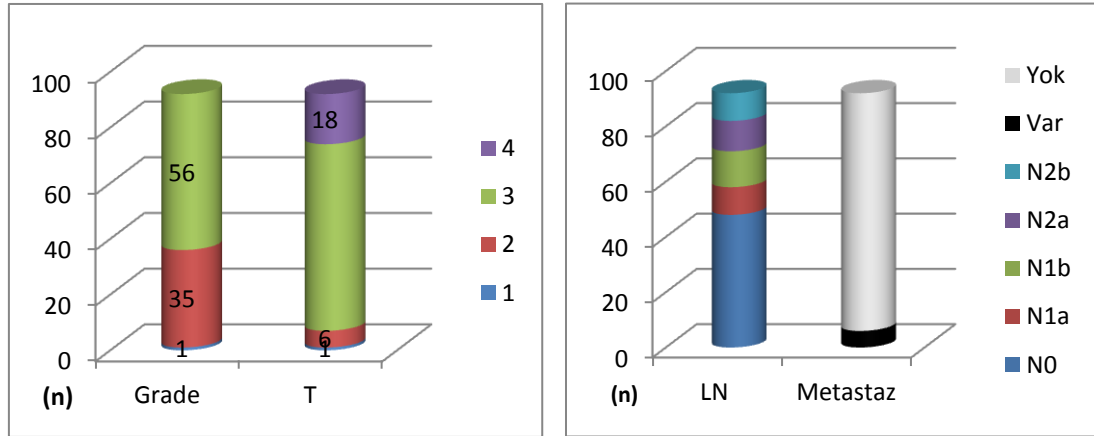
Şekil 7. Adenokarsinom olgularının cinsiyet ve yaş dağılımı

KRK tanılı olguların tümör boyutları 2 cm-17 cm arasında değişmektedir ve ortalama 5,91 cm'dir. Olguların 1'i (%1,1) Grade 1, 35'i (%38) Grade 2, 56'sı (%60,9) Grade 3 özelliğindedir.

Olgular WHO 2010 TNM evrelemesindeki invazyon derinliğini belirten T durumlarına göre değerlendirildiğinde; olgulardan 1'i (%1,1) T1, 6'sı (%6,5) T2, 67'si (%72,8) T3, 18'i (%19,6) T4 özelliğinde olduğu saptanmıştır. Lenf nodu metastaz sayısına göre; olgulardan 48'i (%52,2) N0, 10'u (%10,9) N1a, 13'ü (%14,1) N1b, 11'i (%12) N2a, 10'u (%10,9) N2b özelliğindedir. Olguların 86'sında (%93,5) tanı anında metastaz yok iken 6'sında (%6,5) karaciğere metastaz saptanmıştır. 46 konvansiyonel adenokarsinom olgusunun 4'ünde (%8,6) %50'den daha az oranda müsinöz komponent varlığı dikkati çekmiştir.

Tablo 6. Olguların TNM'ye göre dağılımı

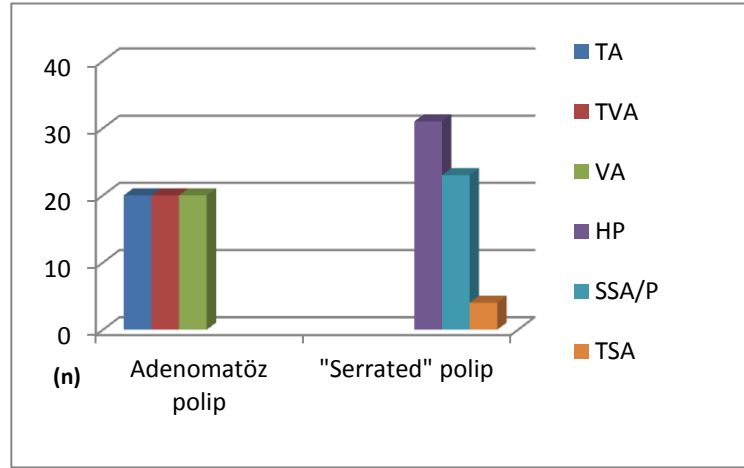
TNM	Olgu Sayısı (%)
<u>T1</u>	1 (%1,1)
<u>T2</u>	6 (%6,5)
<u>T3</u>	67 (%72,8)
<u>T4</u>	18 (%19,6)
Toplam	92 (%100)
<u>N0</u>	48 (%52,2)
<u>N1a</u>	10 (%10,9)
<u>N1b</u>	13 (%14,1)
<u>N2a</u>	11 (%12)
<u>N2b</u>	10 (%10,9)
Toplam	92 (%100)
<u>M0</u>	86 (%93,5)
<u>Mx</u>	6 (%6,5)
Toplam	92 (%100)



Şekil 8. KRK olgularının Grade'i, TNM evresine göre dağılımı

4.1.2. Genel Bulgular-Polip Grubu

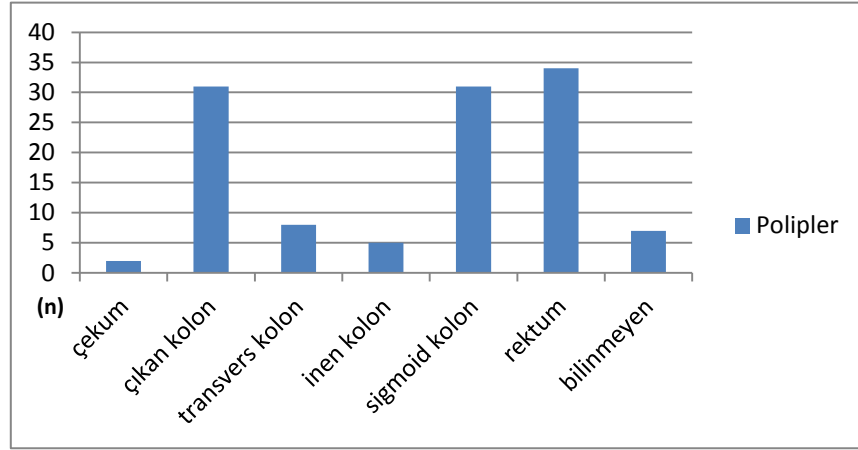
Polip olgu grubunda toplam 118 polip yer almaktadır. Bu poliplerin 60'ı adenomatöz polip, 58'si "serrated" polip özelliğindedir. Adenomatöz poliplerin 20'si (%16,9) tübüler adenom, 20'si (%16,9) tübülovillöz adenom, 20'si (%16,9) villöz adenom; "serated" poliplerin 31'i (%26,3) hiperplastik polip, 23'ü (%19,5) sesil "serrated" adenom/polip, 4'ü (%3,4) "traditional serrated" adenomdur.



Şekil 9. Poliplerin tiplerine göre dağılımı

Polip grubu içerisindeki 58 "serrated" polibin 22'si "serrated" polipozis tanılı 54 yaşında erkek hastaya aittir. Bu hastaya ait sağ kolon rezeksiyon materyalinde çıkan kolon yerleşimli adenokarsinoma ve çok sayıda polip varlığı saptanmıştır. Çalışmamıza aldığımız bu hastaya ait 22 polibin 10'u SSA/P, 12'si HP'dir. Ayrıca "serrated" polip grubu içerisinde 3 ayrı hastaya ait multipl polipler de bulunmaktadır. Bu hastalardan birisi 60 yaşında, erkek hastaya aittir ve 2 adet HP bulundurmaktadır. Bu hastalardan bir diğeri 68 yaşında, erkek hastaya aittir ve 2 adet HP bulundurmaktadır. Bu hastalardan diğeri 60 yaşında kadın hastaya aittir ve 3 adet HP bulundurmaktadır.

Polip grubunu oluşturan adenomatöz polip ve "serrated" poliplerin 2'si (%1,7) çekum, 31'i (%26,3) çıkan kolon, 8'i (%6,8) transvers kolon, 5'i (%4,2) inen kolon, 31'i (%26,3) sigmoid kolon, 34'ü (%28,8) rektum yerleşimlidir ve 7 olgunun (%5,9) lokalizasyonu belirtilmemiştir.

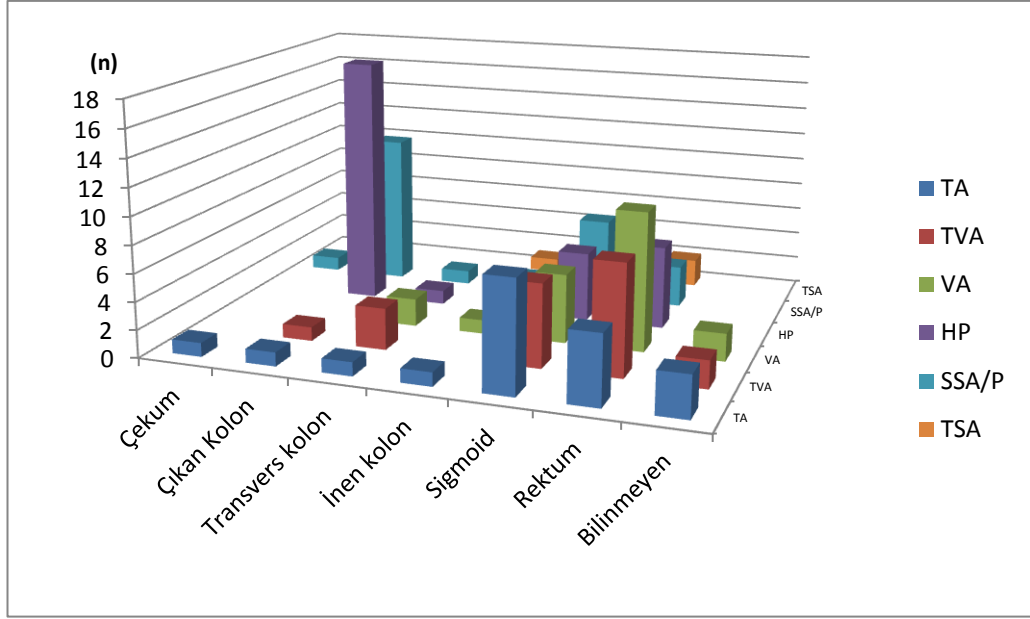


Şekil 10. Polip grubundaki olguların anatomik lokalizasyona göre dağılımı

Adenomatöz poliplerin 1'i (%1,6) çekum, 2'si (%3,3) çıkan kolon, 6'sı (%10) transvers kolon, 2'si (%3,3) inen kolon, 19'u (%31,6) sigmoid kolon, 23'ü (%38,3) rektum yerleşimlidir ve 7'sinin (%11,9) lokalizasyonu bilinmemektedir. "Serrated" poliplerin 1'i (%1,7) çekum, 29'u (%50) çıkan kolon, 2'si (%3,4) transvers kolon, 3'ü (%5,1) inen kolon, 12'si (%20,6) sigmoid kolon, 11'i (%19,2) rektum yerleşimlidir.

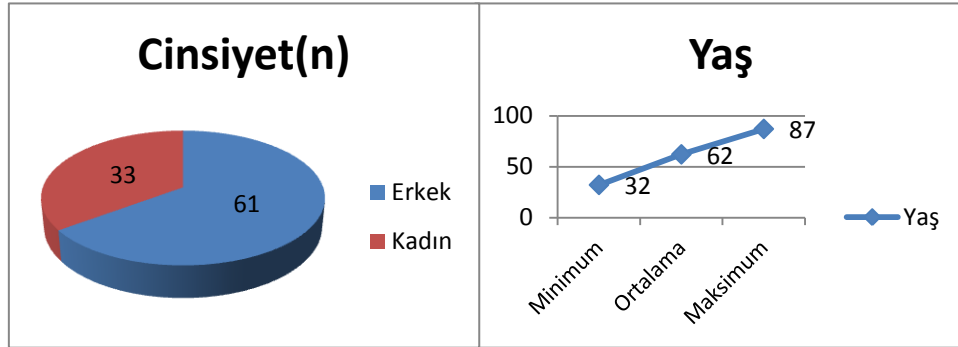
Tablo 7. Polip grubundaki olguların histolojik tipleri ve lokalizasyonları

Lokalizasyon	TA (n)	TVA (n)	VA (n)	HP (n)	SSA/P (n)	TSA (n)
Çekum	1	-	-	-	1	-
Çıkan kolon	1	1	-	18	11	-
Transvers kolon	1	3	2	1	1	-
İnen kolon	1	-	1	1	1	1
Sigmoid	8	6	5	5	6	1
Rektum	5	8	10	6	3	2
Bilinmeyen	3	2	2	-	-	-



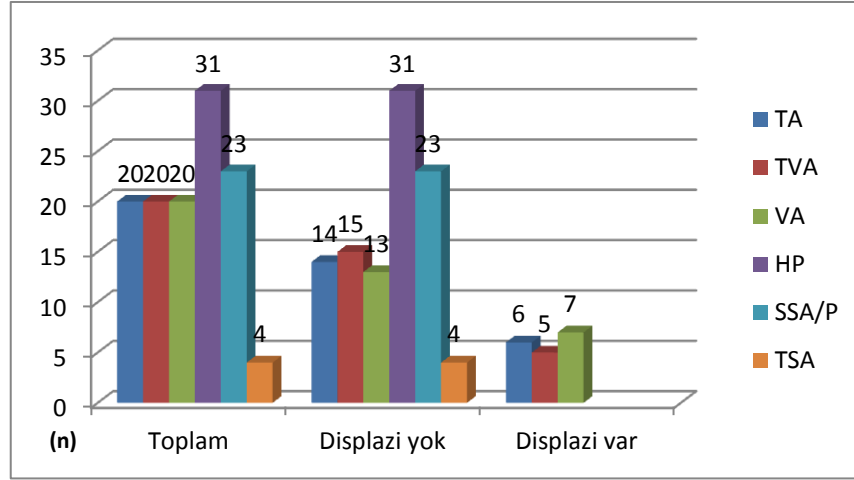
Şekil 11. Poliplerin anatomik lokalizasyona göre dağılımı

Polip grubundaki olguların 60'ı (%64,5) erkek, 33'ü (%35,5) kadındır. Yaş aralığı 32-87 yaş arasındadır ve ortalama yaş 62'dir.



Şekil 12. Polip grubundaki olguların cinsiyet ve yaş dağılımı

Poliplerin boyutu 1 mm-32 mm arasında değişmektedir ve ortalama boyut 11,69 mm'dir. Toplam 118 polibin 18'inde (%15,3) displazi bulunmaktadır. 18 polibin 6'sı TA (%33,3), 5'i (%27,8) TVA, 7'si (%38,9) VA özelliğindedir. Displazi ile boyut arasında ilişki olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Displazinin yaş ve lokalizasyon ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 13. Poliplerin displazi durumlarına göre dağılımı

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

KRK ve polip olgu gruplarından oluşan doku “array” bloklarından elde edilen kesitlere immünohistokimyasal olarak MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 boyanmıştır. Uygulanan dört marker için internal kontrol olarak dokulardaki kolon kript epiteli, lenfositler ve endotel hücreleri kullanılmıştır. Tümördeki ve polibi oluşturan hücrelerdeki nükleer boyanmanın varlığı pozitif; nükleer boyanmanın tamamen kaybı (tümör hücrelerinin hiçbirisinde ve polibi oluşturan hücrelerin hiçbirisinde nükleer boyanmanın olmaması) negatif olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmenin yapılabilmesi için incelenen sahada internal pozitif boyanmanın bulunması zorunlu koşul olarak belirlenmiştir.

MSI’nın Değerlendirilmesi: İmmünohistokimyasal olarak kullanılan dört markerın (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) herhangi birinde tam kayıp olması (negatif) MSI lehinde değerlendirilmiştir. Bu dört markerla ekspresyon kaybının görülmemesi (tümör hücrelerinde ve polibi oluşturan hücrelerde nükleer boyanmanın olması) MSS yönünde değerlendirilmiştir.

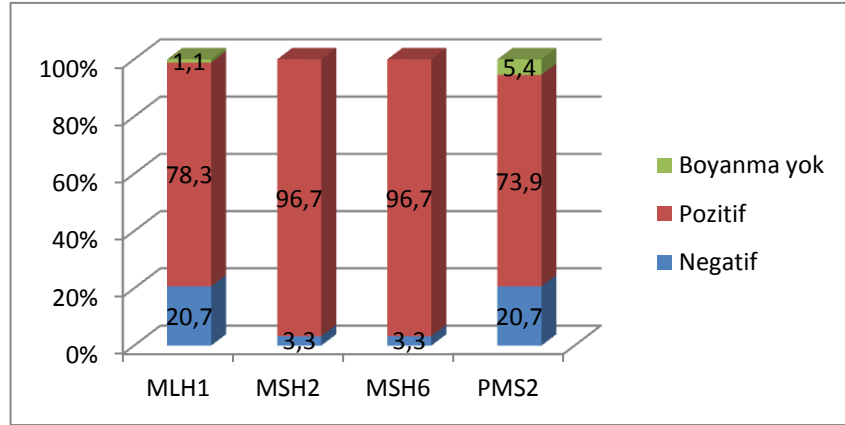
4.2.1. KRK Grubunda İmmünohistokimyasal Bulgular

KRK grubunda; değerlendirmeye alınan 92 olgunun 5'inde internal bölgede ve lezyonda PMS2 ile, 1'inde MLH1 ile tekrar denemelere rağmen boyanma elde edilememiştir. MLH1 ile boyanma elde edilemeyen olguda aynı zamanda PMS2 ile de optimal boyanma olmadığı görülmüştür.

92 KRK olgusunun 72'sinde (%78,3) MLH1 pozitif, 19'unda (%20,7) negatif ve 1 olguda (%1,1) MLH1 ile teknik olarak boyanma elde edilememiştir. MSH2; 89 olguda (%96,7) pozitif, 3 olguda (%3,3) negatiftir. MSH6; 89 olguda (%96,7) pozitif, 3 olguda (%3,3) negatiftir. PMS2; 68 olguda (%73,9) pozitif, 19 olguda (%20,7) negatif ve 5 olguda (%5,4) PMS2 ile teknik olarak boyanma elde edilememiştir.

Tablo 8. KRK olgularının immünohistokimyasal markerlar ile boyanma oranları

İmmünohistokimyasal Markerlar		Olgu Sayısı (%)
MLH1	Pozitif	72 (%78,3)
	Negatif	19 (%20,7)
	Boyanma Ø	1 (%1,1)
MSH2	Pozitif	89 (%96,7)
	Negatif	3 (%3,3)
MSH6	Pozitif	89 (%96,7)
	Negatif	3 (%3,3)
PMS2	Pozitif	68 (%73,9)
	Negatif	19 (%20,7)
	Boyanma Ø	5 (%5,4)



Şekil 14. KRK olgularının immünhistokimyasal markerlar ile boyanma oranları

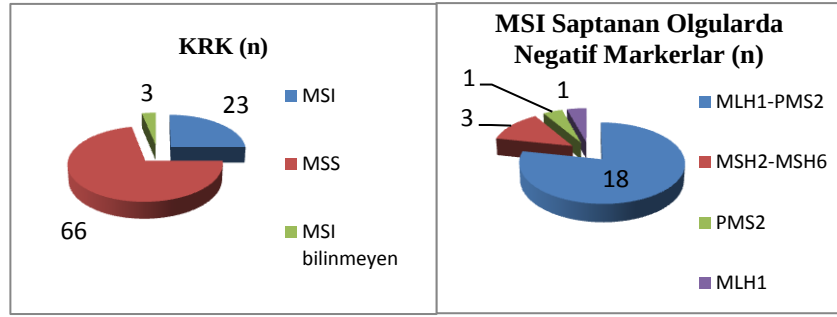
Olgular immünhistokimyasal olarak değerlendirilen 4 markerdan en az birinin boyanmaması ile MSI lehinde değerlendirilmiştir. Buna göre; 66 olgu (%71,7) MSS, 23 olgu (%25) MSI göstermektedir. Ayrıca 3 olguda (%3,3) MSH2 ve MSH6 pozitif olmasına rağmen PMS2 veya MLH1'in teknik olarak boyanmaması nedeniyle MSI durumu belirlenememiştir.

MSI olarak değerlendirilen 23 olgunun 19'unda (%82,6) MLH1 negatif; 23 olgunun 3'ünde (%13) MSH6 negatif; 23 olgunun 3'ünde (%13) MSH2 negatif, 23 olgunun 18'inde PMS2 negatiftir.

