



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOLOREKTAL ADENOKARSİNOMLARDA MİKROSATELLİT
İNSTABİLİTE DURUMUNUN HİSTOPATOLOJİK VE
MOLEKÜLER ÖZELLİKLERLE KARŞILAŞTIRILMASI VE
SAĞKALIMA ETKİSİ**

Dr. BİLAL TUNÇTÜRK
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR-2023



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOLOREKTAL ADENOKARSİNOMLARDA MİKROSATELLİT
İNSTABİLİTE DURUMUNUN HİSTOPATOLOJİK VE
MOLEKÜLER ÖZELLİKLERLE KARŞILAŞTIRILMASI VE
SAĞKALIMA ETKİSİ**

Dr. BİLAL TUNÇTÜRK
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Doç. Dr. ULAŞ ALABALIK

DİYARBAKIR-2023

ÖNSÖZ

Eğitimimde büyük katkıları olan, tez çalışmam boyunca kapısını her çaldığımda sabırla bilgi ve tecrübelerini paylaşan tez danışman hocam Doç. Dr. Ulaş ALABALIK'a, uzmanlık eğitimimde emeği geçen Prof. Dr. Hüseyin BÜYÜKBAYRAM, Prof. Dr. Selver ÖZŞENER ÖZEKİNCİ, Dr. Öğr. Üyesi Gülay AYDOĞDU, Doç. Dr. İbrahim İBİLOĞLU, Dr. Öğr. Üyesi Ayşenur KELEŞ, , Dr. Öğr. Üyesi Gülbin SARUHAN ALKAN hocalarıma, istatistiksel değerlendirmede yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi İsmail YILDIZ hocama, ekibe sonradan dahil olsam da uzun süredir tanışıyor muyuz hissi yaşatan asistan arkadaşlarım Dr. Cihat AKŞAHİN'e, Dr. Erol ZENCİR'e, Dr. Fatma ÜNSAL OĞUZ'a, Dr. Seda AKAR'a, Dr. Adem AKTAŞ'a, Dr. Tevrat CEYLAN'a,

Eğitimimin Van'daki döneminde bilgi ve tecrübelerini aktaran, eğitimime büyük katkıları olan Dr. Öğr. Üyesi İbrahim ARAS, Doç. Dr. Remzi ERTEN, Dr. Öğr. Üyesi Zehra AKMAN İLİK hocalarıma, ve beni evimde hissettiren, bilgi ve deneyimlerini sunan, çalışma ortamımızı değerli kılan kıdemlilerim Dr. Nuh İLAİZ, Dr. Feyruz KARAKOYUN, Dr. Fatma AYAZ YALINKILIÇ, Dr. Mehmet Selim ARVAS'a,

Başta arşiv taranması için gerekli desteği sunan teknisyen Deniz MENTEŞ hanım olmak üzere, Diyarbakır'da ve Van'da katkılarını sunan teknisyen, personel ve sekreterlere,

Bana bu dünyadaki asıl değerlerin ahlâk ve erdem olduğunu öğreten, sıkmadan yönlendiren, yanlarında değerli hissettiğim annem Süreyya, babam Yusuf, abim Furkan, ablam Sümeyye ve kardeşim Dr. Afra'ya,

İleride benden daha iyi bir patolog olacağına inandığım meslektaşım, dünyadaki zorlu yürüyüşte destekçim ve yoldaşım, çok iyi bir anne olan biricik eşim Dr. Ümmügülsüm TUNÇTÜRK'e, çalışmama vakit ayırabilmem için yorulan eşimin değerli ailesine,

Varlıkları bize büyük bir hediye olan, gelişimine şahit olmaktan büyük mutluluk duyduğum güzel oğlum Ali Erdem ve kavuşmak için gün saydığımız güzel kızım Berra'ya, sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

ARALIK 2023

Dr. Bilal TUNÇTÜRK

ÖZET

Kolorektal karsinom dünya genelinde ve ülkemizde en sık görülen malign tümörler arasındadır. Temel olarak 3 farklı patogenetik yoldan gelişir. Bunlardan biri olan mikrosatellit instabilite (MSI), DNA yanlış eşleşme onarımı (MMR) genlerindeki sporadik ya da kalıtsal mutasyonlar sonucu oluşur. Kolorektal kanserlerin yaklaşık %15'i bu yoldan gelişir. MMR defektif kolorektal kanserlerin prognozu daha iyi olup tedavisi mikrosatellit stabil (MSS) olanlara göre daha farklıdır. Ayrıca MMR defektifliği, kalıtsal Lynch Sendromu konusunda aileyi yönlendirme açısından önemlidir.

Bu çalışmada, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2018 ile 2022 yılları arasında kolorektal adenokarsinom tanısı almış 224 olgu seçildi. Olguların H&E boyalı lamaları ile MLH-1, PMS-2, MSH-2 ve MSH-6 immünohistokimya lamaları arşivden çıkarılarak yeniden incelendi. Hastaların genel özellikleri olan histolojik alt tip, cinsiyet ve yaş, klinikopatolojik bulguları olan pTNM, yerleşim yeri, tümörün en büyük çapı ve polip varlığı, histomorfolojik bulguları olan diferansiyasyon, moleküler KRAS, NRAS ve BRAF çalışmaları Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastane Bilgi ve Yönetim Sistemi (HBYS)'nden ve Tıbbi Patoloji arşiv kayıtlarından elde edildi. Sağkalıma ait veriler HBYS üzerinden ulaşılan Kimlik Paylaşımı Sistemi ile elde edildi. Amacımız olguların, MSI durumları ile bu parametreleri karşılaştırmak ve bölgemizde görülen kolorektal karsinomların karsinogenezis sürecine ışık tutabilmektir.