Heterodimer olarak birbirine bağlanarak DNA tamirinde görev alan genlerin ürünleri olan MLH1, MSH2, MSH6, PMS2'nin partnerleri ile dağılımı şu şekildedir:

- MLH1-PMS2
- MSH2-MSH6

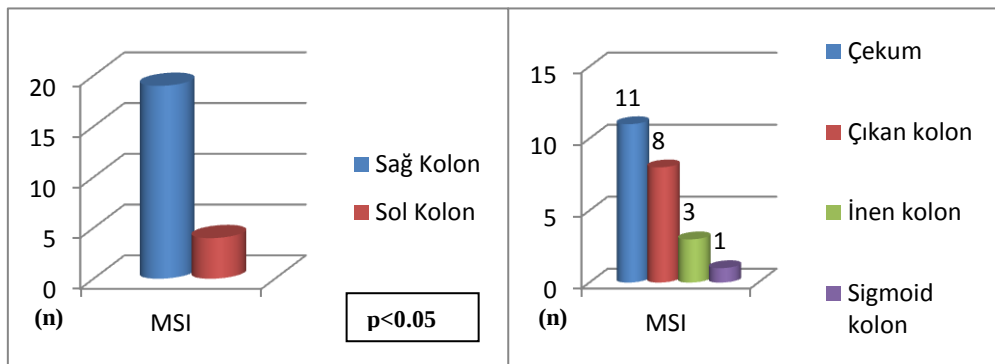
Bu bilgiler eşliğinde çalışmamızda MSI bulundurduğu saptanan 23 olgunun 18'inde (%78,26) MLH1-PMS2 birlikte negatif, 3'ünde (%13,04) MSH2-MSH6 birlikte negatif, 1'inde (%4,35) sadece PMS2 negatif, 1'inde (%4,35) MLH1 negatif ancak PMS2'de teknik olarak boyanma elde edilememiştir.



Şekil 15. KRK olgularında MSI saptanan olgu sayısı ve negatif markerların dağılımı

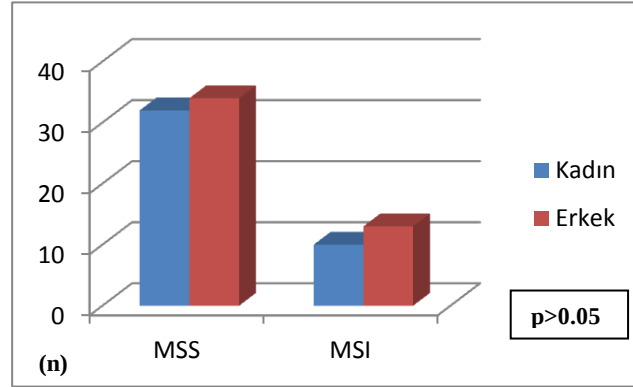
MSI gösteren KRK olgularının tümörlerinin boyutu 2 cm ile 11 cm arasında değişmekte ve ortalama 6,43 cm'dir. MSI göstermeyen olguların tümörlerinin boyutu 2 cm ile 17 cm arasında değişmekte ve ortalama 5,58 cm'dir. Bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve MSI gösteren tümörlü olguların tümör boyutu ortalamasının daha büyük olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

MSI gösteren 23 KRK olgusunun 19'u (%82,6) sağ kolon yerleşimli, 4'ü (%17,4) sol kolon yerleşimlidir. Anatomik lokalizasyonlarına göre 11 olgu (%47,8) çekum, 8 olgu (%34,8) çıkan kolon, 3 olgu (%13) inen kolon, 1 olgu (%4,3) sigmoid kolon yerleşimlidir. Bu dağılım istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve MSI gösteren tümörlü olguların daha çok sağ kolon yerleşimli oldukları saptanmıştır ($p<0,05$).



Şekil 16. MSI gösteren tümörlerin lokalizasyonları

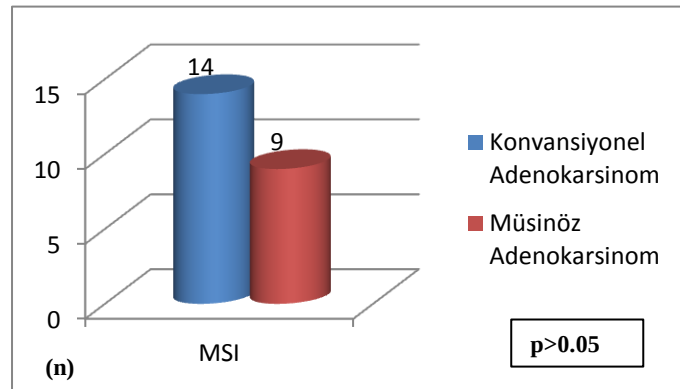
MSS olduğu belirlenen KRK olgularının 34'ü (%51,5) erkek, 32'si (%48,5) kadındır. MSI gösteren KRK olgularının 13'ü (%56,5) erkek, 10'u (43,5) kadındır. MSI ile olguların cinsiyeti arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 17. MSS ve MSI gösteren olguların cinsiyet dağılımı

MSI gösteren KRK olgularının yaş ortalaması 70,65 iken, MSI göstermeyen olguların yaş ortalaması 73,30'dur ve istatistiksel olarak bu bulgular anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

MSI gösteren KRK olgularının 14'ü (%60,9) konvansiyonel adenokarsinom, 9'u (%39,1) müsinöz adenokarsinom tanılıdır. Bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).



Şekil 18. MSI gösteren olguların histolojik tipine göre dağılımı

MSS olduğu saptanan KRK olgularının 1'i (%1,5) grade 1, 29'u (%43,9) grade 2, 36'sı (%54,5) grade 3 özelliğinde adenokarsinom özelliğindedir. MSI gösteren KRK olgularının 6'sı (%26,1) grade 2 özelliğinde iken, 17'si (%73,9) grade 3 özelliğinde adenokarsinomdur. Bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$). MSI gösteren KRK olgularının büyük kısmı (%73,9) grade 3 özelliğindedir.

Tablo 9. MSI durumuna göre KRK olgularının grade dağılımı

Grade	MSI gösteren KRK sayısı (%)	MSS saptanan KRK sayısı (%)
Grade 1	-	1 (%1,5)
Grade 2	6 (%26,1)	29 (%43,9)
Grade 3	17 (%73,9)	36 (%54,5)

MSS olduğu saptanan KRK olgularının 4'ü (%6,1) T2, 47'si (%71,2) T3, 15'i (%22,7) T4 özelliğindedir. MSI gösteren KRK olgularının 3'ü (%13) T2, 18'i (%78,3) T3, 2'si (%8,7) T4 özelliğindedir ve bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

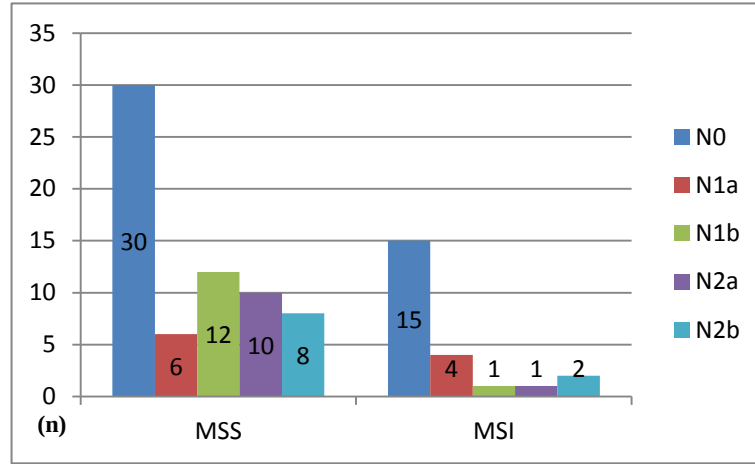
Tablo 10. MSS ve MSI olgularında invazyon derinliğinin TNM'ye göre dağılımı

pT	MSI gösteren KRK sayısı (%)	MSS saptanan KRK sayısı (%)
T2	3 (%13)	4 (%6,1)
T3	18 (%78,3)	47 (%71,2)
T4	2 (%8,7)	15 (%22,7)

MSS olduğu saptanan KRK olgularının 30'unda (%45,5) lenf nodu metastazı yok iken 36'sında (%54,5) lenf nodu metastazı bulunmaktadır. MSI gösteren KRK olgularının 15'inde (%65,2) lenf nodu metastazı saptanmamış, 8'inde (%34,8) lenf

nodu metastazı saptanmıştır. Bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

MSI gösteren KRK olgularının lenf nodu metastazı TNM'ye göre değerlendirildiğinde; 15 olgu (%65,2) N0, 4 olgu (%17,4) N1a, 1 olgu (%4,3) N1b, 1 olgu (%4,3) N2a, 2 olgu (%8,7) N2b özelliğindedir.



Şekil 19. MSS ve MSI olgularında lenf nodu metastazının TNM'ye göre dağılımı

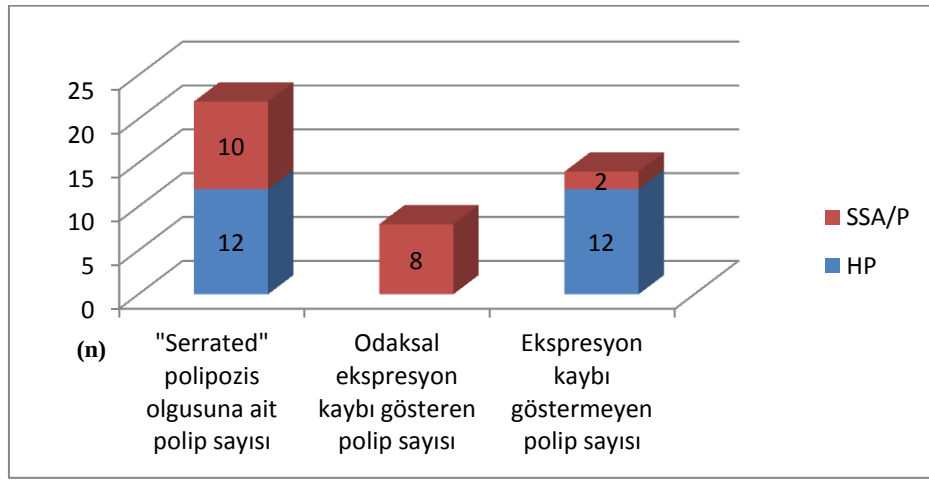
MSS olduğu saptanan KRK olgularının 60'ında (%90,9) tanı anında metastaz saptanmamış, 6'sında (%9,1) metastaz saptanmıştır. MSI gösteren KRK olgularının hiçbirinde metastaz saptanmamıştır. Ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

4.2.2. Polip Grubunda İmmünohistokimyasal Bulgular

Adenomatöz polip ve “serrated” poliplerden oluşan polip grubundaki olgular immünohistokimyasal olarak uygulanan MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 ile ekspresyon varlığı değerlendirildiğinde; adenomatöz polip grubundaki 20 TA, 20 TVA ve 20 VA olgusunda lezyonu oluşturan hücrelerin yaygın nükleer boyanma gösterdiği (pozitif) saptanmıştır.

“Serrated” polip grubundaki 58 polipte lezyonu oluşturan hücrelerin tüm antikorlarla nükleer boyanma gösterdiği (pozitif) saptanmıştır. Bu grup içerisinde yer alan 31 hiperplastik polibin MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 ile ekspresyon kaybı

göstermediği ve lezyonu oluşturan hücrelerin bu markerlar ile nükleer boyanma gösterdiği (pozitif) saptanmıştır. “Serrated” polip grubundaki 58 polibin 22’si “serrated” polipozis olarak değerlendirilen olguya aittir. Bu 22 polibin 10’u SSA/P, 12’si HP’dır. Bu polipler sağ kolon yerleşimlidir. Boyutları 2-5 mm arasında değişmektedir. “Serrated” polipozis olgusuna ait 10 SSA/P’nin 8’inde MLH1 ile odaksal ekspresyon kaybı saptanmıştır. Bu olguya ait HP’lerde MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 ile ekspresyon kaybı saptanmamıştır.



Şekil 20. “Serrated” polipozisli olguya ait poliplerin ve odaksal MLH1 ekspresyon kaybı gösteren poliplerin histolojik tipleri ve dağılımı

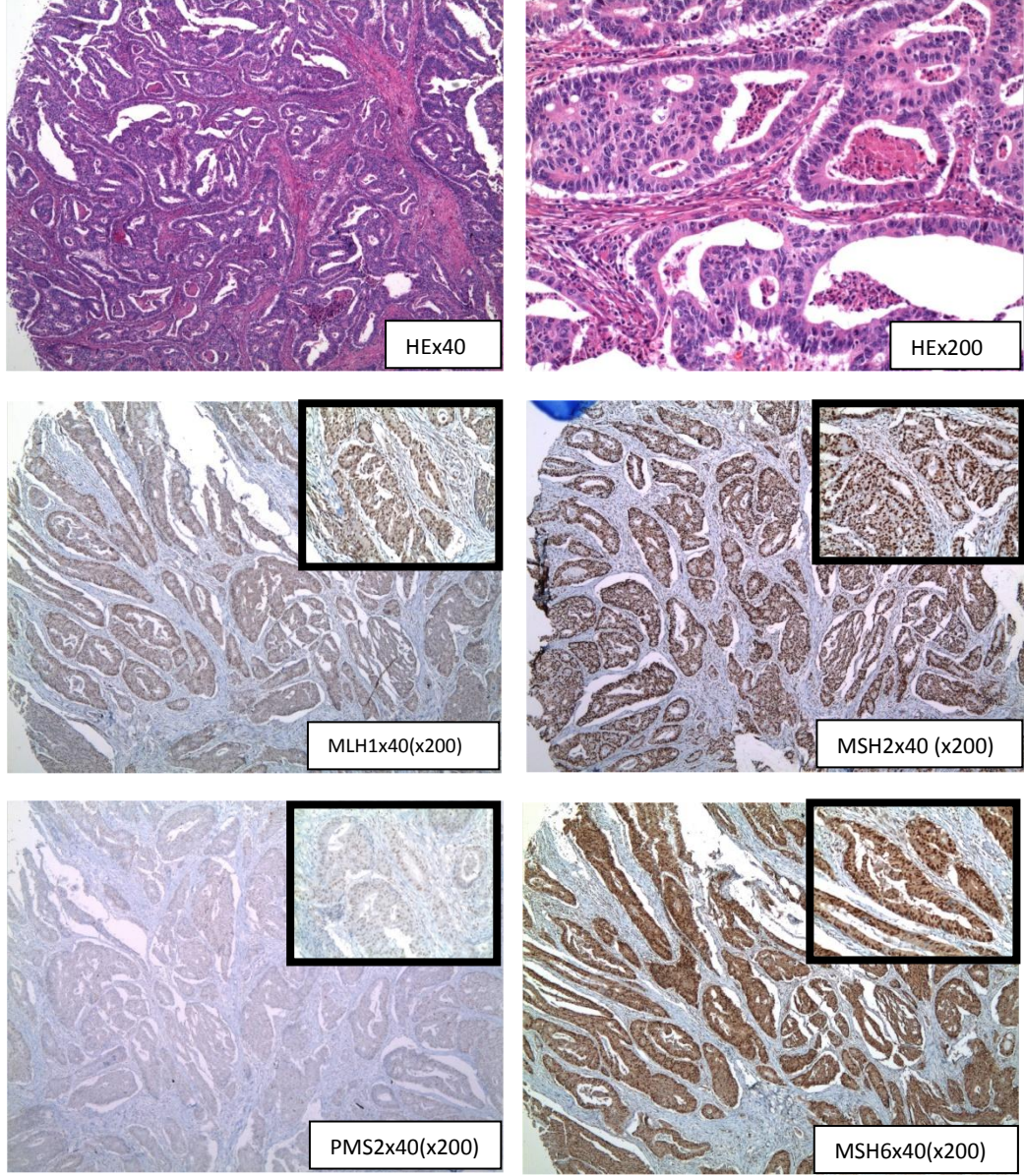
“Serrated” polip grubundaki 58 polibin toplam 13’ünde MLH1 ile odaksal ekspresyon kaybı saptanmıştır. Bu 13 polibin 8’i “serrated” polipozis olgusuna, 5’i farklı olgulara aittir. Farklı olgulara ait ekspresyon kaybı gösteren poliplerden 1’i TSA, 4’ü SSA/P özelliğindedir.

Odaksal ekspresyon kaybı gösteren poliplerin ait olduğu olgular değerlendirildiğinde; TSA olgusunun 45 yaşında kadın olduğu belirlenmiştir. Diğer odaksal ekspresyon kaybı gösteren SSA/P’ler değerlendirildiğinde; 56 yaşında erkek, 35 yaşında erkek, 50 yaşında kadın ve 64 yaşında erkek hastaya ait oldukları saptanmıştır. Bu poliplerden SSA/P’lerin lokalizasyonları sigmoid kolon ve rektum; TSA’nın lokalizasyonu ise rektumdur. Odaksal ekspresyon kaybı gösteren poliplerin

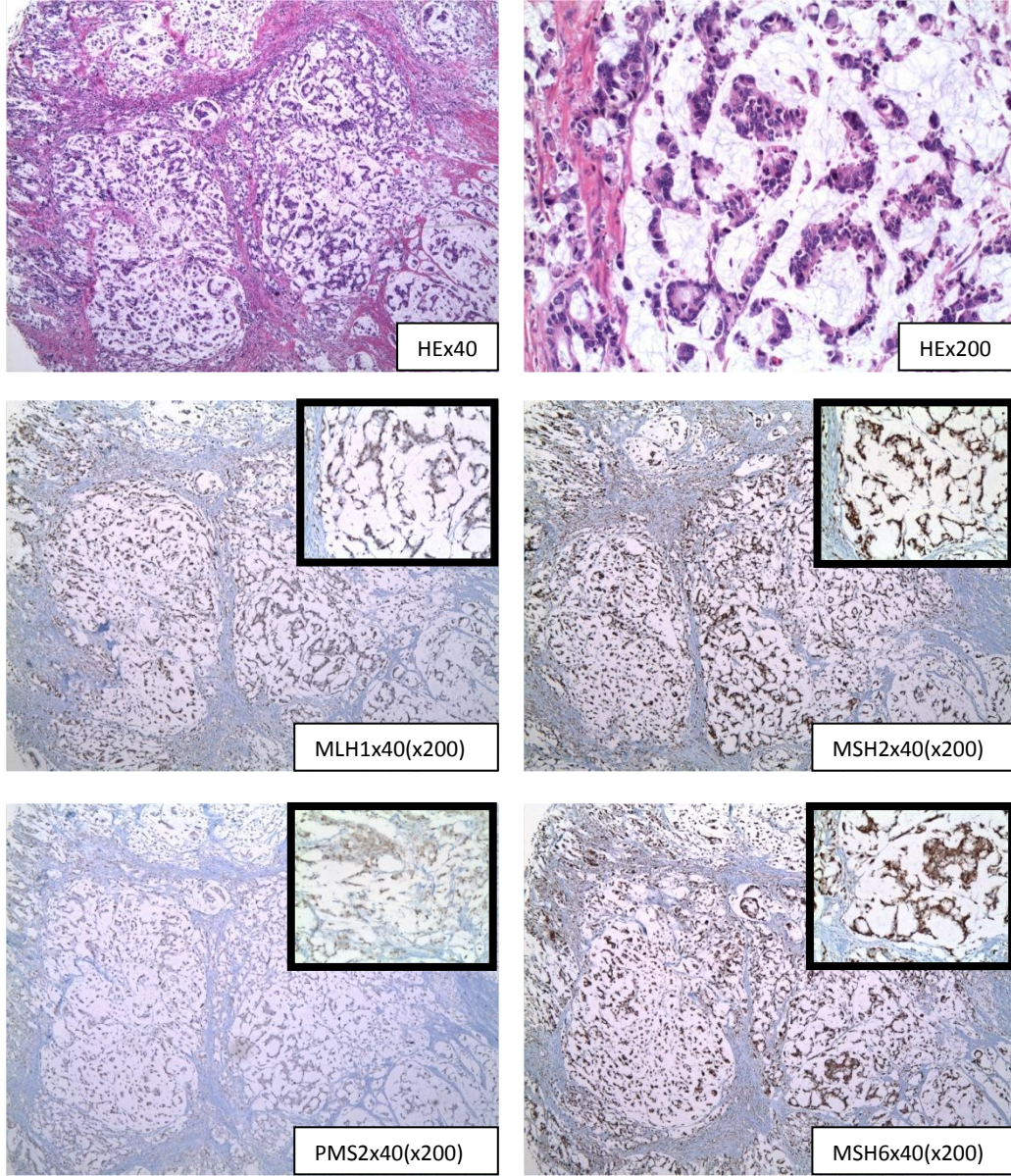
boyutu değerlendirildiğinde; SSA/P'lerin 5-13 mm arasında değiştiği; TSA'nın ise 18 mm uzun çaplı olduğu saptanmıştır.

Tablo 11. Polip grubunda odaksal ekspresyon kaybı gösteren olguların özellikleri

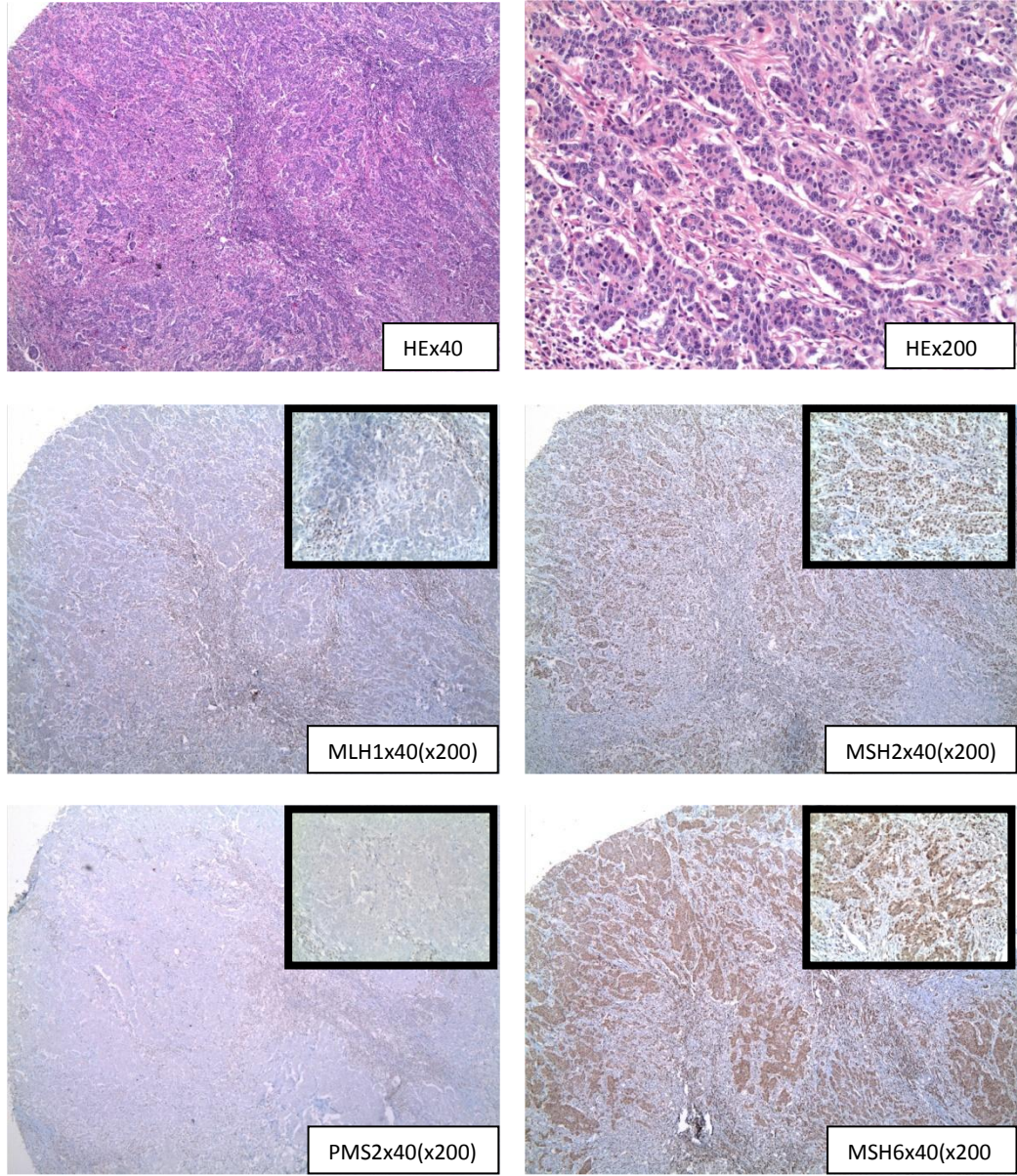
Olgular-Polip Tipi	Yaş	Cinsiyet	Boyut	Lokalizasyon
1.olgu (“serrated poliposis)-8 SSA/P	54	E	2-5 mm arasında değişmekte	Sağ kolon
2.olgu- SSA/P	56	E	6 mm	Sol Kolon
3.olgu- SSA/P	35	E	13 mm	Sol Kolon
4.olgu- SSA/P	50	K	5 mm	Sol Kolon
5.olgu- TSA	45	K	18 mm	Sol kolon



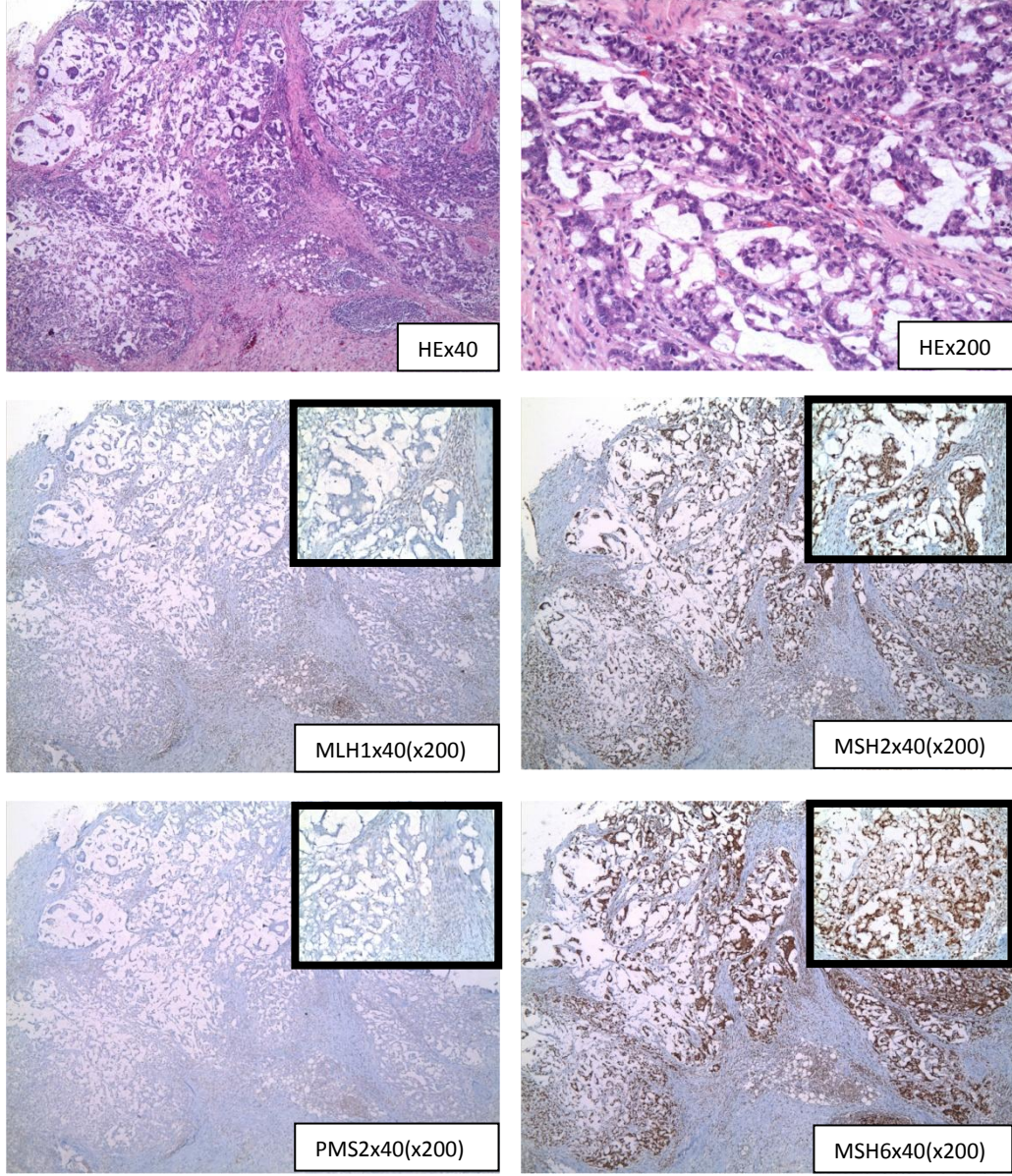
Resim 6. MLH1, MSH2, MSH6 VE PMS2 pozitif, MSS konvansiyonel adenokarsinoma olgusu



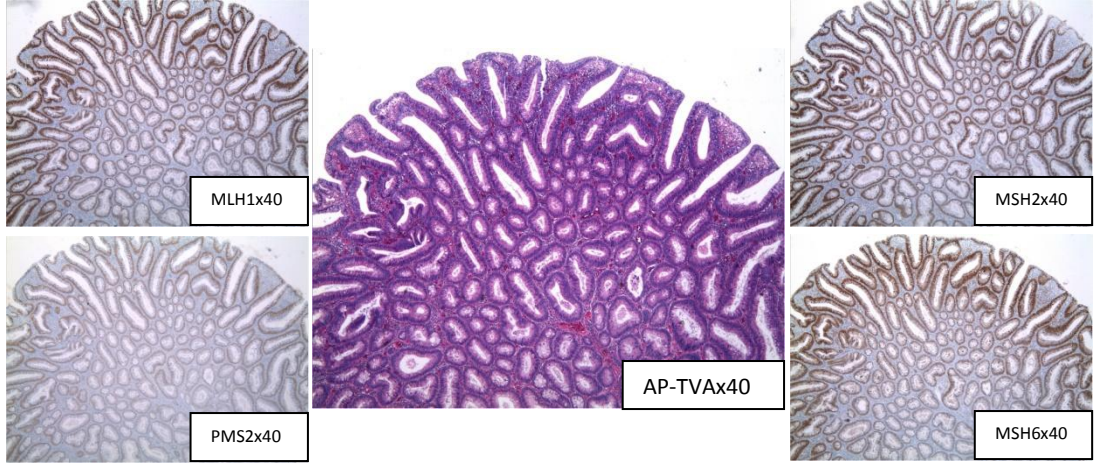
Resim 7. MLH1, MSH2, MSH6 VE PMS2 pozitif, MSS müsinöz adenokarsinoma olgusu



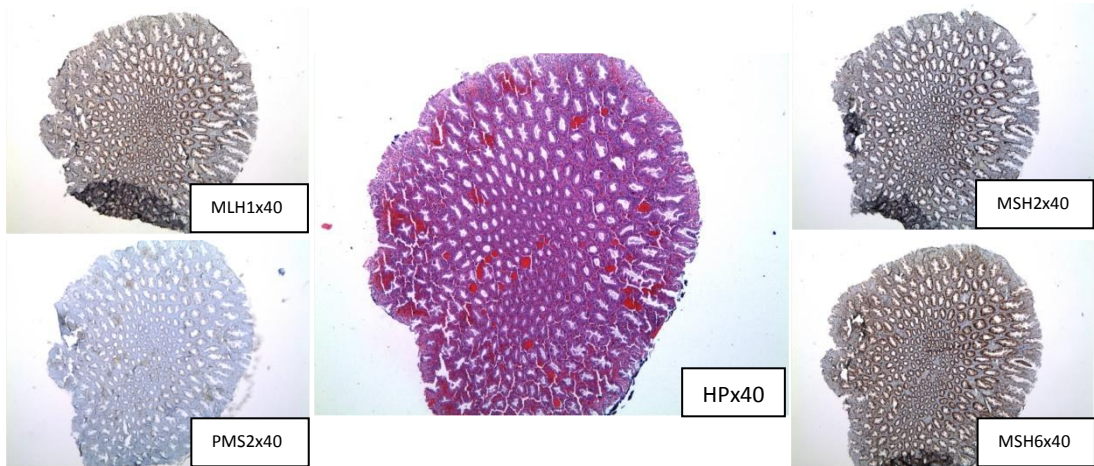
Resim 8. MLH1 VE PMS2 ekspresyon kaybı gösteren MSI konvansiyonel adenokarsinoma olgusu



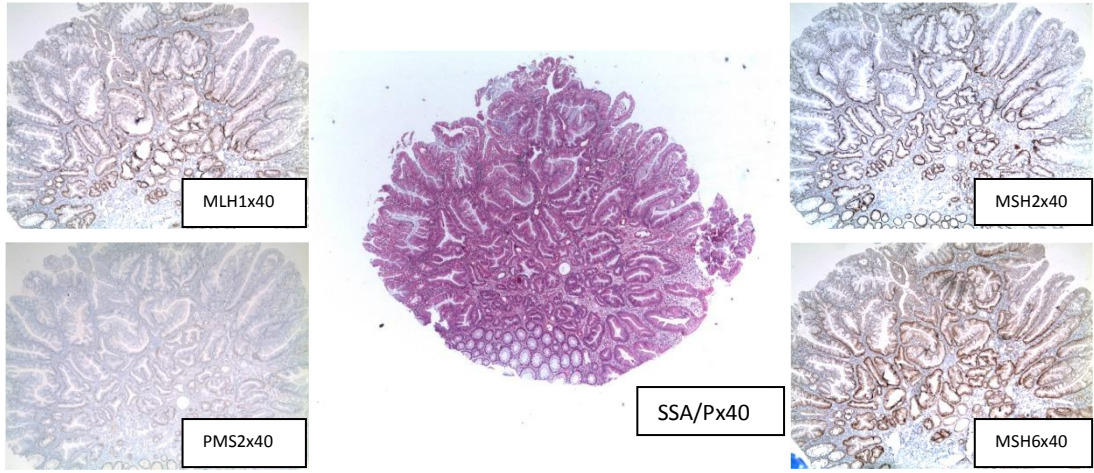
Resim 9. MLH1 VE PMS2 ekspresyon kaybı gösteren MSI müsinöz adenokarsinoma olgusu



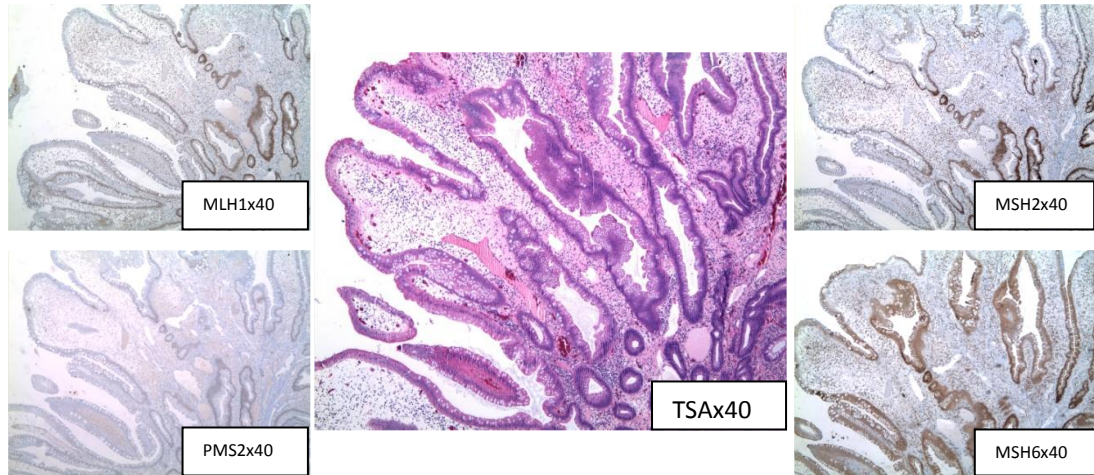
Resim 10. AP-TVA olgusuna ait mikroskopik ve immünohistokimyasal görüntüler



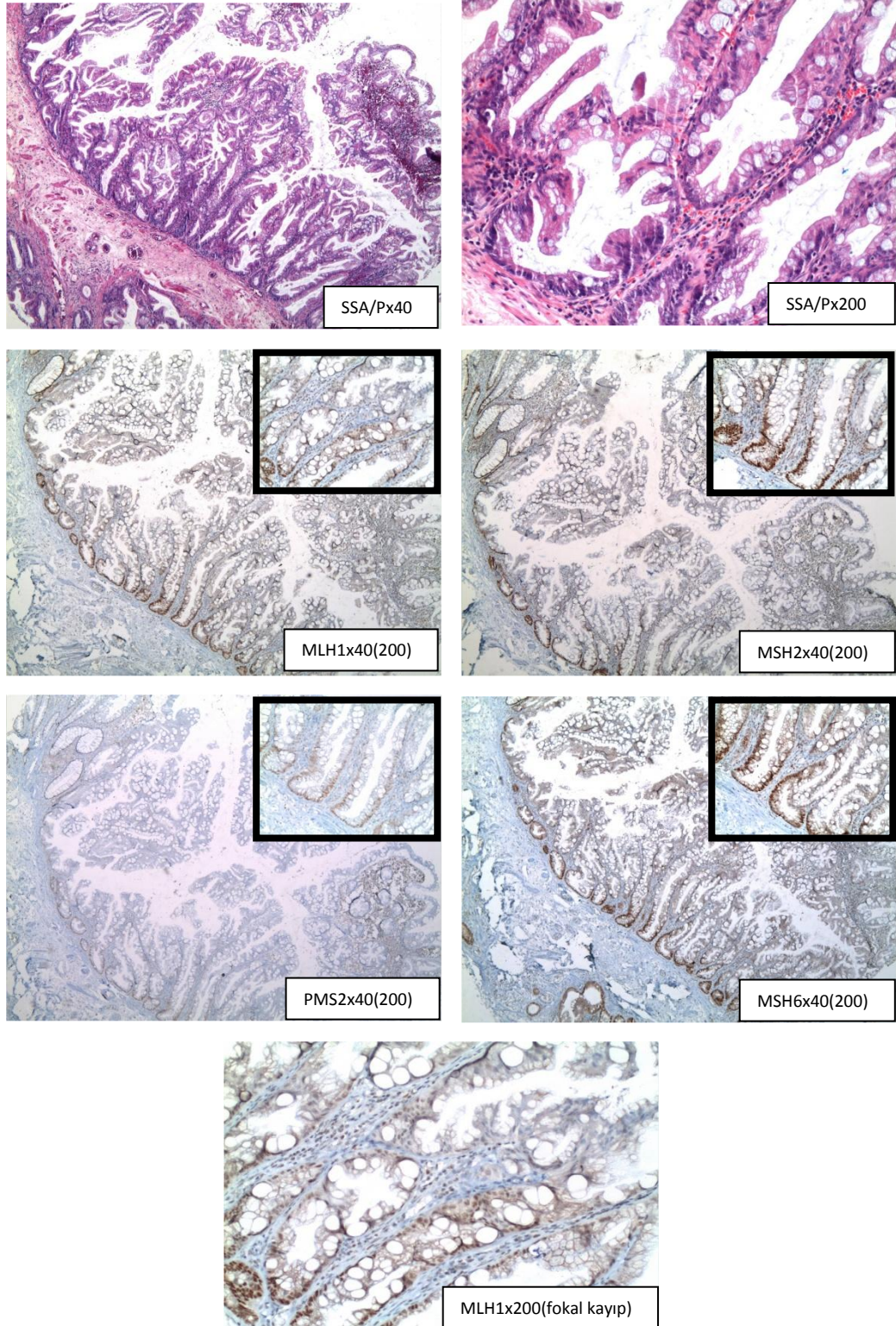
Resim 11. Hiperplastik polip olgusuna ait mikroskopik ve immünohistokimyasal görüntüler



Resim 12. SSA/P olgusuna ait mikroskopik ve immünohistokimyasal görüntüler



Resim 13. TSA olgusuna ait mikroskopik ve immünohistokimyasal görüntüler



Resim 14. “Serrated” polipozisli olguya ait odaksal MLH1 ekspresyon kaybı gösteren SSA/P

5. TARTIŞMA

Kolorektal karsinomalar, tüm dünyada kanser ilişkili ölümlerin önemli nedenleri arasında yer almaktadır. KRK'nin tüm yeni tanı alan kanserler içinde %9,7 oranına sahip olduğu ve yılda yaklaşık 1,23 milyon yeni KRK vakası olduğu bildirilmektedir. KRK; Türkiye'de erkeklerde akciğer, prostat ve mesane kanserinden sonra 4. sırada yer alırken, kadınlarda meme ve tiroid kanserinden sonra 3. sırada yer almaktadır (T.C 2008). KRK riski 50-75 yaş arasında değişir ve yaş arttıkça risk de artmaktadır.

Ülkemizde de sık görülen KRK olgularının doktora başvurusu genellikle ileri evrede olmaktadır. Bu nedenle cerrahi tedavi yanında diğer tedavi yöntemlerine ihtiyaç artmaktadır. Son yıllarda hedefe yönelik tedavi kullanılmasının giderek yaygınlaşması nedeniyle KRK'de tedavi seçimini ve prognozu belirleyebilecek moleküler belirteçlerin kullanımı ve saptanması son derece önemli ve gereklidir. Farklı moleküler mekanizmalarla oluşan öncü lezyon ve tümörlerin sınıflandırılması takip, tedavi ve prognostik açıdan önem taşımaktadır. Olguların doğru tedavi açısından sınıflandırılması bu moleküler mekanizmaların anlaşılması ile sağlanabilecektir.

Kolorektal karsinogenezisin gelişim mekanizmaları ortaya kondukça KRK'nin farklı moleküler yolları izleyen heterojen bir hastalık olduğu açıkça anlaşılmaktadır. Adenoma-karsinoma sekansındaki moleküler değişiklikler ve bunların morfolojik karşılıklarının belirlendiği çalışmalarla araştırılmaya başlanan kolorektal karsinogenezisin gelişim mekanizmaları günümüzde artarak devam eden çalışmalara konu olmuştur.

KRK öncülü poliplerin gelişim mekanizmaları ve karsinogenezis sırasındaki izlediği moleküler yolların anlaşılmasına başlanması ile KRK riski olan bireylerin belirlenmesi, olguların takibi, prognostik açıdan değerlendirilmesinin daha sağlıklı ve objektif olması sağlanabilecektir.

Son yıllarda yapılan çalışmalara göre; kolorektal karsinogenezis 3 farklı ana moleküler yolak içermektedir. Bunlar; kromozomal instabilite yolağı, mikrosatellit instabilite yolağı ve epigenetik instabilite yolağıdır (Jeong M. Bae 2012). Sporadik

KRK'lerin %75'inin kromozomal instabilite arayolunu izlediği ve bunun karsinogeneziste en önemli yolak olduğu bilinmektedir. Sporadik KRK'lerin %10'unun gelişiminden ise epigenetik instabilite yolağı (CIMP) sorumlu tutulmaktadır. Kalan %15 oranındaki sporadik KRK olgusunun gelişiminden ise mikrosatellit instabilitesi sorumlu tutulmaktadır (Chun-Chi Lin 2012).