Çalışmamızda MMR defekti ile erkek cinsiyet, düşük uzak metastaz oranı, sağ kolon yerleşimi, büyük tümör çapı, immatür stromanın az olması, tümör stroma oranının yüksek olması ilişkili bulundu. Olguların MSI durumu ile tümör alt tipi, yaş, diferansiyasyon, pT evresi, N evresi, KRAS, NRAS ve BRAF sonuçları, polip varlığı, tümör nodülleri varlığı, intratümöral lenfositik yanıt seviyesi, kirli nekroz varlığı, büyüme paterni arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi.

Çalışmamızda olguların %26,3'ünün MMR genleri defektif izlendi. MMR defektif KKK oranı literatüre göre daha yüksekti. MMR stabil olgular, stroma oranı yüksek, immatür stromalı ve daha fazla uzak metastaz gösterdi. Fakat literatürün ve

diğer bulguların tersine, MMR stabil hastaların sağkalımı, MMR defektif hastalara göre kısmen daha iyi bulundu.

Anahtar kelimeler: Kolorektal kanser, Mikrosatellit instabilite, MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6, BRAF, KRAS, NRAS, Sağkalım



ABSTRACT

Colorectal cancers are among the most common malignant tumours worldwide and in our country. It basically develops through three different pathogenetic pathways. One of them, microsatellite instability (MSI), is caused by sporadic or hereditary mutations in DNA mismatch repair (MMR) genes. Approximately 15% of colorectal cancers develop through this pathway. Colorectal cancers with MSI have a better prognosis and treatment is different than those with microsatellite stable (MSS). In addition, the family should be guided in terms of Lynch syndrome, which is inherited.

In this study, 224 cases diagnosed with colorectal adenocarcinoma between 2018 and 2022 in the Department of Pathology, Dicle University Faculty of Medicine were selected. H&E stained slides and MLH-1, PMS-2, MSH-2 and MSH6 immunohistochemical slides were retrieved from the archive and re-examined. General characteristics of the patients including histological subtype, gender and age, clinicopathological findings including pTNM, location, largest diameter of the tumour and presence of polyps, histomorphological findings including differentiation, molecular KRAS, NRAS and BRAF studies were obtained from Dicle University Faculty of Medicine Hospital Information and Management System and Medical Pathology archive records. Survival data were obtained from the Identity Sharing System accessed through the Hospital Information and Management System. Our aim was to compare these parameters with the MSI status of the cases.

In our study, male gender, low metastasis rate, right colon location, large tumour diameter, low immature stroma and high tumour to stroma ratio were associated with MMR defective cases. No statistically significant correlation was observed between MSI status and tumour subtype, age, differentiation, pT stage, N stage, KRAS, NRAS and BRAF results, presence of polyps, presence of tumour nodules, intratumoural lymphocytic response level, presence of dirty necrosis and growth pattern.

In our study, MMR genes were found to be defective in 26.3% of the cases. The rate of MMR defective CRC was higher compared to the literature. MMR stable

cases showed higher stroma ratio, immature stroma and more distant metastasis. However, in contrast to the literature and other findings, the survival of MMR stable patients was slightly better than MMR defective patients.

Keywords: Colorectal cancer, Microsatellite instability, MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6, BRAF, KRAS, NRAS, Survival



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AJCC :	American Joint Committee on Cancer
APC:	Adenomatöz polipozis koli
CEA:	Karsinoembriyonik antijen
CIMP:	CpG ada metilatör fenotip
CIMP-L:	CIMP-düşük (CIMP-low)
CIMP-H :	CIMP-yüksek (CIMP-high)
CIN:	Kromozomal instabilite
DCC :	Deleted in colorectal cancer
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
EGFR:	Epidermal büyüme faktörü reseptörü
FAP:	Familyal adenomatöz polipozis
GCHP:	Goblet hücre-zengin hiperplastik polip
H&E:	Hematoksilen-eozin
HNPCC:	Hereditör non-polipozis kolorektal kanser
HP:	Hiperplastik polip
IARC:	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
İHK:	İmmünohistokimyasal
KRK:	Kolorektal kanser
LOH:	Heterozigosite kaybı
MLH1:	MutL homolog 1
MMR:	DNA yanlış eşleşme tamiri (mismatch repair)
MSH2:	MutS homolog 2
MSH6:	MutS homolog 6
MSI:	Mikrosatellit instabilite
MSI-H:	Mikrosatellit instabilite-yüksek
MSI-L:	Mikrosatellit instabilite-düşük
MSS:	Mikrosatellit stabil
MVHP:	Mikroveziküler tip hiperplastik polip
NOS:	Başka türlü spesifiye edilemeyen
PD1/PDL1:	Programlı ölüm-1/programlı ölüm ligandı-1
PMS2:	PMS1 homolog 2
PNİ:	Perinöral invazyon
PTEN:	Fosfataz ve tensin homoloğu
PCR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
SSL:	Sesil serrated lezyon
SSL-D:	Displazili sesil serrated lezyon
TGF-β:	Dönüştürücü büyüme faktörü-beta
TIL:	Tümörü infiltre eden lenfositler
TNM:	Tümör-lenf nodu-metastaz
TSA:	Traditional serrated adenoma
WHO :	World Health Organization
5-FU:	5-Fluorourasil