KRK olgularının MSI durumunun belirlenmesi klinik olarak prognostik öneme sahiptir. MSI gösteren tümörlerin, MSI göstermeyen ve kromozomal instabilite gösteren tümörlere göre daha iyi prognoza sahip olduğu belirtilmektedir. Ayrıca MSI gösteren tümörlerin standart tedavide kullanılan kemoterapötik ilaçlara cevabının az olduğu ve “topoisomerase inhibitör irinotecan” tedavisinden yarar görebileceği bildirilmektedir (Vicki Whitehall 2011).

Tümör ve öncü lezyonlara ait dokularda MSI durumunu değerlendirmek moleküler veya immünohistokimyasal yöntemlerle yapılabilmektedir. Her olguya MSI değerlendirmesi için moleküler yöntemin uygulanması maliyet açısından yük getirmektedir. İmmünohistokimyasal yöntem ise hem uygulanabilirliği hem de maliyet açısından daha kullanışlıdır.

Lindor ve ark. yaptığı bir çalışmada 1144 kolon kanseri olgusunun 350'sinin (%30,6) moleküler olarak MSI-H özellik gösterdiği ve 350 olgunun 323'ünde immünohistokimyasal olarak MLH1 (%70,6) veya MSH2 (%29,4) kaybının olduğu saptanmıştır. MLH1 ve MSH2 immün markerları kullanılarak yapılan bu çalışmada MSI-H tümörlerde immünohistokimya sensitivitesi %92,3, spesifitesi %100 olarak bulunmuştur (Noralan M. Lindor 2002). Bu çalışmaya benzer şekilde; Cawkwell ve ark. yaptığı bir çalışmada 502 kolorektal kanser olgusunun 66'sında MSI-H fenotipi saptanmış ve bu olguların hepsinde (%100) immünohistokimyasal olarak MLH1 veya MSH2 kaybı olduğu belirtilmiştir (L Cawkwell 1999).

Yukarıda açıklanan tüm bu nedenlerden ötürü çalışmamızda sporadik KRK olgularında ve öncü lezyonu bulunan olgularda MSI durumunu immünohistokimyasal yöntemle değerlendirmeyi ve MSI saptanan olguların özelliklerini literatür eşliğinde tartışmayı amaçladık.

Jourdan ve ark. yaptığı bir çalışmada doku “mikroarray” bloğunda KRK olgu gruplarında kolorektal karsinogenezisin iki ana yolunu değerlendirmek için yeterli

doku miktarı araştırılmıştır. 30 KRK olgusunun 15'inde daha önceden yapılan moleküler yöntemler sonucunda MSI gösterdiği saptanmıştır. 30 olgudan alınan 8 adet, 0,6 milimetre çapında korlar haritalanarak yeni bloğa yerleştirilmiştir. MSI gösteren olgulardan alınan bütün korlarda immünhistokimyasal olarak boyanma saptanmamıştır. p53, MLH1 ve MSH2'nin değerlendirildiği bu çalışmada vakalar bütün kesitleri ile karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak 4 kor ve üzerinde değerlendirilen olguların doğruluk oranının %100 olduğu belirtilmiştir (Florence Jourdan 2003). Çalışmamızda KRK ve öncü lezyonu olan olgulara ait dokulardan 4 milimetre çapında korlar çıkardık ve bunları haritalayarak yeni "alıcı" bloklar oluşturduk. Bu doku "array" bloklarından elde edilen kesitler üzerinde immünhistokimyasal incelemeleri tamamladık. Literatürdeki bilgiler eşliğinde bu korların MSI değerlendirmesi için yeterli büyüklükte olduğu ve bu yöntemle araştırma maliyetinin düşürüldüğü ve daha sonraki çalışmalar için hızlı analiz yapılabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca bu blokların ileride yapılacak moleküler araştırmalar için hazır olması diğer avantajları arasında yer almaktadır.

Bilindiği üzere MSI belirlemede moleküler yöntemlerle belirlenmiş referans genler üzerinden inceleme yapılmaktadır. Hem teknik hem de maliyet açısından zorlayıcı bu yönteme alternatif olabilecek immünhistokimyasal metodlar ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Ward ve ark. yaptığı bir çalışmada 835 kolorektal karsinomun mikrosatellit instabilitesini hem immünhistokimyasal hem de moleküler olarak araştırılmış ve immünhistokimya ile moleküler yöntemlerin korelasyonu değerlendirilmiştir. 835 tümörün 115'inde (%13,8) moleküler olarak MSI saptanmıştır. İmmünhistokimyasal olarak 108 tümörde MLH1 veya MSH2'den birinde kayıp saptanmıştır. Dört tümör moleküler olarak MSI gösterdiği izlenirken immünhistokimyasal olarak bu olgularda ekspresyon kaybı olmadığı, 9 tümörün immünhistokimyasal olarak ekspresyon kaybı gösterdiği ancak moleküler olarak MSS olduğu belirtilmiştir. Moleküler yöntem altın standart olarak ele alındığında immünhistokimyasal olarak MSI değerlendirmesinin sensitivitesi %83, spesifisitesi %99,7 olarak belirtilmiştir (Robyn Lynne Ward 2005). İmmünhistokimyasal olarak MSI değerlendirmesinin sensitivite ve spesifisitesinin araştırıldığı, Yoon ve ark. yaptığı bir çalışmada 2028 sporadik KRK olgusu hem moleküler olarak hem de immünhistokimyasal olarak MSI açısından incelenmiştir. 207 olguda (%10,7)

immünohistokimyasal olarak MLH1 ve/veya MSH2 ekspresyon kaybı saptanmıştır. 203 olgunun (%10) moleküler olarak MSI-H olduğu saptanmıştır. İmmünohistokimya sensitivitesi %63,1, spesifisitesi %95,7 olarak saptanmıştır. Sensitivitenin düşük olmasının nedeninin ise teknik sınırlamalar, fokal veya sitoplazmik boyanmanın olabileceği belirtilmiştir. Teknik problemlerin en önemlisinin dokuların uzun süre fiksasyon içerisinde kalması olduğu, yıllara göre yapılan sensitivite oranları ile değerlendirilerek saptanmıştır (Yong Sik Yoon 2011). Ayrıca MSI değerlendirmede antikorların farklı klonlarının kullanılmasının da bu sonuçlar üzerinde etkili olabileceği düşünülmüştür.

MSI, Lynch Sendromu (HNPCC) tümörleri için karakteristiktir. Lynch Sendromunda 4 major DNA MMR geninde “germline” mutasyon oluşması ile bu sendrom ile ilişkili tümörler oluşmaktadır. Lynch Sendromu otozomal dominant kalıtım göstermekte ve KRK’lerin %2-3’ünü oluşturmaktadır (Chandrajit P. Raut 2004). Oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve diğer endojen stres sonucunda oluşan DNA hasarı DNA MMR proteinleri ile tanınmakta ve onarılmaktadır. Yanlış baz eşleşmeleri ve tek baz “insersiyon/delesyon loop” larını MutS-ilişkili heterodimerik kompleksler tanır: MSH2-MSH6 (hMutSAlfa). “İnsersiyon/delesyon loop” ları eğer 2-8 bazdan oluşuyor ise bu hatayı MSH2-MSH3 (hMutSBeta) tanır (George Poulogiannis 2010). Diğer heterodimerik kompleks olan MLH1-PMS2 (hMutLAlfa) ve MLH1-PMS1 (hMutLBeta) proteinleri MSH içeren komplekslere bağlanır ve eksizyon ve yeniden sentez aşamalarında görev alırlar (George Poulogiannis 2010). Lynch sendromunda sıklıkla MLH1 ve MSH2 genleri etkilenmekte ve immünohistokimyasal olarak en sık bu genlerin ürünlerinde kayıp saptanmaktadır (G. Dionigi 2007, George Poulogiannis 2010). Lynch Sendromlu olgularda MLH1 ile %40-45, MSH2 ile %40-45, MSH6 ile %5-10, PMS2 ile %1 oranında kayıp saptanmıştır (Gurjeet Kaur 2011). Lynch Sendromlu olguların %5-20 oranında immünohistokimyasal olarak MMR proteinlerinde herhangi bir kayıp bulunmazken, moleküler olarak MSI saptanabildiği belirtilmektedir (George Poulogiannis 2010). Tunca ve ark. Türk HNPCC hastalarındaki MMR genlerini analiz ettikleri çalışmalarında 28 KRK olgusu değerlendirilmiş ve 10’unda moleküler olarak MSI saptandığı belirtilmiştir. MSI saptanan olguların hepsinde immünohistokimyasal olarak MLH1 veya MSH2 kaybı saptanmıştır (Berrin Tunca 2010). Lynch sendromu

için karakteristik olan MSI'nin sporadik KRK olgularının %15-20'sinin gelişiminden sorumlu olduğu saptanmıştır (George Poulogiannis 2010). Sporadik KRK'lerde gelişen MMR inaktivasyonu Lynch Sendromunda görüldenden daha farklı mekanizmaya sahiptir. Sporadik KRK'lerde "mutator fenotip" olarak adlandırılan bu yolak MLH1 promoter bölgesinin hipermetilasyonuna bağlı transkripsiyonel olarak sessizleşmesi ile karakterlidir (George Poulogiannis 2010).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada doku "mikroarray" yöntemini kullanarak sporadik KRK tanılı olgularda immünhistokimyasal olarak MLH1 ve MSH2 ekspresyonlarını araştırılmış ve 77 olgunun 32'sinde (%43,2) MLH1 veya MSH2 ekspresyon kaybı saptanmıştır. 32 olgunun 27'sinde MLH1 negatif-MSH2 pozitif, 5'inde MLH1 pozitif-MSH2 negatif, 2'sinde MLH1 negatif-MSH2 negatif bulunduğu belirtilmiştir (Sibel Erdamar 2007).

Lin ve ark. yaptığı bir çalışmada 709 kolon kanserli olgunun %8,5 (60 olgu) oranında moleküler yöntemlerle gösterilmiş MSI-H özelliğinde olduğu ve bunların %58'inde (35 olgu) immünhistokimyasal olarak MLH1 ekspresyon kaybı bulunduğu belirtilmiştir (Chun-Chi Lin 2012). İmmünhistokimyasal olarak MSI değerlendirilmesinin yapıldığı başka bir çalışmada 270 primer KRK olgusunun 57'sinde (%21,1) MMR proteinlerinin bir veya daha fazlasında kayıp olduğu saptanmıştır (Christopher D. South 2009). 57 olgunun 38'inde (%66,7) MLH1 ve PMS2'nin birlikte kaybı, 7'sinde (%12,3) MSH2-MSH6 birlikte kaybı, 10'unun (%17,5) sadece MSH6, 1'inde (%1,8) sadece PMS2 kaybı gösterdiği belirtilmiştir (Christopher D. South 2009). Bu çalışmada da saptanan MMR genlerinin birlikte kaybını inceleyen başka bir çalışmada MMR proteinlerinin heterodimer çiftler halinde fonksiyon gördüğü, MSH6'nın sadece MSH2 ile; PMS2'nin sadece MLH1 ile heterodimer oluşturduğu belirtilmiştir. Bunun tersi olarak MSH2'nin MSH6 ve diğer bazı MMR proteinleri ile, MLH1'in PMS2 ve diğer MMR proteinleri ile heterodimer çiftler oluşturduğu saptanmıştır. Bu nedenle MSH2 inaktive olduğunda immünhistokimyasal olarak MSH2 ve MSH6'nın birlikte kaybı, MLH1 inaktive olduğunda MLH1 ve PMS2'nin birlikte kaybının olacağı, ancak MSH6 kaybı veya PMS2 kaybı olduğunda heterodimer çiftleri olan MSH2 ve MLH1'in pozitif olabileceği sonucuna varılmıştır (C. Richard Boland 2008).

Bizim çalışmamızda Lynch Sendromu ilişkili olabilecek KRK dışındaki olgular değerlendirmeye alınmıştır. Bu amaçla 60 yaş üzerinde tanı alan ve bilindiği kadarıyla aile öyküsü olmayan KRK olguları çalışmamıza dahil edilmiştir. Çalışmamızda 92 KRK olgusundan 89'unda MSI değerlendirilmesi yapılabilmiş, kalan 3 olguda ise tekrar boyamalara rağmen optimal sonuç alınamadığı için MSI değerlendirmesi yapılamamıştır. Değerlendirilen 89 olgunun 23'ünde (%25) bir veya birden fazla immünohistokimyasal markerda tam kayıp izlenmiş ve bunlar MSI olarak değerlendirilmiştir. Bu bulguların literatürde belirtilen oranlara (Lindor ve ark. %30,6, South ve ark. %21,1, Poulogiannis ve ark. %15-20) benzer oranda olduğu saptanmıştır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise sporadik KRK olgularında %43,2 oranında immünohistokimyasal olarak MLH1 veya MSH2 ekspresyon kaybı saptanmıştır. Bunun nedenleri arasında olguların 60 yaşından büyük olması ve yaş arttıkça DNA metilasyonunun artması yer alabilir (Sanjay Kakar 2003, Tomio Arai 2010). DNA metilasyonunda artış olması MLH1'in hipermetilasyonuna ve tümörlerde MSI gelişimine neden olmaktadır. Bir diğer neden ise olguların epikriz bilgilerinin düzenli olmaması, sözel bilgilere dayandırılması nedeniyle sporadik olarak değerlendirilen olguların tespit edilmemiş Lynch Sendromlu olguların da değerlendirilen olgular arasında olması ihtimali olabilir.

Bizim çalışmamızda MSI KRK olarak değerlendirdiğimiz 23 olgunun 18'inde (%78,26) MLH1-PMS2 birlikte negatif, 3'ünde (%13,04) MSH2-MSH6 birlikte negatif, 1'inde (%4,35) sadece PMS2 negatif, 1'inde (%4,35) MLH1 negatif ancak PMS2'de teknik nedenlerle boyanma elde edilememiştir. Bu immünohistokimyasal bulguların literatürde belirtilen oranlarla benzer olduğunu saptadık (Christopher D. South 2009). Buna ek olarak heterodimer çiftlerin de genellikle birlikte negatif olduğunu ve sadece 1 olguda PMS2'nin tek başına negatif olduğunu belirledik. Literatürde %1-2 oranında saptanan sadece PMS2'nin immünohistokimyasal olarak kaybı PMS2'deki mutasyona işaret ettiği belirtilmektedir (Christopher D. South 2009, Albert de la Chapelle 2010).

Tümör lokalizasyonu ile MSI arasındaki ilişkinin araştırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Kaur ve ark. yaptığı 148 KRK olgusuna ait 150 tümörün değerlendirildiği bir çalışmada 28 olguda (%18,7) immünohistokimyasal olarak MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 antikorlarından bir veya daha fazlasında kayıp

saptanmıştır. 31 sağ kolon yerleşimli tümörün 14'ünde (%45,2), 119 sol kolon yerleşimli tümörün 14'ünde (%11,8) anormal MMR protein ekspresyonu saptanmış ve bunun istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği belirtilmiştir. MMR protein ekspresyonu kaybı gösteren tümörlerin daha çok sağ kolon yerleşimli olduğu saptanmıştır (Gurjeet Kaur 2011). Bu çalışmaya benzer şekilde Lin ve ark. 709 KRK olgusunu değerlendirdiği çalışmalarında 60 olgunun (%8,5) MSI-H özellikte olduğu ve bu olguların 13'ünde immünohistokimyasal olarak ekspresyon kaybı bulunmadığı saptanmıştır. MSI-H saptanan olguların 46'sının (%76,7) proksimalde yerleşim gösterdiği, 14'ünün (%23,3) distalde yerleşim gösterdiği saptanmış ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır (Chun-Chi Lin 2012). Tümör lokalizasyonu ile MSI durumu arasındaki farklılığı araştıran başka bir çalışmada 2028 KRK olgusunun 207'sinin (%10,2) MLH1 veya MSH2 ekspresyon kaybı gösterdiği belirtilmiştir. 524 sağ kolon yerleşimli tümörün 110'unda (%21), sol kolon yerleşimli 734 tümörün 56'sında (%8), 770 rektum yerleşimli tümörün 41'inde (%5) immünohistokimyasal olarak MLH1 veya MSH2 ekspresyon kaybı olduğu saptanmış ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirtilmiştir (Yong Sik Yoon 2011). Bu çalışmalardaki bulgulara benzer şekilde; Öhring ve ark. 1006 KRK olgusunu değerlendirdiği çalışmalarında 157 olgunun (%15,6) MLH1 veya MSH2 ekspresyon kaybı gösterdiği belirtilmiştir. 390 proksimal kolon yerleşimli tümörün 113'ünde (%29), distal kolon yerleşimli 328 tümörün 29'unda (%8,8), rektum yerleşimli 288 tümörün 15'inde (%5,2) immünohistokimyasal olarak MLH1 veya MSH2 ekspresyon kaybı gösterdiği ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği saptanmıştır (Katarina Öhring 2010). Evre III sporadik kolon kanserlerinin moleküler olarak MSI durumlarının araştırıldığı bir çalışmada 127 olgunun 55'i proksimal ve 72'si distal kolon yerleşimli olduğu belirtilmiştir. 127 olgunun 16'sında MSI-H saptanmış ve bunların 15'i (%93,7) proksimal kolon yerleşimli 1'i (%6,3) distal kolon yerleşimli olduğu belirtilmiştir. Bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (Seung Yeop Oh 2013).

Bizim çalışmamızda değerlendirdiğimiz 92 KRK olgusunun immünohistokimyasal olarak herhangi bir MMR gen protein ürününün ekspresyon kaybı saptadığımız ve MSI olarak değerlendirdiğimiz 23 olgunun 19' u (%82,6) sağ kolon yerleşimli, 4'ü (%17,4) sol kolon yerleşimlidir. Bu olguların 11'inin (%47,8)

çekumda, 8'inin (%34,8) çıkan kolonda, 3'ünün (%13) inen kolonda ve 1'inin (%4,3) rektumda yerleşimli olduğunu saptadık. Bu bulguların literatürdeki bulgulara benzer olduğunu ve MSI tümörlerin istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstererek sağ kolon yerleşimli olduklarını tespit ettik ($p<0,05$). Literatürde de MSI gösteren tümörlerin daha çok sağ kolon yerleşimli olduğu vurgulanmaktadır (Matthias Kloor 2014), ancak bunun altında yatan mekanizma günümüzde halen bilinmemektedir.

MSI'nin yaş ve cinsiyet ile ilişkisini araştıran çalışmalardan birisi Park ve ark. 318 sporadik KRK olgularında immünohistokimyasal MMR protein ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmadır. Bu çalışmada olguların 36'sında (%11,3) MMR protein ekspresyon kaybı saptanmıştır. MMR ekspresyon kaybı gösteren olguların yaş ortalaması 60,3 yaş olarak saptanmış, 22 olgunun (%61,1) erkek, 14 olgunun (%38,9) kadın olduğu belirtilmiştir (Ji Won Park 2010). Benzer şekilde yapılan başka bir çalışmada moleküler olarak MSI-H saptanan evre III sporadik kolon kanserli 16 olgunun 14'ünün (%87,5) 65 yaşından küçük olduğu, 2'sinin (%12,5) 65 yaş ve üzerinde olduğu; 16 olgunun 11'inin (%68,8) erkek, 5'inin (%31,3) kadın olduğu belirtilmiştir. Bu bulguların istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği saptanmıştır (Seung Yeop Oh 2013). Yoon ve ark. yaptığı yaş ve cinsiyet ile MSI'nin ilişkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada immünohistokimyasal olarak MLH1 veya MSH2 kaybı gösteren 207 sporadik KRK olgusunun 54'ünün 50 yaşından küçük olduğu, 153'ünün 50 yaş ve üzerinde olduğu; 207 olgunun 111'inin erkek ve 96'sının kadın olduğu saptanmıştır. Bu bulguların istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği belirtilmiştir (Yong Sik Yoon 2011).

Öhrling ve ark. 157 sporadik KRK olgusunun (%15,6) MLH1 veya MSH2 ekspresyon kaybı gösterdiğini saptadıkları çalışmalarında 88 olgunun 66 yaşından küçük olduğu, 69 olgunun 66 yaşından büyük olduğu saptanmıştır. Ayrıca 157 olgunun 76'sının erkek, 81'inin kadın olduğu belirtilmiştir (Katarina Öhrling 2010).

Toth ve ark. kolorektal kanserlerin moleküler yolaklarının ve patomorfolojisini incelediği çalışmasında sporadik KRK'lerin 60 ile 80 yaş arasında sık görüldüğünü ve HNPCC olgularının 35 ile 55 yaş arasında geliştiği belirtilmiştir. HNPCC olgularının 35-39 yaş ve 45-49 yaş arasında bimodal pik yaptığı saptanmıştır (Erika Tóth 2011).

Lanza ve ark. 718 KRK olgusunu değerlendirdiği çalışmalarında 114 olguda immünhistokimyasal olarak MLH1/MSH2 ile ekspresyon kaybı saptanmıştır. 114 olgunun 42'sinin (%36,8) erkek, 72'sinin (%63,2) kadın olduğu; 10'unun (%8,8) 50 yaş altında, 51'inin (%44,7) 50-70 yaş arasında, 53'ünün (%46,5) 70 yaş üzerinde olduğu belirtilmiştir (Giovanni Lanza 2006). Yaş ve cinsiyet ile MSI'nin araştıran ve benzer bulgular gösteren Lin ve ark. 60 MSI-H gösteren sporadik KRK olgusu saptadıkları çalışmalarında olguların ortalama yaşının 67,2 olduğu; 26'sının (%43,3) erkek, 34'ünün (%56,7) kadın olduğu belirtilmiştir (Chun-Chi Lin 2012).

Ülkemizde sporadik KRK tanılı olguların değerlendirildiği çalışmada immünhistokimyasal olarak MMR protein ekspresyon kaybı gösteren 32 olgunun 9'unun 50 yaş altında, 23'ünün 50 yaş ve üzerinde olduğu; 17'sinin erkek ve 14'ünün kadın olduğu belirtilmiştir (Sibel Erdamar 2007). Bizim alışmamızda ise MSI gösteren KRK olgularının yaş ortalaması 70,65 iken, MSS olarak saptanan olguların yaş ortalaması 73,30'dur ve istatistiksel olarak bu bulgular anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). MSI gösteren KRK olgularının 13' (%56,5) erkek, 10'u (43,5) kadındır. Literatürde cinsiyet ile MSI varlığı arasındaki ilişki konusunda farklı bilgiler bulunmakla birlikte genelde kadınlarda MSI görülmesinin daha sık bir veri olduğu belirtilmektedir. Bazı çalışmalarda ise MSI gösteren olguların cinsiyet farkı göstermediği üzerinde durulmaktadır. Erdamar ve ark. yaptığı çalışmaya benzer şekilde çalışmamızda da MSI gösteren olguların erkeklerde hafif yüksek oranda olduğunu ve kadın predominansının olmadığını saptadık.

Tümör boyutu ile MSI arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmalardan birisi Yoon ve ark. immünhistokimyasal olarak MMR protein ekspresyon kaybı gösteren 207 sporadik KRK olgusunu değerlendirdiği çalışmalarıdır. Bu çalışmada 84 olguya ait tümör boyutunun 6 cm'den küçük olduğu, 123 olguya ait tümör boyutunun 6 cm ve üstünde olduğu saptanmış ve bu bulguların istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği belirtilmiştir (Yong Sik Yoon 2011). Benzer şekilde tümör boyutu ile MSI arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptanan başka bir çalışmada immünhistokimyasal MMR protein ekspresyon kaybı gösteren 36 sporadik KRK olgusunda MMR protein ekspresyon kaybı bulunduran tümörlerin ortalama boyutunun 6,3 cm ($\pm 2,3$) olduğu, MMR protein ekspresyon kaybı olmayan olguların tümörlerinin ortalama boyutunun 5,2 cm ($\pm 2,1$) olduğu belirtilmiştir. Bu bulguların

istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği saptanmıştır (Ji Won Park 2010). Bu bulguların aksine ülkemizde yapılan çalışmada immünohistokimyasal olarak MMR protein ekspresyon kaybı gösteren 32 sporadik KKK olgusunun 14'ünde tümör boyutunun 5 cm'den küçük olduğu, 18 olgusunun tümör boyutunun 5 cm'den büyük olduğu belirtilmiştir. Bu bulguların istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği saptanmıştır (Sibel Erdamar 2007).

Bizim çalışmamızda ise birçok çalışmadakine benzer şekilde MMR protein ekspresyon kaybı gösteren 23 olguya ait tümör boyutlarının 2 cm-11 cm arasında değiştiği ve ortalama 6,43 cm olduğunu saptadık. MMR protein ekspresyon kaybı göstermeyen olguların tümör boyutlarının 2 cm-17 cm arasında değiştiği ve ortalama 5,58 cm olduğunu saptadık ve bu bulguların istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiğini belirledik ($p<0,05$). Literatürde MSI gösteren tümörlerin daha büyük boyutlara ulaştığı bildirilmektedir (Matthias Kloor 2014). MSI gösteren tümörlerin daha büyük boyutta olmasının bir nedeni daha sık sağ kolon yerleşimli olması ve sağ kolon yerleşimli tümörlerin büyük boyutlara ulaştığında semptom vermesi olarak düşünülmektedir.

MSI KKK'li olguların tümör diferansiyasyonu araştıran çalışmalardan birisi olan Yeop Oh ve ark. yaptığı çalışmada moleküler olarak MSI-H saptanan evre III sporadik kolon kanserli 16 olgusunun 2'sinin (%12,5) iyi diferansiye, 10'unun (%62,5) orta derecede diferansiye, 4'ünün (%25) az diferansiye adenokarsinom özelliğinde olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada MSI-H gösteren tümörlerin daha çok orta ve az diferansiye adenokarsinom olduğu belirtilmiştir (Seung Yeop Oh 2013). Bu çalışmalardan bir diğeri olan Yoon ve ark. yaptığı çalışmada MMR protein ekspresyon kaybı gösteren KKK olgularının 141'inin iyi ve orta diferansiye adenokarsinom, 66'sının az diferansiye-müsinöz adenokarsinom özelliğinde olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirtilmiştir. (Yong Sik Yoon 2011). Ancak Park ve ark. yaptığı çalışmada ise MMR protein ekspresyon kaybı gösteren 36 olgusunun 29'unun (%80,6) iyi ve orta derecede diferansiye adenokarsinom olduğu, 7'sinin (%19,4) az diferansiye adenokarsinom olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada MMR protein ekspresyon kaybı gösteren olguların daha çok iyi ve orta derecede diferansiyasyon gösterdiği, MMR protein ekspresyon durumunun diferansiyasyon ile

ilişkili olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca bu olguların 32'sinin non-müsinöz olduğu, 4'ünün müsinöz tipte olduğu saptanmıştır (Ji Won Park 2010).

Erdamar ve ark. yaptığı çalışmada MMR protein ekspresyon kaybı gösteren 32 KRK olgusunun 5'inin grade 1, 25'inin grade 2, 2'sinin grade 3 adenokarsinom özelliğinde olduğu belirtilmiştir. Literatürde belirtildiği gibi MMR ekspresyon kaybı gösteren olguların az diferansiye adenokarsinom değil orta derecede diferansiyasyon gösteren adenokarsinom özelliğinde olduğu saptanmıştır. Ayrıca olguların 29'unun adenokarsinom, 2'sinin müsinöz adenokarsinom ve 1'inin adenokarsinom ve nöroendokrin karsinom özelliğinde olduğu saptanmıştır (Sibel Erdamar 2007).

MSI gösteren tümörlerin karakteristik olan ancak özgün olmayan morfolojik bulgular gösterdiği belirtilmektedir. Bu morfolojik bulguların sıklıkla müsinöz diferansiyasyon, "Crohn-benzeri" lenfositik infiltrasyon, peritümöral lenfositik infiltrasyon, sıklıkla az diferansiye özellikte olduğu belirtilmektedir (J. Perea 2011). Bizim çalışmamızda MMR protein ekspresyon kaybı gösteren 23 olgunun 6'sı (%26,1) grade 2, 17'si (%73,9) grade 3 özelliğinde adenokarsinom özelliğindedir. MMR protein ekspresyon kaybı göstermeyen olgularla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermese de ekspresyon kaybı gösteren olguların daha fazla oranda grade 3 özelliğinde olduğunu saptadık. Bu bulgular literatür ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca 23 olgunun 14'ü (%60,9) konvansiyonel adenokarsinom, 9'u (%39,1) müsinöz adenokarsinom tanılıdır. MSI gösteren tümörlerin müsinöz özellikte olduğu vurgulanmakla birlikte yapılan bazı araştırmalarda ve bizim araştırmamızda MSI özellik gösteren tümörlerin daha fazla oranda konvansiyonel adenokarsinom özelliğinde olduğunu saptadık.

MSI ile ilişkisi araştırılan diğer parametreler arasında tümörün invazyon derinliği, lenf nodu metastazı ve uzak metastaz yer almaktadır. Yeop Oh ve ark. yaptığı çalışmada moleküler olarak MSI-H saptanan evre III sporadik kolon kanserli 16 olgunun TNM'ye göre değerlendirilmesinde 16 olgunun hepsinin (%100) T3-T4 özelliğinde olduğu; 6'sının (%37,5) N1, 10'unun (%62,5) N2 özelliğinde olduğu belirtilmiştir (Seung Yeop Oh 2013). Bu parametrelerin araştırıldığı Park ve ark. yaptığı çalışmada ise MMR protein ekspresyon kaybı gösteren 36 olgunun TNM'ye göre değerlendirilmesinde; 1 olgu (%2,8) T1, 1 olgu (%2,8) T2, 22 olgu (%61,1) T3,

12 olgu (%33,3) T4 özelliğinde olduğu; 23 olgu (%63,9) N0, 10 olgu (%27,8) N1, 3 olgu (%8,3) N2 özelliğinde olduğu; 36 olgunun hiçbirisinin (%100) uzak metastaz göstermediği (M0) saptanmıştır (Ji Won Park 2010). Yapılan istatistiksel değerlendirmede MMR protein ekspresyon kaybı ile lenf nodu metastazı ve uzak metastaz arasındaki farklılığın anlamlı olduğu saptanmış (p değeri 0,007, p değeri 0,002), T ile MMR protein ekspresyon kaybı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p değeri 0,377) (Ji Won Park 2010). Bu bulgulardan farklı olarak Yoon ve ark. yaptığı çalışmada immünohistokimyasal olarak MMR protein ekspresyon kaybı gösteren 207 sporadik KKK olgusunun TNM açısından değerlendirilmesinde; 6 olgunun T1/2, 201 olgunun T3/4 özelliğinde olduğu; 142 olgunun N0, 65 olgunun N1/2 özelliğinde olduğu; 204 olgunun uzak metastaz göstermediği (M0), 3 olgunun uzak metastaz gösterdiği (M1) saptanmıştır. Bu bulgular istatistiksel olarak değerlendirildiğinde MMR protein ekspresyon kaybı ile tümör invazyon derinliği (T) ve lenf nodu metastazı (N) arasında anlamlı farklılık gösterdiği saptanmış, uzak metastaz ile anlamlı fark bulunmamıştır (Yong Sik Yoon 2011).

Erdamar ve ark. yaptığı çalışmada MMR protein ekspresyon kaybı gösteren 32 KKK olgusunun 1'i submukozaya infiltrate, 5'inin muskularis mukozaya infiltrate, 23'ünün subserozaya infiltrate, 3'ünün serozaya infiltrate olduğu saptanmış ve bu bulguların istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca 24 olgunun lenf nodu metastazı göstermediği, 8 olgunun lenf nodu metastazı gösterdiği belirtilmiştir (Sibel Erdamar 2007).

Bizim çalışmamızda MMR protein ekspresyon kaybı gösteren 23 olgunun 3'ü (13) T2, 18'i (%78,3) T3, 2'si (%8,7) T4 özelliğindedir. Literatürdeki bulgulara benzer şekilde ekspresyon kaybı gösteren olguların T3 veya T4 özelliğinde olduğunu saptadık. MMR ekspresyon kaybı gösteren 23 olgunun 15'inde (%65,2) lenf nodu metastazı saptanmamış, 8'inde (%34,8) lenf nodu metastazı saptanmıştır. Bu olguların 2010 WHO sınıflamasındaki TNM'ye göre dağılımı 15 olgu (%65,2) N0, 4 olgu (%17,4) N1a, 1 olgu (%4,3) N1b, 1 olgu (%4,3) N2a, 2 olgu (%8,7) N2b özelliğindedir. Literatürdeki bulgulara benzer şekilde MMR protein ekspresyon kaybı gösteren olguların daha az lenf nodu metastazı gösterdiğini saptadık. Olgularımızın büyük çoğunluğunda ya hiç lenf nodu metastazı yok ya da en fazla 1

adet lenf nodunda metastaz bulunmaktadır. Bu bulgular literatür ile benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda MMR protein ekspresyon kaybı gösteren 23 olgunun hiçbirisinde tanı anında uzak metastaz saptanmamıştır. Literatürde MSI tümörlerin uzak metastaz oranlarının düşük olduğu belirtilmektedir ve bizim bulgularımızın da literatür ile benzer olduğunu saptadık.

KRK olgularının MSI durumunun saptanması klinik olarak önem taşımaktadır. Bunlardan birisi MSI gösteren tümörlerin 5-florourasil tedavisine daha az sensitif olmasıdır. MMR gen defekti bulunduran hücrelerin bulundurmayanlara göre bu tedaviye daha az sensitif olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (Carethers JM 1999, Mark Meyers 2001). Yapılan olgu kontrollü çalışmalarda MSI-H gösteren tümörlü olguların 5-FU adjuvant kemoterapiden yarar görmediği belirtilmiştir (Christine M. Ribic 2003, Carethers JM 2004, Rodrigo Jover 2009). Yapılan bir çalışmada MMR protein ekspresyon kaybı gösteren KRK olgularının göstermeyenlere oranla Bevacizumab tedavisinden yarar gördüğü ve bunun sağkalımı etkilediği belirtilmiştir (Kay Pogue-Geile 2013).

KRK olgularındaki MSI saptanmasının diğer bir önemi hastalığın prognozunu belirleyen faktörlerden birisi olmasıdır. Yüksek gradeli tümörler olmasına rağmen MSS tümörlere göre daha iyi prognoza sahip olduğu belirtilmektedir (Chandrajit P. Raut 2004, Paul Lochhead 2013). MSI tümörlerin sağkalımının MSS olan tümörlere göre daha uzun olduğu ve bunun da antitümöral immün cevap oluşması nedeniyle olabileceği belirtilmektedir (Matthias Kloor 2014). Bizim çalışmamızda ve bazı çalışmalarda MSI tümörlerin daha az bölgesel lenf nodu metastazı gösterdiği saptanmıştır (Robert Gryfe 2000).

Yapılan çalışmalarda MSI gösteren sporadik KRK olgularının iyi klinik gidiş gösterdiği belirtilmekle birlikte Lochhead ve ark. yaptığı 1253 kolorektal tümörü değerlendirdikleri çalışmalarında BRAF mutasyonu ve MSI gösteren tümörlerin, BRAF mutasyonu göstermeyen MSI gösteren tümörlere oranla sağkalımının daha kötü olduğu saptanmıştır (Paul Lochhead 2013). Bu nedenle MSI gösteren tümörlerde BRAF mutasyonu varlığı değerlendirilmesinin gerekli olduğu ortaya çıkmaktadır.

MSI gösteren sporadik KRK olgularının moleküler olarak altta yatan mekanizması sıklıkla MLH1 hipermetilasyonu ve BRAF mutasyonudur. MLH1 metilasyonu genin promoter bölgesinde yer alan “CpG” adalarının metilasyonu (CIMP) sonucunda gende sessizleşme ile meydana gelebilir. Bu olguların bir kısmında BRAF mutasyonu gelişmektedir. Lynch Sendromunda çok nadir BRAF mutasyonu geliştiği bildirilmekle birlikte MSI gösteren KRK olgularının Lynch sendromlu veya sporadik olup olmadığının ayrımı konusunda BRAF mutasyonu önem taşımaktadır (Matthias Kloor 2014).

MSI gösteren KRK’lerde uzak organ metastazının olmayışının nedeninin Beta-2-mikroglobulin geni mutasyonu birikimi olduğu savunulmaktadır (Matthias Kloor 2007). Altta yatan mekanizma tam olarak açıklanamasa da lokal antitümöral immün cevabın Beta-2-mikroglobulin “wild-tip” hücre klonlarını ortadan kaldırması ve metastaz yeteneği düşük olan klonların gelişimi ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir (Matthias Kloor 2014).

Yapılan bir çalışmaya göre; sadece PMS2 protein ekspresyon kaybı gösteren tümörlerin oranı yaklaşık %1,5 bulunmuştur. Bu olguların incelenmesinde 5. veya 6. dekatta tanı aldığı, erkekleri daha sık etkilediği bildirilmektedir. Ayrıca bu olgularda PMS2 ekspresyon kaybı gösteren kolon dışı tümörlerin de gelişebileceği vurgulanmaktadır (Kaspar Truninger 2005). Bizim çalışmamızda da 63 yaşında, erkek olguda, çekum yerleşimli, müsinöz adenokarsinom tanılı olguda diğer markerlarda ekspresyon kaybı izlenmezken, PMS2’de ekspresyon kaybı saptadık. Ancak olgunun bilgisayar kayıt sisteminde kolon dışı kanser oluşumu ile ilgili bilgi bulunmamaktadır.

İmmünohistokimyasal incelemede PMS2 antikorunun boyanması doku fiksasyon süresi, olgulara ait blokların geçmiş yıllara ait olması gibi faktörlere bağlı olarak değerlendirilmesinde sorunlar yaşandığı belirtilmiştir (S. Ozkara 2013). Bizim olgularımızın 5’inde PMS2 ile optimal boyanma elde edilememiştir. Boyanma elde edilemeyen bu olguların 2006-2010 yılları arasında değişen dönemlerde tanı aldığını belirledik. Bu olguların fiksasyonlarında veya blokların geçmiş yıllara ait olması nedeniyle sorun yaşanmış olabileceğini düşündük.

Yapılan bir başka çalışmada preoperatif kemoterapi veya radyoterapi alan olgularda MLH1, MSH2 ve PMS2 boyanmalarının etkilenmediği, ancak MSH6 boyanmasının kaybolduğu saptanmıştır (Fei Bao 2010). Tedavi alan yaklaşık %20 olguda MSH6 kaybı olabileceği ve değerlendirme yaparken olgunun tedavi almadan önceki tümöründen değerlendirme yapılması gerektiği vurgulanmaktadır (Fei Bao 2010). Olgu seçiminde preoperatif tedavi almayan olguların çalışmamıza dahil edilmesi nedeniyle olgularımızın hiçbirisinde sadece MSH6 kaybı bulunmamaktadır.

Bae ve ark. yaptığı 46 senkron kolorektal kanserli (98 tümör) ve 105 soliter kolorektal kanserli olgunun değerlendirildiği çalışmada senkron KRK'li olgularda MSI saptanma oranının soliter KRK'li olgulara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca senkron tümörü olan olguların tümörleri MSI açısından birbiri ile uyumsuz ise klinik olarak kötü gidişli olduğu; eğer MSI açısından uyumlu ise klinik olarak iyi gidişli olduğu vurgulanmaktadır (Jeong M. Bae 2012)

Polip grubundaki olgularımızı değerlendirdiğimizde ise toplam 118 polip (60 adenomatöz polip, 58 “serrated” polip) bulunmaktadır. Adenomatöz poliplerin 20’si (%16,9) tübüler adenom, 20’si (%16,9) tübülovillöz adenom, 20’si (%16,9) villöz adenom; “serated” poliplerin 31’i (%26,3) hiperplastik polip, 23’ü (%19,5) sesil “serrated” adenom/polip, 4’ü (%3,4) “traditional serrated” adenomdur. Olguların tanıya göre seçilerek çalışmaya alınmış olması nedeniyle görülme oranları hakkında sağlıklı değerlendirme yapamadık. Ancak taramalar sırasında SSA/P ve TSA’ların diğer poliplere göre daha az oranda görüldüğünü saptadık.

Genel olarak poliplerin 2’si (%1,7) çekum, 31’i (%26,3) çıkan kolon, 8’i (%6,8) transvers kolon, 5’i (%4,2) inen kolon, 31’i (%26,3) sigmoid kolon, 34’ü (%28,8) rektum yerleşimlidir ve 7 olgunun (%5,9) lokalizasyonu belirtilmemiştir. Adenomatöz poliplerin 1’i (%1,6) çekum, 2’si (%3,3) çıkan kolon, 6’sı (%10) transvers kolon, 2’si (%3,3) inen kolon, 19’u (%31,6) sigmoid kolon, 23’ü (%38,3) rektum yerleşimlidir ve 7’sinin (%11,9) lokalizasyonu bilinmemektedir. “Serrated” poliplerin 1’i (%1,7) çekum, 29’u (%50) çıkan kolon, 2’si (%3,4) transvers kolon, 3’ü (%5,1) inen kolon, 12’si (%20,6) sigmoid kolon, 11’i (%19,2) rektum yerleşimlidir. Adenomatöz polipler kolonun her yerinde gelişebileceği gibi daha sıklıkla sol kolonda gelişirler. Bizim olgularımızda da adenomatöz poliplerin daha

fazla oranda sol kolon yerleşimli olduğunu saptadık. “Serrated” poliplerden HP’lerin sıklıkla distal kolon ve rektum yerleşimli oldukları bildirilmiştir (A Ensari 2010). SSA/P’lerin ise genellikle proksimal kolon yerleşimli oldukları (Mark Bettington 2013), TSA’ların ise daha çok distal kolon ve rektum yerleşimli olduğu bildirilmektedir (Mark Bettington 2013).