ŞEKİLLER VE FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Şekil 1: Kalın bağırsağın tabakaları.....	7
Şekil 2: Kolorektal kanser genetik ve epigenetik instabilite yollarına genel bakış	21
Şekil 3: Kolorektal adenom-karsinom sekansı.	22
Şekil 4: Lynch Sendromu tanısal algoritma.....	27
Şekil 5: Serozal ve non-serozal bölge invazyonuna göre değişen pT evreleri	43
Şekil 6: Tümörün submukozaya invazyonu	44
Şekil 7: Tümörün muscularis propria invazyonu	44
Şekil 8: Tümörün subserozaya invazyonu	44
Şekil 9: Müsinöz Adenokarsinom	56
Şekil 10: MSI durumu ve sağkalım arasındaki ilişki (Kaplan-Meier analizi).....	57
Şekil 11: Adenokarsinom-NOS vakasında tümöral tomurcuklanma	64
Şekil 12: Adenokarsinom-NOS vakasında kirli nekroz	64
Şekil 13: Adenokarsinom-NOS vakasında stroma baskın tümör	66
Şekil 14: MLH-1, PMS-2, MSH-2 ve MSH-6 ekspresyonu korunmuş olgular	67
Şekil 15: MLH-1, PMS-2, MSH-2 ve MSH-6 ekspresyon kaybı gösteren olgular...	68

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Kolon ve rektum tümörlerinin DSÖ 2019 sınıflaması	8
Tablo 2. KRAS, NRAS ve BRAF genlerinin çalışılan ekzonları.....	53
Tablo 3. Yaş, cinsiyet ve histolojik alt tip ile MSI durumu karşılaştırması	54
Tablo 4. Olguların klinikopatolojik verilerinin, MSI durumları ile karşılaştırılması	58
Tablo 5. Histomorfolojik bulguların, MSI durumları ile karşılaştırılması	61
Tablo 6. KRAS, NRAS ve BRAF moleküler testlerinin MSI durumları ile karşılaştırılması	70



GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. MLH-1, PMS-2, MSH-2 ve MSH-6 genlerinin ekspresyon durumları	69
Grafik 2. MLH-1, PMS-2, MSH-2 ve MSH-6 genlerinin izole ekspresyon kaybı sayıları.....	69
Grafik 3. KRAS, NRAS ve BRAF moleküler testlerinin MSI değerlerine göre karşılaştırılması	70



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfalar</u>
ÖNSÖZ	i
ÖZET	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER VE FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
GRAFİKLER DİZİNİ	ix
İÇİNDEKİLER	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kalın Bağırsak Anatomisi	2
2.2. Arteriyel Dolaşımı	4
2.3. Venöz Dolaşımı	4
2.4. Lenfatik Drenajı	4
2.5. Sınırları	5
2.6. Embriyolojisi	5
2.7. Histolojisi	6
2.8. Kolon ve Rektumun Tümörleri	8
2.8.1. Kolonun benign epitelyal tümörleri ve prekürsör lezyonları	9
2.8.1.1. Serrated lezyonlar ve polipler	9
2.8.1.2. Konvansiyonel adenomlar	11
2.8.1.3. İnflamatuar bağırsak hastalığı ile ilişkili displazi	13
2.8.1.4. Soliter polipler ve polipozis sendromları	13
2.8.2. Kolorektal adenokarsinom	18
2.8.2.1. Epidemiyoloji	18
2.8.2.2. Etiyoloji	18
2.8.2.3. Klinik Özellikler	19

2.8.2.4. Patogenez	19
2.8.2.5. Makroskopik Özellikler	28
2.8.2.6. Gradeleme	29
2.8.2.7. Histolojik Altıpler Ve Sınıflandırma.....	29
2.8.2.8. Önemli histolojik özellikler	33
2.8.2.9. İmmünohistokimyasal ve histokimyasal özellikler.....	37
2.8.2.10. Prognoz	38
2.8.2.11. TNM Evrelemesi.....	41
2.8.2.12. Metastaz	46
2.8.2.13. Tedavi.....	47
3. GEREÇ VE YÖNTEM	49
3.1. Çalışma Grubunun Tanımlanması.....	49
3.2. Klinikopatolojik Verilerin Toplanması Ve Değerlendirilmesi.....	49
3.3. İmmünohistokimyasal İnceleme.....	51
3.4. Moleküler Çalışma	52
3.4 İstatistiksel Analiz	53
4. BULGULAR.....	54
4.1. Genel Özellikler	54
4.1.1. Histolojik Alt Tip.....	55
4.1.2. Cinsiyet	55
4.1.3. Yaş	56
4.1.4. Sağkalım	57
4.2. Klinikopatolojik Bulgular.....	58
4.2.1. TNM.....	59
4.2.2. Yerleşim Yeri.....	60
4.2.3. Tümörün En Büyük Çapı.....	60

4.2.4. Polip Varlığı.....	60
4.3. Histomorfolojik Bulgular	61
4.3.1. Diferansiasyon	62
4.3.2. Tümör Nodülleri	62
4.3.3. Tomurcuklanma	63
4.3.4. Tümörü İnfiltre Eden Lenfositler.....	63
4.3.5. Kirli Nekroz	65
4.3.6. Desmoplazi Türü.....	65
4.3.7. Tümör-Stroma Oranı.....	65
4.3.8. Büyüme Paterni.....	65
4.4. MMR Genleri	66
4.5. Moleküler Testler	70
5. TARTIŞMA	72
6. SONUÇLAR.....	84
7. KAYNAKLAR	86

1- GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal kanser (KRK), hem dünyada hem de ülkemizde en sık görülen kanserler arasında yer almakta olup en sık mortalite ve morbidite sebeplerindedir. Küresel Kanser Gözlemevi (Global Cancer Observatory, GLOBOCAN) verilerine göre 2020 yılında tüm dünyada yeni tanı alan KRK olgusu 1.9 milyondan fazla olup, 935 binden fazla kişi bu kanser nedeniyle hayatını kaybetmiştir (1). Yine GLOBOCAN verilerine göre Türkiye’de 2020 yılında 21.191 yeni tanı alan KRK olgusu varken, 10.798 hasta KRK nedeniyle hayatını kaybetmiştir (1). T.C Sağlık Bakanlığı’nın 2018 yılında yayınladığı kanser istatistikleri raporuna göre, kolorektal kanserler hem kadınlar hem de erkekler kanser görülme sıklığında üçüncü sıradaki yerini korumaktadır. Sıklığı erkeklerde yüz binde 24,8 iken kadınlarda yüz binde 14,7’ dir (2).