Bizim çalışmamızda HP’lerin biraz fazla oranda sağ kolon yerleşimli olduğu saptamamızda olgularımız arasında bulunan “serrated” polipozis tanılı olguya ait poliplerin sağ kolon yerleşimli olmasının büyük bir etkisinin olduğu düşünülmüştür. TSA’ların 2’si rektum, 1’i sigmoid kolon, 1’inen kolon yerleşimlidir ve bu dağılım literatür bulguları ile benzerlik göstermektedir (Mark Bettington 2013)

Polip grubundaki olguların 60’ı (%64,5) erkek, 33’ü (%35,5) kadındır. Yaş aralığı 32-87 yaş arasındadır ve ortalama yaş 62’dir. Poliplerin boyutu 1 mm-32 mm arasında değişmektedir ve ortalama boyut 11,69 mm’dir. Toplam 118 polibin 18’inde (%15,3) displazi bulunmaktadır. 18 polibin 6’sı TA (%33,3), 5’i (%27,8) TVA, 7’si (%38,9) VA özelliğindedir. Displazi ile boyut arasında ilişki olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Displazinin yaş ve lokalizasyon ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Adenomatöz poliplerde malignite riskinin polibin çapı, villöz komponent varlığı ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Polibin çapı 1 cm’den büyük ise ve içerdiği villöz komponent fazla ve displazi derecesi yüksek ise kanser gelişme riski artmıştır (Robert D. Odze 2009). Bizim çalışmamızda da TVA ve VA’nın displazi açısından daha fazla orana sahip olduğu ve polibin çapı ile displazi derecesinin anlamlı farklılık gösterdiğini saptadık.

“Serrated” polip grubundaki 58 polibin 22’si “serrated” polipozis olarak değerlendirilen olguya aittir. Bu 22 polibin 10’u SSA/P, 12’si HP’dir. Bu polipler sağ kolon yerleşimlidir. Boyutları 2-5 mm arasında değişmektedir. “Serrated” polipozis tanısı verilirken belirli kriterlerin varlığı önemlidir (Carla Guarinos 2012). Bunlar:

-Proksimalden sigmoid kolon kadar, ikisinin boyutu 10 mm olan, en az 5 “serrated” polibine sahip olması.

-Birinci derece akrabasında “serrated” polipozis bulunduran ve proksimalden sigmoid kolona kadar herhangi bir sayıda “serrated” polip bulundurması.

-Kolon boyunca dağılmış, herhangi bir boyutta 20'den fazla "serrated" polip bulundurmasıdır.

"Serrated" polipozis olgularının tanı yaşı ortalama 55'tir ve cinsiyet farkı göstermemektedir (Carla Guarinos 2012). 50-60 yaş arasındaki "serrated" polipozis olgularının KRK gelişimi açısından artmış riske sahip olduğu belirtilmektedir. "Serrated" polipozis tanısı alan olguların yaklaşık %10-50 oranında ailesinde KRK öyküsü olduğu saptanmıştır (Carla Guarinos 2012). Bizim çalışmamıza dahil ettiğimiz "serrated" polipozis olgusunun 54 yaşında erkek olduğu saptanmıştır. Bu olguda adenokarsinoma nedeniyle yapılan sağ hemikolektomi materyalinde büyüğü 2 cm uzun çaplı, 22 kadar polip saptanmıştır.

Pino ve ark. Lynch Sendromu ilişkili kolorektal adenomlarında DNA MMR genlerini araştırdıkları çalışmalarında "germline" mutasyon bulunduran 15 olguya ait 44 polip incelenmiştir (Maria Simona Pino 2009). 44 adenomun 31'inin (%70) proksimal kolon, 13'ünün (%30) distal kolon yerleşimli olduğu; 39'unun (%89) TA, 2'sinin (%4) VA, 3'ünün (%7) mikst adenomatöz/hiperplastik polip olduğu belirtilmiştir. İmmünohistokimyasal olarak MMR protein ekspresyon kaybı (adenomda nükleer boyanmanın tamamen kaybı) 44 olgunun 31'inde (%70) saptandığı belirtilmiştir. Bunların 24'ünün MLH1 mutasyonu bulunduran, 7'sinin MSH2 mutasyonu bulunduran olgulara ait olduğu saptanmıştır. MSH6 mutasyonu bulunduran olgulara ait 3 adenomda MMR protein ekspresyon kaybı saptanmamıştır. Genel olarak değerlendirildiğinde; MLH1 mutasyonu bulunduran olgulara ait 30 adenomun 24'ünde (%80) MLH1 ekspresyon kaybı, MSH2 mutasyonu bulunduran olgulara ait 11 adenomun 7'sinde (%64) MSH2 ekspresyon kaybı saptanmıştır. MLH1 ekspresyon kaybı gösteren poliplerin ortalama çapı 7,6 mm, MSH2 ekspresyon kaybı gösterenlerin ise 8,6 mm'dir. MLH1 ve MSH2 ekspresyon kaybı gösteren adenomların boyutları arttıkça ve displazi derecesi arttıkça ekspresyon kaybının istatistiksel olarak arttığı saptanmıştır. Ayrıca moleküler olarak MSI durumları 44 adenomdan 40'inde değerlendirilebilmiştir. Bunlardan 21'inde MSI-H saptanmış ve 14'ünün MLH1, 7'sinin MSH2 mutasyon taşıyıcısı olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada Lynch Sendromunu araştırılmasında moleküler olarak MSI durumunun belirlenmesi ve immünohistokimyasal MMR protein ekspresyon kaybının sensitivitesinin %73 olduğu belirtilmiştir. Bu sonuçların iyi olduğu ancak

mükemmel olmadığı ve Lynch Sendromunun araştırılmasında eğer tümör gelişmemişse olguya ait adenomlarda MSI veya MMR protein ekspresyon kaybının olmaması Lynch Sendromunu ekarte ettirmeyeceği sonucuna ulaşılmıştır (Maria Simona Pino 2009).

Yurgelun ve ark. Lynch sendromu ilişkili kolorektal poliplerde immünhistokimyasal olarak MMR protein ekspresyonlarını ve moleküler olarak MSI durumlarını araştırdıkları çalışmalarında DNA MMR genlerinde “germline” mutasyonu olduğu bilinen 34 olguya ait 62 kolorektal polip (37 adenomatöz polip, 23 HP, 2 SSA) değerlendirilmiştir. İmmünhistokimyasal olarak MMR protein kaybı adenomatöz poliplerin %50’sinde saptanmış, hiperplastik polip ve SSA’da ekspresyon kaybı saptanmamıştır. Adenomatöz poliplerin %41’inde, HP’lerin %4’ünde, SSA’ların %50’sinde moleküler olarak MSI-H saptanmıştır. Ayrıca adenomatöz poliplerde 8 mm’den daha büyük çapa sahip olanların istatistiksel olarak farklılık gösterecek şekilde MSI ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Matthew B. Yurgelun 2012).

Molaei ve ark. sporadik kolorektal polip ve MMR proteinlerini araştırdıkları çalışmalarında 400 olgu değerlendirilmiştir. Bu olguların yaş ortalamasının 60,17 olduğu (15-89 yaş); 237’sinin (%59,2) erkek, 163’ünün (%40,8) kadın olduğu; 136’sının (%34,11) sağ kolon, 201’inin (%50,4) sol kolon, 62’sinin (%15,5) rektum yerleşimli olduğu saptanmıştır. 240 olgunun TA, 116 olgunun TVA, 31 olgunun VA, 15 olgunun “serrated” adenom olduğu belirtilmiştir. 76 olguda yüksek gradeli displazi, 324 olguda düşük gradeli displazi olduğu saptanmıştır. İmmünhistokimyasal olarak bu poliplerde MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 araştırılmıştır. 27 olguda (%6,8) MLH1, 18 olguda (%4,5) MSH2, 12 olguda (%3) MSH6, 19 olguda (%4,8) PMS2 ekspresyon kaybı saptanmıştır. Ayrıca PMS2 ekspresyon kaybı gösteren bütün olgularda MLH1 ekspresyon kaybı; MSH6 ekspresyon kaybı gösteren bütün olgularda MSH2 ekspresyon kaybının olduğu belirtilmiştir. Adenomatöz polip ve “serrated” poliplerde MLH1 ve PMS2 ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği ve “serrated” adenomlarda ekspresyon kaybının daha fazla olduğu saptanmıştır (Mahsa Molaei 2011).

Balbinotti ve ark. 138 sporadik kolorektal polip tanısı almış olguları değerlendirdiği çalışmalarında 77 olgunun (%55,8) erkek olduğu ve ortalama yaşın 60,2 (21-90 yaş) olduğu saptanmıştır. Poliplerin %81,4'ü TA, %15,9'u TVA, %0,9'u VA, %1,8'i "serrated" polip olduğu ve olguların büyük kısmının sigmoid kolonda yerleştiği belirtilmiştir. Adenomlarda immünohistokimyasal olarak MLH1 ve MSH2 ekspresyon kaybı %20 ve %15,5 oranında saptanmıştır. İmmünohistokimyasal ekspresyon kaybının yaş, cinsiyet, adenomun boyutu, lokalizasyonu, histolojisi, displazi derecesi ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir. "Serrated" poliplerde ise immünohistokimyasal olarak MLH1 ve MSH2 ekspresyon kaybı saptanmadığı bildirilmiştir (Raul Angelo Balbinotti 2007).

Hawkins ve ark. MSI gösteren sporadik kolorektal kanserli olgulara ait polipleri değerlendirdiği çalışmalarında 38 hiperplastik polip, 11 "serrated" adenoma, 82 konvansiyonel adenoma MLH1 ekspresyon kaybı açısından değerlendirilmiştir. 15 "serrated" polipte MLH1 ile fokal ekspresyon kaybı saptanmıştır. Bu 15 polibin 9'unun hiperplastik polip ve 6'sının "serrated" adenom olduğu ve hepsinin MSI gösteren KRK tanılı 10 olgudan alındığı belirtilmiştir. 82 konvansiyonel adenomun 77'sinde MLH1 ile ekspresyon kaybı bulunmamaktadır. Kalan 5 konvansiyonel adenomun MSI gösteren KRK tanısı bulunan ayrı 5 olguya ait olduğu ve bunlarda MLH1 ekspresyon kaybı bulunduğu saptanmıştır. Bu bulgular eşliğinde "serrated" poliplerin MSI gösteren sporadik KRK'lerin prekürsörü olabileceği, bunun nedenleri arasında da MSI gösteren sporadik KRK olgularında daha sık hiperplastik polip ve "serrated" adenomun oluşmuş olmasının ve poliplerde sıklıkla fokal MLH1 ekspresyon kaybının bunu desteklediği savunulmuştur (Nicholas John Hawkins 2001).

Bizim çalışmamızda değerlendirdiğimiz 118 polibin 60'ını adenomatöz polip, 58'ini "serrated" polipler oluşturmaktadır. Adenomatöz poliplerin hiçbirisinde bazı çalışmaların aksine immünohistokimyasal olarak MMR protein ekspresyon kaybı saptamadık. "Serrated" poliplerde ise HP'lerin hiçbirisinde immünohistokimyasal olarak ekspresyon kaybı izlenmezken, 12 polibin (1'i TSA, 11'i SSA/P) MLH1 ile fokal kayıp gösterdiğini saptadık. Fokal ekspresyon kaybı gösteren 12 polipten 8'i "serrated" polipozisli 54 yaşında, erkek olguya aittir. Bu olguya ait rezeksiyon materyalinde ayrıca çıkan kolonda yerleşim gösteren adenokarsinom bulunmaktadır.

Olguya ait kolonun diğer alanlarında bulunan SSA/P'lerinin immünohistokimyasal olarak özellikle MLH1 ile fokal kayıp gösterdiğini saptadık. Fokal ekspresyon kaybı gösteren kalan 4 polip ise 4 ayrı olguya aittir ve bunların 3'ü SSA/P, 1'i TSA özelliğindedir. Bu olguların klinik ve arşiv bilgileri incelendiğinde MLH1'de fokal ekspresyon kaybı gösteren SSA/P tanısı olan 2 olgunun kolonunda polipektomilerden daha sonra adenokarsinom gelişiminin olduğunu saptadık. Diğer 2 olgudan fokal ekspresyon kaybı gösteren SSA/P bulunduran olgunun 35 yaşında, erkek olduğunu ve takibinde herhangi bir tümör gelişiminin olmadığını saptadık. Son olgunun ise MLH1 ile fokal ekspresyon kaybı gösteren TSA bulundurduğu, 45 yaşında ve kadın olduğunu ve takibinde bilinen tümörünün olmadığını saptadık. MLH1 ile fokal ekspresyon kaybının tümör gelişimi gösteren "serrated" polipozisli olguya ait poliplerde izlenmesi, bununla birlikte benzer özellikte poliplere sahip diğer olguda daha sonra tümör gelişmesi bu "serrated" polipozis ve serrated neoplazi sekansının farklı moleküler yollar üzerinden gelişebildiğinin bir göstergesi olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca tümörü saptanmamış, poliplerinde fokal ekspresyon kaybı bulunduran olguların diğer kolon segmentlerinde polip veya tümör varlığı hakkında bilgi bulunmaması nedeniyle sağlıklı değerlendirme yapmak mümkün olmamakla birlikte bu poliplerin kolorektal karsinogeneizde rol oynayan genler açısından daha ayrıntılı olarak incelenmesinin mekanizmaların anlaşılmasında yardımcı olacağı düşünülmüştür.

CIMP pozitif, MSS ve MSI gösteren sporadik KRK olgularının öncül lezyonunun SSA/P olduğu kabul edilmektedir (Snover 2011). CIMP pozitif MSS ve CIMP pozitif MSI tümörler kolorektal kanserlerin yaklaşık %35'ini oluşturmaktadır (Snover 2011). Bu nedenle "serrated" lezyonların tanınmasının ve kolorektal karsinoma riskinin azaltılmasına yönelik tarama yöntemlerinin araştırılmasının önemi ortaya çıkmaktadır (Snover 2011). "Serrated" lezyonlar ile adenomatöz poliplerin kanser riski taramasındaki önemli farklardan birisi "serrated" lezyonlarda oluşan CIMP pozitif MSI moleküler değişikliklerin bu lezyonların karsinomaya doğru hızlı bir progresyon göstermesine neden olmasıdır. Adenomatöz poliplerde oluşan APC yolağı ile karşılaştırıldığında CIMP pozitif MSI gösteren "serrated" lezyonların daha hızlı progresyon gösterdiği saptanmıştır (Snover 2011).

“Serrated” polipozisli olguların değerlendirildiği Rosty ve ark. yaptığı çalışmada 38 “serrated” polipozisli olguya ait 45 KRK ve 1 TA, 3 TVA, 4 TSA, 5 SSA/P değerlendirilmiştir. Bu olguların KRK tanı yaşı ortalama 58,5 yaş olarak saptanmıştır. Çalışmadaki 38 olgunun 11’inin (%28,9) erkek, 27’sinin (%71,1) kadın olduğu saptanmıştır. Aile bilgisi elde edilebilen 27 olgunun 16’sında (%59,3) birinci veya ikinci derece akrabalarda KRK öyküsü bulunduğu belirtilmiştir. Bu olguların patolojik özellikleri değerlendirildiğinde; 45 tümörden 29’unun (%64) proksimal kolon, 16’sının distal kolon yerleşimli olduğu saptanmıştır. Tümörlerin büyük kısmının (%82,2) düşük histolojik gradeli olduğu belirtilmiştir. Bu tümörlerde moleküler yöntemlerle BRAF, KRAS ve immünhistokimyasal olarak MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 ekspresyon kaybı değerlendirilmiştir. BRAF mutasyonu değerlendirilebilen 39 KRK’nin 18’inde (%46,2) BRAF mutasyonu saptanmıştır. KRAS mutasyonu ise değerlendirilebilen 40 KRK’nin 2’sinde (%5) saptanmıştır. İmmünhistokimyasal olarak MLH1 ve PMS2 ekspresyon kaybı 45 tümör örneğinin 17’sinde (%37,8) saptanmıştır. BRAF mutasyonu gösteren tümörlerin göstermeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan MMR ekspresyon kaybı bulundurduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada değerlendirilen KRK’lerin büyük kısmını (%40) BRAF ve KRAS “wild-type”/MMR ekspresyon kaybı göstermeyen tümörlerin oluşturduğu, ikinci sırada BRAF mutasyonu gösteren ve MMR ekspresyon kaybı bulunduran tümörlerin (%34) yer aldığı saptanmıştır. Buna göre “serrated” polipozisli olgularda gelişen KRK’lerin sadece “serrated” neoplazi yolu ile gelişmediği, klasik adenoma yolağında izlenen değişik moleküler fenotiplerin de bu tümörlerde izlenebileceği saptanmıştır (Christophe Rosty 2013)

Literatürdeki bilgiler eşliğinde adenomatöz poliplerde MMR protein ekspresyon kaybının olmaması, Lynch sendromunu dışlamamakla birlikte, bizim olgu grubumuzun yaş ortalamasının yüksek olması ve karsinoma gelişiminde MSI’nin daha ileri aşamalarda oluşması ve daha az sıklıkta saptanması nedenine bağlı olabilir. Lynch Sendromlu olgulara ait adenomlarda literatürde MMR protein ekspresyon kaybının düşük oranlarda saptandığı bildirilmektedir. Adenomatöz poliplerde karsinogenezisin geç evresinde oluşan MMR gen defektinden sonra adenomatöz poliplerin malignleştiği öngörülmektedir.

Lynch Sendromu şüphesi bulunan, karsinom gelişmemiş olguların adenomatöz poliplerinde MMR gen defektinin saptanamayabileceği bildirilmektedir. Lynch Sendromu şüphesi bulunan olgulardan alınan adenomatöz poliplerin immünohistokimyasal MMR protein ekspresyonlarının değerlendirilmesinde eğer kayıp varsa bu genetik incelemeyi gerektirir ve immünohistokimyasal olarak kayıp saptanan marker mutasyon açısından yol göstericidir. Eğer immünohistokimyasal olarak kayıp saptanmamışsa bunun Lynch Sendromu tanısını ekarte ettirmediğini, hatta moleküler olarak bile mutasyonun saptanamadığını belirten çalışmalar vardır (Matthew B. Yurgelun 2012).

“Serrated” neoplazi yolağında öncelikle BRAF mutasyonunun gerçekleştiği hiperplastik polip ve sesil “serrated” adenom/polip olduğu daha sonra DNA hipermetilasyonu ile MLH1 gibi tamir genlerinin etkilenmesi ile MSI oluşmaktadır (Efsevia Vakiani 2009). Hiperplastik ve “serrated” poliplerde MMR gen defektlerinin oluşumu ile malignite potansiyeline sahip oldukları belirtilmektedir (Maria Simona Pino 2009). Normal kolon mukozasında BRAF mutasyonu ve CIMP oluşumu ile SSA/P gelişmektedir. MLH1 metilasyonu sonucunda MLH1 kaybı oluşmakta ve displazi gelişmektedir. Bu aşamadan sonra MSI gelişimi ile birlikte invaziv karsinom gelişimi hızlanmaktadır. Bu aşamadan sonra BRAF mutasyonu, CIMP ve MSI gösteren KKR oluşmaktadır. Bu tümörlerin iyi prognoz gösterdikleri ve 5-FU ve anti-EGFR tedavisine direnç gösterdikleri belirtilmektedir (Mark Bettington 2013).

Literatürde “serrated” poliplerde MMR protein ekspresyonu ile ilgili farklı görüşler de bulunmaktadır. “Serrated” poliplerde sıklıkla yüzeyel epitelde ve süperfisyal kriptlerde fokal MLH1 ve/veya MSH2 ekspresyon kaybı bulunduğu ve bunun MSI yansıtmadığı belirtilmektedir (Emina Torlakovic 2003, T Higuchi 2005). Çalışmamızda “serrated” polipozisi olan olguda fokal MMR protein kaybı olması ve hastanın eş zamanlı adenokarsinom tanısı bulunması olgunun poliplerinde izlenen fokal ekspresyon kaybının daha çok MSI lehinde değerlendirilmesi gerektiğini düşündük. Ayrıca olgunun tümörünün sağ kolon yerleşimli olması da bu yönde düşünmemizi desteklemiştir.

Sonuç olarak; immünohistokimyasal olarak ekspresyon kaybı gösteren sporadik KKK olgularının daha çok sağ kolon yerleşimli olduğunu, daha büyük boyutlara sahip olduğunu, daha az diferansiye özellikte olduğunu, daha az lenf nodu metastazı gösterdiğini, uzak metastaz göstermediğini saptadık. KKK’lerde MSI değerlendirilmesinin hastanın takibi, tedavi ve prognozu açısından önemli olabileceği sonucuna literatür bilgileri ile birlikte ulaştık.

Polip grubunda değerlendirdiğimiz adenomatöz poliplerin hiçbirisinde ekspresyon kaybı saptamadık. Literatürde Lynch Sendromu şüphesi bulunan ve tümör gelişmemiş olgularda saptanan poliplerin MSI açısından değerlendirilmesi konusunda çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda gösterilmiştir ki Lynch Sendromunda immünohistokimyasal MMR gen ilişkili protein ekspresyon kaybı olmayabileceği belirtilmektedir. Bu nedenle adenomatöz poliplerde MMR protein ekspresyon kaybının saptanmaması Lynch Sendromunu ekarte ettirmeyebileceği göz önünde bulundurulmalıdır (Matthew B. Yurgelun 2012).

“Serrated” polip grubunda ise hiperplastik poliplerde MMR protein ekspresyon kaybının olmaması ve SSA/P’lerde fokal ekspresyon kayıplarının bulunabilmesi “serrated” neoplazi yolağındaki MLH1 metilasyonunun SSA/P oluşumundan sonra geliştiği bilgisini desteklemektedir. Literatür bilgileri eşliğinde SSA/P’li bir olguda eğer fokal olarak MMR protein ekspresyon kaybı saptanmışsa bu olgunun kolonun diğer segmentlerinde tümör ve polip varlığı yönünden araştırılması ve uygun aralıklarla takip edilmesi gerekmektedir. “Serrated” polipozisli olguların klinik olarak bir kısmının asemptomatik olması nedeniyle fokal MMR protein ekspresyon kaybı gösteren “serrated” lezyonların kliniğe bildirilmesi ve polipozis sendromları açısından olgunun daha ayrıntılı bir şekilde araştırılması uygun olacaktır.

6. SONUÇLAR

- ✓ Çalışmamızda sporadik KRK'lerin %15'inin gelişiminden sorumlu olan mikrosatellit instabilitesinin immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
- ✓ Çalışmamızda kolorektal kanser ve olgu grubu oluşturulmuştur. KRK olguları 60 yaşından büyük, eşit sayılarda sağ kolon-sol kolon ve konvansiyonel ve müsinöz adenokarsinom olacak şekilde seçilmiştir.
- ✓ Toplam 92 KRK tanılı olguya ait tümör ve 118 polip çalışmaya dahil edilmiştir.
- ✓ KRK tanılı olguların 48'i (%52,2) erkek, 44'ü (%47,8) kadındır. Yaş aralığı 60-96 yaş arasında değişmektedir ve ortalama yaş 72'dir.
- ✓ KRK tanılı olguların tümör boyutları 2 cm-17 cm arasında değişmektedir ve ortalama 5,91 cm'dir. Olguların 1'i (%1,1) Grade 1, 35'i (%38) Grade 2, 56'sı (%60,9) Grade 3 özelliğindedir.
- ✓ Polip grubunda yer alan poliplerin 60'ı adenomatöz polip, 58'si "serrated" polip özelliğindedir. Poliplerin boyutu 1 mm-32 mm arasında değişmektedir ve ortalama boyut 11,69 mm'dir.
- ✓ Adenomatöz poliplerin 20'si (%16,9) tübüler adenom, 20'si (%16,9) tübülovillöz adenom, 20'si (%16,9) villöz adenom; "serated" poliplerin 31'i (%26,3) hiperplastik polip, 23'ü (%19,5) sesil "serrated" adenom/polip, 4'ü (%3,4) "traditional serrated" adenomdur.
- ✓ Polip grubundaki olguların 60'ı (%64,5) erkek, 33'ü (%35,5) kadındır. Yaş aralığı 32-87 yaş arasındadır ve ortalama yaş 62'dir.
- ✓ Poliplerin 18'inde (%15,3) displazi bulunmaktadır. 18 polibin 6'sı TA (%33,3), 5'i (%27,8) TVA, 7'si (%38,9) VA özelliğindedir.
- ✓ Polip grubunda displazi ile boyut arasında ilişki olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Displazinin yaş ve lokalizasyon ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).
- ✓ Olgu gruplarına ait materyallerden doku "array" bloğu elde edilmiştir.
- ✓ Elde edilen doku "array" bloklarından immünohistokimyasal olarak MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 çalışılmıştır.

- ✓ İmmünohistokimyasal olarak kullanılan dört markerın herhangi birinde tam kayıp olması (negatif) MSI lehine, dört marker ile ekspresyon kaybı olmaksızın pozitif boyanmanın olması MSS yönünde değerlendirilmiştir. Buna göre; 66 olgu (%71,7) MSS, 23 olgu (%25) MSI olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca 3 olguda (%3,3) MSH2 ve MSH6 pozitif olmasına rağmen PMS2 veya MLH1'in teknik nedenlerle boyanmaması nedeniyle MSI durumu belirlenememiştir.
- ✓ KRK olgu grubunda 92 olgunun 72'sinde (%78,3) MLH1 pozitif, 19'unda (%20,7) negatif ve 1 olguda (%1,1) MLH1 ile teknik olarak boyanma elde edilememiştir. MSH6; 89 olguda (%96,7) pozitif, 3 olguda (%3,3) negatiftir. MSH2; 89 olguda (%96,7) pozitif, 3 olguda (%3,3) negatiftir. PMS2; 68 olguda (%73,9) pozitif, 19 olguda (%20,7) negatif ve 5 olguda (%5,4) PMS2 ile teknik olarak boyanma elde edilememiştir.
- ✓ KRK olgu grubunda MSI olarak değerlendirdiğimiz 23 olgunun 18'inde (%78,26) MLH1-PMS2 birlikte negatif, 3'ünde (%13,04) MSH2-MSH6 birlikte negatif, 1'inde (%4,35) sadece PMS2 negatif, 1'inde (%4,35) MLH1 negatif ancak PMS2'de teknik nedenlerle boyanma elde edilememiştir.
- ✓ İmmünohistokimyasal olarak ekspresyon kaybı gösteren KRK olgularının tümörlerinin boyutu 2 cm ile 11 cm arasında değişmekte ve ortalama 6,43 cm'dir. MSS olarak saptanan olguların tümörlerinin boyutu 2 cm ile 17 cm arasında değişmekte ve ortalama 5,58 cm'dir. Bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve MSI gösteren tümörlü olguların tümör boyutu ortalamasının daha büyük olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).
- ✓ İmmünohistokimyasal olarak ekspresyon kaybı gösteren 23 KRK olgusunun 19'u (%82,6) sağ kolon yerleşimli, 4'ü (%17,4) sol kolon yerleşimlidir. Bu dağılım istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve MSI gösteren tümörlü olguların daha çok sağ kolon yerleşimli oldukları saptanmıştır ($p<0,05$).
- ✓ İmmünohistokimyasal olarak ekspresyon kaybı gösteren 23 KRK olgusunun 6'sı (%26,1) grade 2 özelliğinde iken, 17'si (%73,9) grade 3

özelliğinde adenokarsinomdur. MSI olarak değerlendirdiğimiz KRK olgularının büyük kısmı (%73,9) grade 3 özelliğindedir.

- ✓ İmmünohistokimyasal olarak ekspresyon kaybı gösteren KRK olgularının lenf nodu metastazı TNM'ye göre değerlendirildiğinde; 15 olgu (%65,2) N0, 4 olgu (%17,4) N1a, 1 olgu (%4,3) N1b, 1 olgu (%4,3) N2a, 2 olgu (%8,7) N2b özelliğindedir. Bu bulgular ile MSI olarak değerlendirdiğimiz olguların lenf nodu metastaz oranının düşük olduğu saptanmıştır.
- ✓ İmmünohistokimyasal olarak ekspresyon kaybı gösteren KRK olgularının hiçbirinde metastaz saptanmamıştır.
- ✓ Adenomatöz poliplerin tümünde MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 ile nükleer boyanma (pozitif) saptanmıştır.
- ✓ “Serrated” poliplerde MLH1 ile odaksal ekspresyon kaybı dikkati çekmiştir. Odaksal ekspresyon kaybının saptandığı 13 polibin 8'i “serrated” polipozisli olguya, 5'i farklı olgulara aittir; 13 polibin 1'i TSA, 12'si SSA özelliğindedir.
- ✓ Odaksal ekspresyon kaybı saptanan poliplerin alındığı olguların 3'ünde kolonda adenokarsinom gelişimi olduğu saptanmıştır.
- ✓ Çalışmamızda literatür bulguları ile benzer özellikte sporadik KRK olgularının %25'inde immünohistokimyasal olarak ekspresyon kaybı saptanmıştır. Bu tümörleri değerlendirdiğimizde genellikle sağ kolon yerleşimli, büyük boyutlu, grade 3 özellikte, daha az lenf nodu ve uzak metastaz gösteren tümörler olduğu sonucuna varılmıştır. Adenomatöz poliplerde immünohistokimyasal olarak ekspresyon kaybı saptanmamıştır. “Serrated” poliplerde fokal boyanma saptanan olguların bir kısmında kolon adenokarsinoma gelişiminin eşlik ettiği saptanmıştır.

ÖZET

Kolorektal Karsinoma Ve Öncü Lezyonlarında Mikrosatellit İnstabilitesinin İmmünohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi

Amaç: Kolorektal karsinomlar (KRK) tüm dünyada kanser ilişkili ölümlerin en önemli nedenleri arasındadır. KRK erkeklerde akciğer, prostat ve mide kanserinden sonra dördüncü; kadınlarda meme ve uterin serviks kanserinden sonra üçüncü sırada görülmektedir. Bu sıklık toplumlara göre değişiklik gösterebilmektedir. Multifaktöryel olarak oluşan KRK 50-75 yaş arasında artmış riske sahiptir. Kolorektal karsinogenezisin moleküler özelliklerinin tanımlanması, KRK olgularının prognozunu ve tedavisini etkileyecek durumların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Kolorektal karsinogenezisin 3 farklı ana moleküler yolundan birisi mikrosatellit instabilite (MSI) yolağıdır. Sporadik KRK olgularında MSI oranı yaklaşık %15-20'dir. MSI gösteren sporadik KRK olgularının prognozlarının daha iyi olduğu, standart tedavilere daha dirençli olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle hastaların takibi ve tedavisi açısından bu özelliklerin belirlenmesi zorunluluk haline gelmiştir. MSI gösteren sporadik KRK'lerin "serrated" poliplerin öncülük ettiği "serrated" neoplazi sekansından geliştiği belirtilmektedir. Bu nedenlerden dolayı bu tez çalışmasında sporadik KRK'lerde ve KRK'nin ana moleküler yolları ile ilişkilendirilmiş adenoma-karsinoma sekansı ve "serrated" neoplazi sekansını içeren öncü lezyonlarda immünohistokimyasal olarak MSI araştırılmasını amaçladık.

Materyal ve Metod: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında incelenmiş materyaller bilgisayar kayıt sisteminden taranmış; 60 yaş üstü, erkek ve kadın olguları içeren 92 KRK olgusu ve 60 adenomatöz polip (tübüler adenoma, tübülovillöz adenoma, villöz adenoma), 58 hiperplastik - "serrated" polip (hiperplastik polip, serrated adenoma/polip, "traditional serrated" adenoma) olgularından yeterli dokusu olanlar belirlenmiştir. Bu materyallerden alınan 4 mm uzun çaplı korlar doku "array" yöntemi kullanılarak tekrar bloklanmıştır. Bu bloklardan elde edilen kesitler üzerinde immünohistokimyasal olarak MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 çalışılmıştır.

Sonuçlar: İmmünohistokimyasal olarak kullanılan dört markerın herhangi birinde tam kayıp olması (negatif) MSI lehinde değerlendirilmiştir. Buna göre; 66 olgu (%71,7) MSS, 23 olgu (%25) MSI olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca 3 olguda (%3,3) MSH2 ve MSH6 pozitif olmasına rağmen PMS2 veya MLH1'in teknik olarak boyanmaması nedeniyle MSI durumu belirlenememiştir. 23 olgunun 18'inde (%78,26) MLH1-PMS2 birlikte negatif, 3'ünde (%13,04) MSH2-MSH6 birlikte negatif, 1'inde (%4,35) sadece PMS2 negatif, 1'inde (%4,35) MLH1 negatif ancak PMS2'de teknik nedenlerle boyanma elde edilememiştir. MSI gösteren tümörlü olguların tümör boyutu ortalamasının MSS tümörlere göre daha büyük olduğu saptanmıştır ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. MSI gösteren tümörlü olguların daha çok sağ kolon yerleşimli oldukları, büyük kısmının (%73,9) grade 3 özelliğinde olduğu, daha az lenf nodu ve uzak metastaz gösterdiği saptanmıştır. Adenomatöz polip grubunda tüm olgularda MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 ile nükleer boyanma (pozitif) saptanmıştır. "Serrated" poliplerde MLH1 ile odaksal ekspresyon kaybı dikkati çekmiştir. Odakal ekspresyon kaybının saptandığı 13 polibin 8'i aynı olguya, 5'i farklı olgulara aittir; 13 polibin 1'i TSA, 12'si SSA özelliğindedir.

Tartışma: Çalışmamızda saptadığımız bulguların büyük bir kısmının literatür ile benzer olduğunu saptadık. Sporadik KKK gelişiminin %15-20'sinden sorumlu olan MSI yolağının immünohistokimyasal verilerle saptanması, hem kolay uygulanabilir olması, hem de olgunun takibinde ve tedavisinde bundan sonra önemli yere sahip olacağından dolayı patoloji laboratuvarlarında rutin uygulamalar arasına alınması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Mikrosatellit instabilitesi, Kolorektal karsinom, Kolorektal karsinomun öncü lezyonları, Kolorektal karsinogenezis, DNA "mismatch" onarım genleri.

SUMMARY

Immunohistochemical Evaluation of Microsatellite Instability In Colorectal Carcinoma And Precursor Lesions of Colorectal Carcinoma

Aim: Colorectal carcinoma (CRC) is one of the major causes of cancer-related death, in all over the world. CRC ranks as the fourth most frequent carcinoma type in men after lung, prostate and stomach cancer; and third in women after breast and uterine cervix cancer. The frequency of CRC may vary in different parts of the world. CRC is multifactorial and 50-75 years of age have an increased risk. Colorectal carcinogenesis has different pathways. Microsatellite instability (MSI) is one of the main molecular pathways. MSI compromised approximately 15-20% of sporadic CRC. CRC showing MSI is known to be more resistant to standard treatments and have better prognosis. Therefore, determination of molecular features has become a necessity for the treatment of patients with follow-up. It is reported that CRC with MSI develops from serrated polyps that have been led to serrated neoplasia sequence. For these reasons, we aimed to investigate MSI with immunohistochemistry in CRC and polyps that have been related to serrated neoplasia sequence and adenoma-carcinoma sequence. Identification of the molecular features of colorectal carcinogenesis will affect the prognosis and treatment of patients with CRC.

Material and Methods: In this study, patients were screened from computer system of Ankara University of Medicine. 92 CRC cases over 60 years of age and 60 adenomas (tubular, tubulovillous, villous adenoma), 58 hyperplastic-serrated polyps (hyperplastic polyp, sessile serrated adenoma/polyp, traditional serrated adenomas) were included. After reevaluation of the archive slides 4-mm cores were taken from paraffin blocks and then they were embedded into tissue array blocks. Tissue macroarray blocks were prepared and sections were stained immunohistochemically with MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2 antibodies. Expression loss in any of the antibodies accepted as MSI.

Results: Sixty-six cases of CRC (71,7%) were MSS while 23 patients (25%) show MSI. In 3 cases (3,3%) status could not be determined due to the technical problems in staining of PMS2 or MLH1. Eighteen of 23 (78,26%) cases were negative with MLH1 and PMS2; 3 of 23 cases (13,04%) were negative with MSH2 and MSH6; 1 of 23 cases (4,35%) was negative with PMS2; 1 of 23 cases (4,35%) was negative with MLH1. CRC cases with MSI is found to be more larger in tumour size than MSS CRC cases. CRC cases showing MSI were found to be localized in right colon, majority of cases were grade 3 adenocarcinomas and show less lymph node and distant metastasis. All of the polyps in adenomatous polyp group were MSS. Focal MLH1 expression loss was found in serrated polyps. Focal expression loss was detected 13 polyps, 8 of 13 polyps were belong the same patient (“serrated” poliposis syndrome) and 5 of 13 polyps were belong the different patients and 1 of 13 polyps was TSA, 12 of 13 polyps were SSA.

Conclusions: Our results are similar with the literature. MSI was detected %25 of CRCs. Immunohistochemical evaluation of MSI should be used in routine pathological practice to lead the treatment and follow-up of the cases.

Key Words: Microsatellite instability, Colorectal carcinoma, Precursor Lesions of Colorectal Carcinoma, Colorectal carcinogenesis, DNA mismatch repair genes.

KAYNAKLAR

- A Ensari, F. T. B., G J A Offerhaus (2010). "The serrated polyp: getting it right!" J Clin Pathol **63**(8): 665-668.
- A. Leslie, F. A. C., N.R Pratt, R.J.C Steele (2002). "The colorectal adenoma-carcinoma sequence." British Journal of Surgery **89**: 845-860.
- Aaltonen L, J. L., Jarvinen H, Mecklin JP, Houlston R (2007). "Explaining the familial kolorectal cancer risk associated with mismatch repair (MMR)-deficient and MMR-stable tumors." Clin Cancer Res **13**: 356-361.
- Ahmed Bedeir, A. M. K. (2011). "Molecular Diagnostics of Colorectal Cancer." Arch Pathol Lab Med **135**: 578-587.
- Albert de la Chapelle, H. H. (2010). "Clinical Relevance of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer." J Clin Oncol **28**(20): 3380-3387.
- Ana González-García, C. A. P., Hugh F. Paterson, Georgia Mavria, Gordon Stamp, Christopher J. Marshall (2005). "RalGDS is required for tumor formation in a model of skin carcinogenesis." Cancer Cell **7**: 219-226.
- Andrew M. Bellizzi, W. L. F. (2009). "Colorectal Cancer Due to Deficiency in DNA Mismatch Repair Function." Adv Anat Pathol **16**: 405-417.
- Antonio Russo, V. B., Barry Iacopetta, David Kerr, Thierry Soussi, and Nicola Gebbia, for the TP53-CRC Collaborative Study Group (2005). "The TP53 Colorectal Cancer International Collaborative Study on the Prognostic and Predictive Significance of p53 Mutation: Influence of Tumor Site, Type of Mutation, and Adjuvant Treatment." J Clin Oncol **23**: 7518-7528.
- Arzu Ensari, B. B., Fatima Carneiro, Gülen Bülbül Doğusoy, Ann Driessen, Ayşe Dursun, Jean-François Flejou, Karel Geboes, Gert de Hertogh, Anne Jouret-Mourin, Cord Langner, Iris D. Nagtegaal, Johan Offerhaus, Janina Orlowska, Ari Ristimäki, Julian Sanz-Ortega, Berna Savaş, Maria Sotiropoulou,

- Vincenzo Villanacci, Nazmiye Kurşun, Fred Bosman (2012). "Serrated polyps of the colon: how reproducible is their classification?" Virchows Arch **461**: 495–504.
- Berrin Tunca, U. E., Monica Pedroni, Enrica Borsi, Carmela Di Gregorio, Omer Yerci, Gulsah Cecener, Abdullah Zorluoglu, Tuncay Yilmazlar, Maurizio Ponz de Leon (2010). "Analysis of mismatch repair gene mutations in Turkish HNPCC patients." Familial Cancer **9**: 365–376.
- Bird, R. (1987). "Observation and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings." Cancer Lett(37): 147-151.
- Boland CR, T. S., Hamilton SR, Sidransky D, Esleman JR, Burt RW (1998). "A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer." Cancer Res **58**: 5248-5257.
- C. Richard Boland, M. K., Dong K. Chang, John M. Carethers (2008). "The biochemical basis of microsatellite instability and abnormal immunohistochemistry and clinical behavior in Lynch Syndrome: from bench to bedside." Fam Cancer **7**(1): 41–52.
- Carethers JM, C. D., Fink D, Nebel S, Bresalier RS, Howell SB, Boland CR (1999). "Mismatch repair proficiency and in vitro response to 5-fluorouracil." Gastroenterology **117**(1): 123-131.
- Carethers JM, S. E., Behling CA, Nguyen L, Tajima A, Doctolero RT, Cabrera BL, Goel A, Arnold CA, Miyai K, Boland CR (2004). "Use of 5-fluorouracil and survival in patients with microsatellite-unstable colorectal cancer." Gastroenterology **126**(2): 394-401.

- Carla Guarinos, C. S.-F., María Rodríguez-Soler, Cristina Alenda, Artemio Payá, Rodrigo Jover (2012). "Serrated polyposis syndrome: Molecular, pathological and clinical aspects." World J Gastroenterol **18**(20): 2452-2461.
- Chandrajit P. Raut, T. M. P., Miguel A. Rodriguez-Bigas (2004). "Clinicopathologic features in colorectal cancer patients with microsatellite instability." Mutation Research **568**(2004): 275–282.
- Christine M. Ribic, D. J. S., Malcolm J. Moore, Stephen N. Thibodeau, Amy J. French, Richard M. Goldberg, Stanley R. Hamilton, Pierre Laurent-Puig, Robert Gryfe, Lois E. Shepherd, Dongsheng Tu, Mark Redston, Steven Gallinger (2003). "Tumor Microsatellite-Instability Status as a Predictor of Benefit from Fluorouracil-Based Adjuvant Chemotherapy for Colon Cancer." N Engl J Med **349**(3): 247–257.
- Christophe Beroud, a. T. S. (2003). "The UMD-p53 Database: New Mutations and Analysis Tools." HUMAN MUTATION **21**: 176-181.
- Christophe Rosty, M. D. W., Rhiannon J. Walters, Mark Clendenning, Sally-Ann Pearson, Mark A. Jenkins, Aung Ko Win, John L. Hopper, Kevin Sweet, Wendy L. Frankel, Melyssa Aronson, Steve Gallinger, Jack Goldblatt, Kathy Tucker, et al. (2013). "Multiplicity and Molecular Heterogeneity of Colorectal Carcinomas in Individuals With Serrated Polyposis." Am J Surg Pathol **37**: 434–442.
- Christopher D. South, M. Y., Edward Martin, Mark Arnold, Wendy Frankel and Heather Hampel (2009). "Immunohistochemistry staining for the mismatch repair proteins in the clinical care of patients with colorectal cancer." Genet Med **11**(11): 812–817.
- Chun-Chi Lin, Y.-I. L., TzuChen Lin, Wei-Shone Chen, Jeng-Kai Jiang, Shung-Haur Yang, Huann-Sheng Wang, Yuan -Tzu Lan, Wen-Yih Liang, Hui-Mei Hsu, Jen-Kou Lin, Shih-Ching Chang (2012). "Clinicopathologic features and prognostic analysis of MSI-high colon cancer." Int J Colorectal Dis **27**: 277-286.