KRK’lerin patogenezi heterojendir ve farklı mekanizmalar rol oynar. KRK’ler temel olarak 3 farklı yoldan gelişir: Kromozomal instabilite(CIN), Mikrosatellit instabilite(MSI) ve CpG ada metilasyonu (CIMP) (3). Bazı tümörlerde bu yollardan birden fazlası aynı anda bulunabilir (3–5). DNA kopyalanması sırasında DNA polimeraz yeterli bağlanamadığında mikrosatellit bölgeleri hatalı kopyalanır. Tümör supresör genler olan DNA hatalı eşleşme onarım (Mismatch Repair, MMR) genlerinin (MLH-1, MSH-2, MSH-6, PMS-2) protein ürünleri MLH-1 ve PMS-2 kompleksi ya da MSH-2 ile MSH-6 kompleksi bu hataların düzeltilmesinden sorumludur. Bu genlerdeki mutasyonlar mikrosatellit instabilite’ye (MSI) sebep olur. KRK’lerin yaklaşık olarak %15’i MMR defektifken, bunların %3’ü germline mutasyon olup Lynch Sendromu’na neden olur (6). MMR defektif KRK’lerin tedavi algoritmalarının mikrosatellit stabil (MSS) olgulara göre farklı olduğu ve prognozunun daha iyi olduğu bildirilmektedir (7).

Çalışmamızda amacımız, 2018-2022 yılları arasında kolorektal adenokarsinom tanısı almış 224 olgunun, MSI durumlarını immünohistokimyasal yöntemle incelemek, MSI durumunun klinikopatolojik, histomorfolojik ve moleküler özellikler ile ilişkisini araştırmak ve bölgemizde görülen kolorektal karsinomların karsinogenezis sürecine ışık tutabilmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalın Bağırsak Anatomisi

Kalın bağırsak, ince bağırsağın distalindeki ileoçekal valv ile anüs arasındadır ve sindirim sisteminin son kısmını oluşturur. Yaklaşık 1,5 m uzunluğundadır. Çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon, rektumdan ve anal kanaldan oluşur. Devamında anüs ile dışarı açılır. En geniş kısmı başlangıcı olan çekumdur ve 7,5-8 cm çapındadır. Genişliği genellikle distale doğru daralarak devam eder. Çekumun 2 cm altında Apendiks vermiformis bulunur. Çekum, transvers kolon ve sigmoid kolon intraperitonealdir ve bu nedenle hareketlidirler. Rektumun ise üst kısmı, orta ön kısmı periton ile örtülüdür (8,9).

Kalın bağırsak, ince bağırsaktan anatomik olarak farklıdır. Daha geniştir ve daha kısadır. Büyük bir bölümü karın arka duvarına tespit edilmiştir. Kalın bağırsağın muscularis propria tabakası içerisindeki longitudinal kas lifleri bir araya toplanarak “Tenya koli (Taeniae coli)” adlı üç adet longitudinal bantı oluştururlar. Bu bantların her birinin genişliği 6-7 mm kadardır. Apendiks vermiformis’in tabanından başlayıp sigmoid kolon distalinde biterler. Tenya’lar bağırsak uzunluğuna göre daha kısadır, bu kısalık kolonda “Haustra coli” denilen büzülmeleri ve kesecikleri oluşturur. Haustra coli’leri birbirinden ayıran mukozal kıvrımlara ise Plica semilunaris coli denir. Kalın bağırsağın dış yüzünde küçük peritonla örtülü yağ uzantılarına ise “Appendices epiploicae” denir. Appendices epiploicae’lar çekum, apendiks vermiformis ve rektum dışında tüm kolonda tenya coliler boyunca sıralıdır (10).

İleoçekal valf(Kapak) mukoza, submukoza ve sirküler kas tabakasının kalın bağırsağa doğru invajinasyonu ile oluşur. İleuma doğru olan yüzeyinde ince bağırsağın karakteristik villusları bulunurken kolon yüzeyinde bulunmaz. Hem çekumdan geriye kaçışını, hem de terminal ileumdaki içeriğin çekuma hızla akmasını engeller (9).

Çekum, kolonun başlangıcı olup sağ fossa iliaca yerleşimli kese şeklindedir. İleoçekal kapağın devamında aşağı doğru da çıkıntı yaparak devam eder.

7,5-8 cm'lik genişliği ile kalın bağırsağın en geniş yeridir, 5-7 cm uzunluğundadır. Genellikle intraperitonealdir, bazen posterosüperior kısmı peritonsuz olabilir. Canalis inguinalise girerek fitıklara neden olabilir. Arkasında M. İliacus ve M. Psoas majör yer alır. Bu kaslarla onları örten fascia ve periton ile ayrıştır(9).

Apendiks vermiformis, ileoçekal kapağın yaklaşık 2 cm aşağısından çıkan, solucan şeklinde 5-10 mm çapında kör sonlanan tübüler bir yapıdır. Yerleşimi en sık retroçekal olmakla birlikte, pelvik, subçekal ya da retroileal de olabilir. Projeksiyonu Mc Burney noktası olup, spina iliaca anterior superior ile göbeği birleştiren çizginin lateral 1/3'üne denk gelir (10,11).

Çıkan kolon,çekumdan sonra, sağdan 15 cm uzunluğunda yukarı çıkarak karaciğerin sağ lobunun alt yüzeyine gelir. Çekumdan daha dardır, retroperitonealdir. Ön ve yan yüzlerinde periton vardır fakat arka yüzünde yoktur. Sola doğru dönerken Fleksura coli dextra (Hepatik fleksura)'yı oluşturur ve ardından transvers kolonla devam eder. Arka yüzü peritonsuzdur ve sağ böbreğe komşudur (9).

Transvers kolon, fleksura coli dextradan dalağın dış ucu altında yer alan fleksura coli sinistra(splenik fleksura)'ya kadar uzanan kısımdır. Karın boşluğunda dümdüz ilerlemeyip göbeğe kadar iner. İntraperitoneal ve 50 cm uzunluğunda olup kolonun en hareketli ve en uzun kısmıdır (9).

İnen kolon, fleksura coli sinistradan sol iliak fossaya kadar dikey olarak aşağı doğru uzanır. Ortalama 25 cm uzunluğundadır ve retroperitonealdir. Arka yüzü dışında periton ile örtülüdür (8).

Sigmoid kolon, sol iliac fossa hizasından başlayıp "S" şeklinde kıvrım yapar. 3. Sakral vertebra hizasında rektum ile birleşir. Yaklaşık 40 cm uzunluğunda ve tamamen intraperitonealdir (8).

Rektum, 3. sakral omurilik seviyesi ile anal kanal arasındaki bölümdür. Üst kısmı sigmoid kolon gibi 4 cm genişliğinde iken alt kısmı genişleyip Ampulla recti'yi oluşturur. 12 cm uzunluğunda, sağa sola kıvrılarak ilerler. Yarımay şekilli ve transvers yönde uzanan kalıcı plikaları vardır. Bunlara Plicae transversales recti (Houston plikaları) adı verilir. Diğer kolon segmentlerinden farklı olarak rektumda

Tenia coli, haustra coli, mezenter ve appendices epiploicae bulunmaz. Üst 1/3 bölümünün ön ve yan kısımları, orta 1/3 bölümünün ise sadece ön kısmı periton ile örtülüdür. Alt 1/3 ise tamamen peritonsuzdur (12).

Anal kanal, Ampulla recti'nin birdendire daraldığı ve aşağı-arkaya doğru seyrederek sonlandığı yerdir. Yaklaşık 4 cm uzunluğunda olup, kapalı kalmasını sağlayan sfinkter kasları ile sarılıdır (12).

2.2.Arteriyel Dolaşımı

Kalın bağırsak temel olarak üç ana arterin dalları tarafından kanlanır. Bunlar süperior mezenterik arter, inferior mezenterik arter ve internal iliak arterdir. Çekum, apendiks vermiformis, çıkan kolon, hepatik fleksura, transvers kolonun proksimal 1/3'ü süperior mezenterik arter tarafından kanlanır. Transvers kolonun distal 1/3'ü, splenik fleksura, inekolon ve sigmoid kolon inferior mezenterik arter tarafından kanlanır. Rektum ise temelde inferior mezenterik arterin dalı ve internal iliak arterin dalları ile kanlanır (10,13).

2.3. Venöz Dolaşımı

Kalın bağırsağın venöz dolaşımı arteriyel dolaşımı takip eder. Çekumdan transvers kolonun distaline kadar süperior mezenterik vene ve oradan portal vene aktarılır. Transvers kolon distalinden rektuma kadar inferior mezenterik vene ve oradan yine portal vene aktarılır. Rektumun proksimal kısımları inferior mezenterik ven üzerinden portal vene aktarılırken, geriye kalan kısımlar kaval sisteme döküldüğünden rektum ve anal kanalda portokaval anastomoz oluşur (10,13).

2.4. Lenfatik Drenajı

Lenfatik kanallar arteriyel damarları takip ederler. Kolon ve rektumun lenfatik ağı zengindir. Epiploik, parakolik, intermediate ve prinsipal olmak üzere 4 temel gruptan oluşur. Sırasıyla birbirine drene olur:

- Epiploik lenf nodları: Submukoza ve subserozadan çıkan lenfatikler ilk olarak buraya boşalır. Bağırsak duvarında ve Appendices epiploicae'da bulunur.

- Parakolik lenf nodları: Buraya epiploik lenfatikler ve doğrudan bağırsak duvarından damarlar drene olur. Bağırsak kenarının iç yüzeyinde marjinal arterler boyunca sıralıdır.

- İntermediate lenf nodları: Parakolik lenfatikler drene olur. Süperior ve inferior mezenterik arterin ana dalları boyunca sıralıdır.

-Prinsipal lenf nodları: Ana gruptur, süperior ve inferior mezenterik arterlerde yer alır (10,13).

2.5. Sinirleri

Kolonda ekstrinsik(sempatik ve parasempatik) ve intrinsik sinirler vardır:

Ekstrinsik sistem: Sempatik sinirleri ganglion coeliacum, ganglion mesentericum süperior-inferior ve hipogastrik pleksustur. Parasempatik sinirleri ise N. Vagus ve Nervi splanchnici pelvici'den gelir. Peristaltizm parasempatik sinirler ile uyarılırken, sempatik sinirler ile baskılanır.

İntrensik (Enterik) sinir sistemi: Submukozal pleksus(Meissner) sekretuar fonksiyonları düzenlerken, Miyenterik pleksus(Auerbach) kas içerisinde olup motor fonksiyonları düzenler (14).

2.6. Embriyolojisi

Sindirim kanalı epiteli ve bezleri endoderm tabakasından gelişir. Endodermden oluşan primitif gut ise 4. Gestasyonel haftada vitellüs kesesinden(umbilikal kese) gelişir. Primitif gut 3 bölüme ayrılır: Ön bağırsak(foregut), orta bağırsak(midgut) ve hindgut(son bağırsak) (15).

Midguttan çekum, çıkan kolon ve transvers kolonun sağ 2/3'lük kısmı oluşur. Hindguttan transvers kolonun sol 1/3'lük kısmı, inen kolon, sigmoid kolon, rektum ve anal kanalın üst kısmı oluşur. Anal kanalın distali proktodeumdan gelişir (15).