- Clarens, D. C.-b. (2004). "Molecular Genetics of Colorectal Cancer." Rev Esp Enferm Dig **96**: 48-59.
- Douglas K. Rex, D. J. A., John A. Baron, Kenneth P. Batts, Carol A. Burke, Randall W. Burt, John R. Goldblum, José G. Guillem, Charles J. Kahi, Matthew F. Kalady, Michael J O'Brien, Robert D. Odze, Shuji Ogino, Susan Parry, Dale C. Snover, Emina Emilia Torlakovic, Paul E. Wise, Joanne Young, James Church (2012). "Serrated Lesions of the Colorectum: Review and Recommendations From an Expert Panel." Am J Gastroenterol **107**(9): 1315–1330.
- Efsevia Vakiani, D. B. S. (2011). "KRAS and BRAF: drug targets and predictive biomarkers." J Pathol **223**: 219–229.
- Efsevia Vakiani, R. K. Y. (2009). "Pathologic Features and Biologic Importance of Colorectal Serrated Polyps." Adv Anat Pathol **16**: 79–91.
- Emina Torlakovic, E. S., Dale C. Snover, Goran Torlakovic, Jahn M. Nesland (2003). "Morphologic Reappraisal of Serrated Colorectal Polyps." The American Journal of Surgical Pathology **27**(1): 65–81.
- Erika Tóth, O. S., Mónika Gallai, Simona Gurzu, I. Jung, Z. Szentirmay (2011). "Molecular pathways and pathomorphology of colorectal cancers." Rom J Morphol Embryol **52**(3): 767–773.
- Fearon ER, V. B. (1990). "A genetic model for colorectal tumorigenesis." Cell(61): 759-767.
- Fei Bao, N. C. P., Hanna Rennert, David L. Sherr, Rhonda K. Yantiss (2010). "Neoadjuvant Therapy Induces Loss of MSH6 Expression in Colorectal Carcinoma." Am J Surg Pathol **34**: 1798–1804.
- Ferlay J, B. F., Pisani P, Parkin M (2004). "Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide." IARC: Lyon.

- Florence Jourdan, n. S., Eva Comperat, Najat Mourra, Antoine Flahault, Sylviane Olschwang, Alex Duval, Richard Hamelin, Jean-François Flejou (2003). "Tissue microarray technology: validation in colorectal carcinoma and analysis of p53, MLH1, and MSH2 immunohistochemical expression." Virchows Arch **443**: 115-121.
- G. Dionigi, V. B., F. Villa, F. Rovera, L. Boni, M. Annoni, P. Castano, R. Dionigi (2007). "Differences between familial and sporadic forms of colorectal cancer with DNA microsatellite instability." Surgical Oncology **16**: S37–S42.
- George Pouligiannis, I. M. F., Mark J Arends (2010). "DNA mismatch repair deficiency in sporadic colorectal cancer and Lynch syndrome." Histopathology **56**: 167–179.
- Giovanni Lanza, R. G., Alessandra Santini, Iva Maestri, Laura Guerzoni, Luigi Cavazzini (2006). "Immunohistochemical Test for MLH1 and MSH2 Expression Predicts Clinical Outcome in Stage II and III Colorectal Cancer Patients." J Clin Oncol **24**(15): 2359-2367.
- Gurjeet Kaur, A. M., N. Raihan, M. Radzi, W. Khamizar, Lee Suk Kam (2011). "Mismatch repair genes expression defects & association with clinicopathological characteristics in colorectal carcinoma." Indian J Med Res **134**: 186-192.
- Helen Davies, G. R. B., Charles Cox et al (2002). "Mutations of the BRAF gene in human cancer." Nature **417**: 949-954.
- J Turner, V. K. (2010). "Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease." Philadelphia: Saunders Elsevier: 818-823.
- J. Perea, M. L., M. Hidalgo (2011). "Molecular basis of colorectal cancer: Towards an individualized management?" Rev Esp Enferm Dig **103**(1): 29-35.
- Jass, J. R. (2007). "Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features." Histopathology **50**: 113–130.

- Jass, J. R. (2007). "Gastrointestinal polyposis: clinical, pathological and molecular features." Gastroenterol Clin North Am **36**: 927-946.
- Jeong M. Bae, N.-Y. C., Tae-You Kim, Gyeong H. Kang (2012). "Clinicopathologic and Molecular Characteristics of Synchronous Colorectal Cancers: Heterogeneity of Clinical Outcome Depending on Microsatellite Instability Status of Individual Tumors." The ASCRS Dis Colon Rectum **55**: 181-190.
- Ji Won Park, H. J. C., Sohee Park, Byung Chang Kim, Dae Yong Kim, Ji-Yeon Baek, Sun Young Kim, Jae Hwan Oh, Hyo Seong Choi, Sung Chan Park, Seung-Yong Jeong (2010). "Absence of hMLH1 or hMSH2 Expression as a Stage-Dependent Prognostic Factor in Sporadic Colorectal Cancers." Ann Surg Oncol **17**: 2839–2846.
- Jianlin Xie, S. H. I. (2008). "Cancer in inflammatory bowel disease." World J Gastroenterol **3**(14): 378-389.
- John P. Lynch, T. C. H. (2002). "The genetic pathogenesis of colorectal cancer." Hematol Oncol Clin N Am **16**: 775-810.
- Juan C. Cendan, M., Kevin E. Behrns (2007). "Associated Neoplastic Disease in Inflammatory Bowel Disease." Surg Clin N Am **87**: 659–672.
- Kaspar Truninger, M. M., Judith Luz, Anna Russell, Ritva Haider, Jan–Olaf Gebbers, Fridolin Bannwart, Hueseyin Yurtsever, Joerg Neuweiler, Hans–Martin Riehle, Maria Sofia Cattaruzza, Karl Einimann, Primo Schär, Josef Jiricny, Giancarlo Marra (2005). "Immunohistochemical Analysis Reveals High Frequency of PMS2 Defects in Colorectal Cancer." Gastroenterology **128**: 1160–1171.
- Katarina Öhrling, D. E., Marja Hallström, Peter Ragnhammar (2010). "Mismatch repair protein expression is an independent prognostic factor in sporadic colorectal cancer." Acta Oncologica **49**: 797–804.
- Katherine B. Geiersbach, W. S. S. (2011). "Microsatellite Instability and Colorectal Cancer." Arch Pathol Lab Med **135**: 1269-1277.

- Kay Pogue-Geile, G. Y., Yusuke Taniyama, Noriko Tanaka, Patrick Gavin, Linda Colangelo, Nicole Blackmon, Corey Lipchik, Seong Rim Kim, Saima Sharif, Carmen Allegra, Nicholas Petrelli, Michael J. O'Connell, Norman Wolmark, Soonmyung Paik (2013). "Defective Mismatch Repair and Benefit from Bevacizumab for Colon Cancer: Findings from NSABP C-08." J Natl Cancer Inst **105**: 989–992.
- Konda A, D. M. (2008). "Surveillance of patients at increased risk of colon cancer: inflammatory bowel disease and other conditions." Gastroenterol Clin North Am **37**: 191-213.
- L Cawkwell, S. G., H Murgatroyd, F Sutherland, L Haine, M Longfellow, S O'Loughlin, D Cross, O Kronborg, C Fenger, N Mapstone, M Dixon, and P Quirke (1999). "Choice of management strategy for colorectal cancer based on a diagnostic immunohistochemical test for defective mismatch repair." Gut **45**: 409-415.
- Lodewijk A A Brosens, A. v. H., Linda M Hyland, Christine Iacobuzio-Donahue, Katharine, et al. (2007). "Risk of colorectal cancer in juvenile polyposis." Gut **56**: 965-967.
- M. Ponz de Leon, C. D. G. (2001). "Pathology of colorectal cancer." Digest Liver Dis **33**: 372-388.
- Mahsa Molaei, M. Y., Shohreh Almasi, Sepideh Shivarani, Seyed Reza Fatemi, Mohammad Reza Zali (2011). "Sporadic colorectal polyps and mismatch repair proteins." Indian Journal of Pathology and Microbiology **54**(4): 725-729.
- Maria S. Pino, D. C. C. (2010). "The Chromosomal Instability Pathway in Colon Cancer." Gastroenterology **138**: 2059–2072.
- Maria Simona Pino, M. M.-K., Bernadette Mandes Wildemore, Aniruddha Ganguly, Julie Batten, Isabella Sperduti, Anthony John Iafrate, Daniel C. Chung (2009). "Deficient DNA Mismatch Repair Is Common in Lynch Syndrome-

Associated Colorectal Adenomas." Journal of Molecular Diagnostics **11**(3): 238-247.

Mark Bettington, N. W., Andrew Clouston, Ian Brown, Barbara Leggett, Vicki Whitehall (2013). "The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges." Histopathology **62**: 367–386.

Mark Meyers, M. W. W., Hwa-Shin Hwang, Timothy J. Kinsella, and David A. Boothman (2001). "Role of the hMLH1 DNA Mismatch Repair Protein in Fluoropyrimidine-mediated Cell Death and Cell Cycle Responses." Cancer Res **61**: 5193-5201.

Matthew B. Yurgelun, A. G., Jason L. Hornick, Ananda Sen, D. Kim Turgeon, Mack T. Ruffin IV, Norman E. Marcon, John A. Baron, Robert S. Bresalier, Sapna Syngal, Dean E. Brenner, C. Richard Boland, and Elena M. Stoffel (2012). "Microsatellite Instability and DNA Mismatch Repair Protein Deficiency in Lynch Syndrome Colorectal Polyps." Cancer Prev Res (Phila) **5**(4): 574-582.

Matthias Kloor, L. S., Aysel Ahadova, Magnus von Knebel Doeberitz (2014). "Clinical significance of microsatellite instability in colorectal cancer." Langenbecks Arch Surg **399**: 23-31.

Matthias Kloor, S. M., Boris Buckowitz, Josef Rüschoff, Reinhard Büttner, Elke Holinski-Feder, Wolfgang Dippold, Rudolf Wagner, Mirjam Tariverdian, Axel Benner, Yvette Schwitalle, Beate Kuchenbuch, Magnus von Knebel Doeberitz (2007). "Beta2-microglobulin mutations in microsatellite unstable colorectal tumors." Int J Cancer **121**(2): 454-458.

Melissa W. Taggart, M., Asif Rashid (2011). "Pathology and Immunohistochemistry of Hereditary Colorectal Cancer." Semin Colon Rectal Surg **22**: 71-76.

Myoung Sook Kim, J. L., David Sidransky (2010). "DNA methylation markers in colorectal cancer." Cancer Metastasis Rev **29**: 181–206.

N C M Hearle, M. F. R., W Lim, V Murday, A G Lim, R K Phillips, P W Lee, J O'Donohue, P J Morrison, A Norman, S V Hodgson, A Lucassen, R S

- Houlston (2006). "Exonic STK11 deletions are not a rare cause of Peutz-Jeghers syndrome." J Med Genet **43**: e15 (<http://www.jmedgenet.com/cgi/content/full/43/14/e15>). doi: 10.1136/jmg.2005.036830.
- Nagahide Matsubara, K. B. D. (2012). "Epigenetic Regulation and Colorectal Cancer." Dis Colon Rectum **55**(1): 96–104.
- Nicholas John Hawkins, R. L. W. (2001). "Sporadic Colorectal Cancers With Microsatellite Instability and Their Possible Origin in Hyperplastic Polyps and Serrated Adenomas." Journal of the National Cancer Institute, **93**(17): 1307-1313.
- Noralane M. Lindor, L. J. B., Olga Leontovich, Richard M. Goldberg, Julie M. Cunningham, Daniel J. Sargent, Catherine Walsh-Vockley, Gloria M. Petersen, Michael D. Walsh, Barbara A. Leggett, Joanne P. Young, Melissa A. Barker, Jeremy R. Jass, John Hopper, Steve Gallinger, Bharati Bapat, Mark Redston, and Stephen N. Thibodeau (2002). "Immunohistochemistry Versus Microsatellite Instability Testing in Phenotyping Colorectal Tumors." J Clin Oncol **20**(4): 1043-1048.
- P Boyle, B. L. (2008). "World Cancer Report." IARC: Lyon.
- Pascal Gervaz, P. B., Philippe Morel (2004). "Two Colons-Two Cancers: Paradigm Shift and Clinical Implications." Journal of Surgical Oncology **88**: 261-266.
- Paul Lochhead, A. K., Yu Imamura, Xiaoyun Liao, Mai Yamauchi, Reiko Nishihara, Zhi Rong Qian, Teppei Morikawa, Jeanne Shen, Jeffrey A. Meyerhardt, Charles S. Fuchs, Shuji Ogino (2013). "Microsatellite Instability and BRAF Mutation Testing in Colorectal Cancer Prognostication." J Natl Cancer Inst **105**: 1151–1156.
- Raul Angelo Balbinotti, U. R., Paulo Sakai, Adriana Vaz Safatle-Ribeiro, Silvana Sartori Balbinotti, Cristovam Scapulatempo, Venancio Avancini Ferreira Alves, Carlos Eduardo Pereira Corbett, Flair José Carrilho (2007). "hMLH1,

hMSH2 and Cyclooxygenase-2 (Cox-2) in Sporadic Colorectal Polyps." ANTICANCER RESEARCH **27**: 4465-4472.

Robert D. Odze, J. R. G. (2009). "Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas." **Second Edition**: 405-637.

Robert Gryfe, H. K., Eugene T.K. Hsieh, Melyssa D. Aronson, Eric J. Holowaty, Shelley B. Bull, Mark Redston and Steven Gallinger (2000). "Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer." N Engl J Med **342**(2): 69-77.

Robyn Lynne Ward, J. T., Rachel Williams, Brita Pekarsky, Deborah Packham, Marija Velickovic, Alan Meagher, Alan Meagher, Alan Meagher and Nicholas John Hawkins (2005). "Routine testing for mismatch repair deficiency in sporadic colorectal cancer is justified." J Pathol **207**: 377–384.

Rodrigo Jover, P. Z., Antoni Castells, Xavier Llor, Montserrat Andreu, Joaquín Cubiella, Francesc Balaguer, Laura Sempere, Rosa M. Xicola, Luis Bujanda, Josep M. Renñe, Juan Clofent, Xavier Bessa, Juan D. Morillas, David Nicola´s-Pe´rez, et al (2009). "The efficacy of adjuvant chemotherapy with 5-fluorouracil in colorectal cancer depends on the mismatch repair status." European Journal of Cancer **45**: 365 –373.

S. Ozkara, B. S., A. Yesil, A. Aktekin, M. Sezikli, Z. Cetinkaya, F. Aker (2013). "Evaluation of Colorectal Adenocarcinomas at Single-Institution with Respect to Microsatellite Instability." Chirurgia **108**(4): 473-477.

S.R. Hamilton, F. T. B., P. Boffetta, M. İlyas, H. Morreau (2010). "WHO Classification of Tumors of the Colon and Rectum." International Agency for Research on Cancer (IARC) **4th edition**: 131-182.

Sadir J. Alrawi, M. S., Robert E. Carroll, Merril Dayton, John F. Gibbs, Mahmood Kulavlat, Dongfeng Tan, Kevin Berman, and G. R. A. Daniel L. Stoler (2006). "Aberrant Crypt Foci (review)." ANTICANCER RESEARCH **26**: 107-120.

- Sam Al-Sohaily, A. B., Rupert Leong, Maija Kohonen-Corish and Janindra Warusavitarne (2012). "Molecular pathways in colorectal cancer." Journal of Gastroenterology and Hepatology **27**: 1423–1431.
- Sandrine Jacob, F. P. (2002). "DNA mismatch repair defects: role in colorectal carcinogenesis." Biochimie **84**: 27-47.
- Sanjay Kakar, L. J. B., Stephen N. Thibodeau, Kari G. Rabe, Gloria M. Petersen, Richard M. Goldberg, Noralane M. Lindor (2003). "Frequency of Loss of hMLH1 Expression in Colorectal Carcinoma Increases with Advancing Age." Cancer **97**: 1421–1427.
- Seung Yeop Oh, K. W. S., Do Yoon Kim, Young Bae Kim (2013). "Oncologic Outcomes after Adjuvant Chemotherapy Using FOLFOX in MSI-H Sporadic Stage III Colon Cancer." World J Surg **37**: 2497–2503.
- Sibel Erdamar, E. U., Gokhan Demir, Tayfun Karahasanoglu, Gulen Dogusoy, Ahmet Dirican, Suha Goksel (2007). "Importance of MutL homologue MLH1 and MutS homologue MSH2 expression in Turkish patients with sporadic colorectal cancer." World J Gastroenterol **13**(33): 4437-4444.
- Slattery ML, B. K., Caan BJ, et al (1998). "Eating patterns and risk of colon cancer." Am J Epidemiol **148**: 4.
- Snoover, D. C. (2011). "Update on the serrated pathway to colorectal carcinoma." Human Pathology **42**: 1–10.
- T Higuchi, K. S., J R Jass (2005). "Demographic and pathological characteristics of serrated polyps of colorectum." Histopathology **47**: 32–40.
- T.C, S. B. (2008). "Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı Kolorektal Kanser Tarama Programı."
- Terry P, G. E., Michels KB, et al. (2001). "Fruit, vegetables, dietary fiber, and risk of colorectal cancer.." J Natl Cancer Inst: 93-525.

- Tetsuji Takayama, K. M., Tsuyoshi Hayashi, Yasushi Sato, and Yoshiro Niitsu (2006). "Colorectal cancer: genetics of development and metastasis." J Gastroenterol **41**: 185–192.
- Theresa P. Pretlow, T. G. P. (2005). "Mutant KRAS in aberrant crypt foci (ACF): Initiation of colorectal cancer?" Biochimica et Biophysica Acta **1756**: 83– 96.
- Tomio Arai, I. K., Motoji Sawabe, Naoko Honma, and Kaiyo Tabubo (2010). "Role of methylation of the hMLH1 gene promoter in the development of gastric and colorectal carcinoma in the elderly." Geriatr Gerontol Int **10**(Suppl. 1): S207–S207.
- Triantafillidis JK, N. G., Kosmidis PA (2009). "Colorectal cancer and inflammatory bowel disease: epidemiology, risk factors, mechanisms of carcinogenesis and prevention strategies " Anticancer Res **29**: 2727-2737.
- Umar A, B. C., Terdiman JP et al. (2004). "Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability." J. Natl. Cancer Inst **96**: 261-268.
- V. Kumar, R. S. C., S.L Robbins (2003). "Basic Pathology." 582-585.
- V. Kumar, R. S. C., S.L Robbins (2004). "Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease." 7. edition: 269-342.
- Vasen HF, W. P., Mecklin JP, Lynch HT (1999). "New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer(HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC." Gastroenterology **116**: 1453-1456.
- Vicki Whitehall, B. L. (2011). "Microsatellite instability: Detection and management in sporadic colorectal cancer." J Gastroenterol Hepatol **26**: 1733-1739.

- Wei Wang, G.-Q. W., Xiao-Wei Sun, Gong Chen, Yuan-Fang Li, Li-Yi Zhang, Hai-Bo Qiu, Chun-Yu Huang, You-Qing Zhan, Zhi-Wei Zhou (2010). "Prognostic values of chromosome 18q microsatellite alterations in stage II colonic carcinoma." World J Gastroenterol **16**(47): 6026-6034.
- WWJ de Leng, M. J., R Carvalho, M Polak, AR Musler, ANA Milne, JJKeller, FH Menko, FWM de Rooij, CA Iacobuzio-Donahue, FM Giardiello, MAJWeterman, and GJA Offerhaus (2007). "Genetic defects underlying Peutz-Jeghers syndrome (PJS) and exclusion of the polarity-associated MARK/Par1 gene family as potential PJS candidates." Clin Genet. **6**(72): 568–573.
- Yong Sik Yoon, C. S. Y., Tae Won Kim, Jong Hoon Kim, Se Jin Jang, Dong Hyung Cho, Seon Ae Roh and Jin Cheon Kim (2011). "Mismatch repair status in sporadic colorectal cancer: Immunohistochemistry and microsatellite instability analyses." Journal of Gastroenterology and Hepatology **26**: 1733–1739.