Başlangıçta bağırsağın kranial ucu orofaringeal membran ile örtülüdür, bu 4. haftada yırtılır. Kaudal ucundaki kloakal membran ise 8. haftada yırtılır (15).

6. haftada böbrek ve karaciğer hızla büyür. Öyle ki bağırsağa yeterince yer kalmaz. Bağırsağın orta bölümü de “U” şeklinde umblikal kordun içine çıkar. 10. haftada rotasyon yaparak genişlemiş karın boşluğuna geri döner. Dönemezse omfalosel oluşur (15).

2.7. Histolojisi

Kalın bağırsağın tamamı 4 tabakadan oluşur: İçten dışa doğru sırasıyla mukoza, submukoza, muscularis propria ve seroza/adventisya (Şekil 1) (16).

Mukoza: Epitel, lamina propria ve muskularis mukozadan oluşur (16).

Epitel: Kolon tek katlı prizmatik epitelle döşelidir. Çok sayıda goblet hücresi de içerir. Goblet hücreleri ile mukus salgılayarak yüzeyi kayganlaştırır ve bakterilerin üstünü örter. Goblet hücreleri çekumdan rektuma doğru artar, salgıladığı mukus ile defekasyonu kolaylaştırır. Su, enterositler ile emilir (16).

Lamina propria: İçerisinde damarlar, sinirler, kollojen lifler, lenfoid hücreler içeren bağ dokusudur. Düz tübüler yapılar olan Lüberkühn kriptalarını içerir ve bunlar birbirine paralel dizilmiştir. Lenfoid hücrelerden zengindir. Bu durum bakteri popülasyonunun zengin olmasındandır (16).

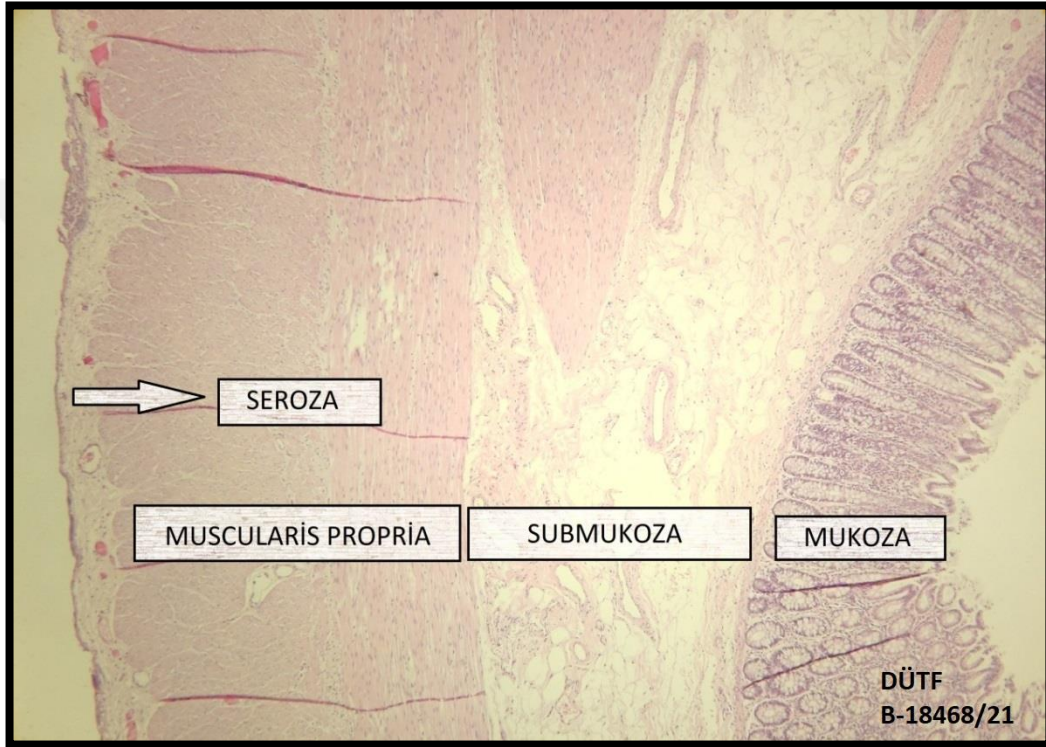
Muskularis mukoza: İnce düz kas tabakasıdır. Mukozayı submukozadan ayırır. Peristaltik harekete katkısı yoktur, mukoza hareketlerini sağlayarak yiyeceklerle teması artırır (16).

Submukoza: Düzensiz sıkı bağ dokusudur. Çok sayıda kan ve lenf damarları içerir. Fakat asıl özelliği salgı kontrolünde yer alan Submukozal sinir pleksusunu (Meissner) içermesidir (16).

Muskularis Eksterna(Propria): İçte sirküler, dışta longitudinal 2 düz kas tabakasıdır. Bu iki tabaka arasındaki bağ dokusu kan damarı, lenfatikleri ve kolona hareket sağlayan Miyenterik pleksusu (Auerbach) içerir. Dıştaki longitudinal kas

tabakası 3 farklı yerde yoğunlaşarak tenya kolileri oluşturur. Tenya koliler apendiksin tabanından başlayıp sigmoid kolon distaline kadar devam ederler (16).

Seroza/Adventisya: Gevşek bağ dokusudur. Kan ve lenf damarları ve yağ dokusundan zengindir. Tek katlı yassı epitel olan mezotel hücreleri ile döşelidir. Kolon diğer organ ya da yapılara bağlanıyorsa serozanın yerini adventisya alır. Adventisya ise damar ve sinir yapıları içeren bağ dokusudur (16).



Şekil 1: Kalın bağırsağın tabakaları (H&E, x40)

Apendiks vermiformisin duvarında lamina propria yerleşimli bol miktarda lenfoid folikül vardır. Bu durum lümeni görece dar, küçük ve düzensiz hale getirir. Tenya koli bulunmaz (16).

Anal kanal kolonun dışa açıldığı bölüm olduğundan epiteli geçiş gösterir. Kolorektal zonda basit kolumnar epitel, transizyonel zonda hem basit kolumnar epitel hem çok katlı yassı epitel, anoderm zonda sadece çok katlı yassı epitel ve son olarak kütanöz zonda ise keratinize çok katlı yassı epitel izlenir (17).

2.8. Kolon ve Rektumun Tümörleri

Kolonda “Benign epitelyal tümörler ve prekürsörleri” başlığı altında serrated lezyonlar ve polipler, geleneksel adenom ve inflamatuvar barsak ilişkili displazi konuları vardır. DSÖ 2019’a göre sınıflandırması Tablo 1’de sunulmuştur.

Tablo 1. Kolon ve rektum tümörlerinin DSÖ 2019 sınıflaması

DSÖ 2019 KOLON VE REKTUM TÜMÖRLERİNİN SINIFLANDIRILMASI	
Benign epitelyal tümörler ve prekürsörleri	Malign epitelyal tümörler
Serrated displazi, low grade	Adenokarsinom, NOS
Serrated displazi, high grade	Serrated adenokarsinom
Hiperplastik polip, mikroveziküler tip	Adenom benzeri adenokarsinom
Hiperplastik polip, goblet hücreli	Mikropapiller adenokarsinom
Adenomatöz polip, low grade displazi	Müsinöz adenokarsinom
Adenomatöz polip, high grade displazi	Zayıf koheziv karsinom
Tübüler adenom, low grade	Taşlı yüzük hücreli karsinom
Tübüler adenom, high grade	Medüller adenokarsinom
Villöz adenom, low grade	Adenoskuamöz karsinom
Villöz adenom, high grade	Undiferansiye karsinom, NOS
Tübülovillöz adenom, low grade	Sarkomatoid komponentli karsinom
Tübülovillöz adenom, high grade	Nöroendokrin tümör NOS
Advanced adenom	Nöroendokrin tümör, grade 1
Glandüler intraepitelyal neoplazi, low grade	Nöroendokrin tümör, grade 2
Glandüler, intraepitelyal neoplazi, high grade	Nöroendokrin tümör, grade 3
	L-hücreli tümör
	Glukagon benzeri peptit üreten tümör
	PP/PYY üreten tümör
	Enterokromaffin hücreli tümör
	Serotonin üreten tümör
	Nöroendokrin karsinoma NOS
	Büyük hücreli nöroendokrin karsinom
	Küçük hücreli nöroendokrin karsinom
	Mikst nöroendokrin-non nöroendokrin neoplazm(MİNEN)

2.8.1.Kolonun benign epitelyal tümörleri ve prekürsör lezyonları

Polipler, mukoza yüzeyinde çıkıntı oluşturan tümör ya da doku büyümesi için kullanılan bir terimdir. Polipler için farklı sınıflandırmalar yapılmıştır. Mukoza ile bağlantısına göre saplı-pedünküllü ya da sapsız-sesil olabilirler. Genel olarak non-neoplastik ve neoplastik olarak ikiye ayrılırlar. Non-neoplastik polipler en sık hiperplastik, inflamatuvar ve hamartomatöz poliplerdir. Neoplastik polipler ise adenomatöz poliplerdir (18,19).

2.8.1.1. Serrated lezyonlar ve polipler

Serrated terimi testere dişi gibi tırtıklı anlamında kullanılan polibin yüzeyindeki morfolojiyi anlatan bir terimdir. Serrated lezyonlar adenomatöz poliplerin yolağından farklı bir yolda ilerler, ve malignite potansiyeli barındıran neoplastik bir sürecin morfolojik ifadesi olarak kabul edilirler (20). Dünya sağlık örgütü'ne göre hiperplastik polip (HP), sesil serrated lezyon (SSL), displazili sesil serrated lezyon (SSL-D), traditional serrated adenom (TSA) ve sınıflandırılmayan serrated adenom şeklinde 5 ayrı alt tipten oluşmaktadır (4).

1- Hiperplastik polip: En sık rastlanan poliptir. Otopsi çalışmalarına göre erişkinlerin %30-50'sinde görülebilir. (21) Malignite potansiyeli taşımazlar. En sık rektosigmoid bölgede görülürler ve asemptomatiktirler. Genellikle sapsız ve 5 mm'den küçüktürler. Nadiren daha büyük ve inverted olabilirler. Daha büyük olduklarında diğer serrated lezyonlar da ayırıcı tanıda değerlendirilmelidir (18,20).

HP tanısı SSL kriterleri karşılanmadığında kullanılan ekartasyon tanısıdır. HPLerin, Mikroveziküler tip hiperplastik polip (MVHP) ve Goblet hücrelerinden zengin hiperplastik polip (GCHP) olmak üzere iki varyantı bulunur. Her iki varyantta da proliferasyon zonu bazalde yatay bir şekilde hizalıdır, nükleusları küçüktür ve displazi içermezler (4).

MVHP'de eşit aralıklarla dizili, huni şeklinde kriptler izlenir. Serrasyonlar kriptlerin üst 2/3'lük kısmı ile sınırlıdır. Kript epitelinde mikroveziküler epitel hücreleri ve değişken sayıda goblet hücreleri bulunur. Mikroveziküler epitel hücrelerinin apikalinde münin içeren vakuoller vardır. Lümen görüntüsü yıldızsıdır.

Bu varyantta BRAF mutasyonu %70-80'lere varacak oranda bulunur ve bir kısmı SSL öncülü olabilir (4).

GCHP'ler çok küçük olduklarından gözden kaçabilir. Kriptleri normal mukozaya göre daha uzun ve geniştir. Bazen dallanmalar gösterebilir. Kript epitelinde goblet hücre sayısı artmıştır. Yüzeyde serrasyon belirgin değildir. Lümenleri yuvarlak görünür. Bu varyantta KRAS mutasyonu %50 oranında bulunur ve bir kısmı TSA öncülü olabilir (4).

2- Sesil serrated lezyon: Çoğunlukla proksimal kolonda görülürler. Bazale yerleşimli küçük nükleusları, ara sıra da belirsiz nükleollü büyük nükleuslu epitel içerir. Hem mikroveziküler hem de goblet hücreleri izlenir. Fakat displazi yoktur. Kriptleri bu dört kriterden birini içerirse yapısal olarak distorsiyone kabul edilir: muskularis mukoza boyunca horizontal büyüyen kriptler(kript tabanında ters T ya da L şeklinde büyüme), kriptlerin bazal 1/3'ünde tabanda dilatasyon, kript tabanına uzanan serrasyonlar ve asimetrik proliferasyon. Bu kriterlerin en az 1 kriptte açık ve net bir şekilde görülmesi gerekir. *GCHP'lerde* de görülebilen daha hafif dallanmalar ve dilatasyon ile ayrımı yapılmalıdır. Ki67 HP'lerde tipik olarak bazalde boyanırken SSL'larda düzensiz, asimetrik ve değişkendir. SSL'ların bir kısmı MVHP'ten gelişir ve %90'ından fazlasında BRAF mutasyonu izlenir (4,19).

3-Displazili sesil serrated lezyon: SSL gibi çoğunlukla proksimal kolonda görülürler. SSL'lerin çok küçük bir bölümü displastik olur. Fakat displazi sonrası progresyon süreci kısadır ve endoskopik görünümleri de soluk olduğundan yetersiz çıkarılabilirler. Bu nedenle SSL-D kesinlikle atlanmamalıdır (22). Displastik bileşen genellikle SSL'den keskin bir şekilde ayrılır ve geleneksel adenomlardan daha fazla morfolojik heterojenite gösterir. Yapısal değişiklikler villöz yapı, kript uzaması, karmaşık dallanma ve kriptlerin kalabalıklaşmasıdır. Sitolojik olarak hücreler, yuvarlak atipik çekirdekler, belirgin nükleoller, çok sayıda mitoz ve eozinofilik sitoplazmalı tırtıklı displazi gösterebilir. Bir polipte genellikle çok sayıda displastik değişiklik görülür. %90'ından fazlasında BRAF mutasyonu izlenir. MLH-1 kaybı da gösterebilir (4,23).

4- *Traditional serrated adenom*: Çoğunlukla distal kolon ve rektum yerleşimlidir. Sıklığı SSL'den çok daha azdır. Düz, sapsız, villöz lezyonlardır. Karakteristik 3 özelliği; uzun kalem benzeri çekirdeği ve eozinofilik sitoplazmaları, yarık benzeri serrasyonları ve ektopik kript odaklarıdır. Ektopik kript odakları muscularis mukozaya paralel uzanır. Proliferasyon merkezleri de bu ektopik odaklar ve kript bazalleridir. Mitoz nadirdir (4,23).

5- *Sınıflandırılmayan serrated adenom*: Serrasyon gösteren bazı displastik polipler TSA ve SSL-D tanısını karşılayamadığından bu grupta sınıflandırılırlar. (4,23).

2.8.1.2. Konvansiyonel adenomlar

Konvansiyonel adenomlar premalign lezyonlardır. Konvansiyonel ifadesi ise serrated yolaktan farklı olduğunu ifade eder (4). Kalın bağırsak boyunca herhangi bir odakta görülebilir. Otopsi çalışmalarında batı ülkelerinde %60, gelişmekte olan ülkelerde %5-6 oranında saptanmış olup, yaşla beraber de sıklıkları artmaktadır (19,20). Epidemiyolojisi ve etiyojisi kolorektal adenokarsinom ile aynıdır (4).

Çoğu 1 cm'nin altında olup asemptomatiktir. Fakat polibin büyüklüğü artarsa semptomatik hale de gelebilir. Torsiyon, kanama, bağırsak alışkanlığında değişiklikler ve intusepsiyon görülebilecek bulgulardandır (20). Yüksek dereceli displazi gösteren bazı adenomlar ülser olabilir (24). Kanarsa gizli kanama testi ile şüphelenilebilir (4). Saplı ya da sesil olabilirler, sesil olanlar kabarık, yassı veya çökük izlenebilir. Tek ya da multip olabilirler, multip olanlar kümelenme eğilimi gösterirler. Hücreleri kalabalıklaşmıştır, birim alandaki hücre ve gland sayısı artmıştır. Polipoid, yassı ya da çökük adenomlarda sitomorfolojik olarak belirgin bir farklılık yoktur (20). Tüm adenom tiplerinde epitelyal hücreler, hiperkromatik, stratifikasyon gösteren, büyük, uzamış çekirdekli (19).

Tanımlı gereği adenom, displastik epitelden oluşur. Düşük dereceli ve yüksek dereceli olarak sınıflandırılır. Klasik adenomların düşük dereceli displazi gösterdikleri kabul edilir. Yüksek dereceli displazi ise karsinoma in situ terminolojisinin yerini almıştır. Yüksek dereceli displazide yapısal ve sitolojik

değişiklikler izlenir. Kriptler düzensiz dallanmalar, tomurcuklanma ya da kribriform konfigürasyon gösterir, polarite kaybı belirginleşir. Sitolojik olarak nükleus büyük, hiperkromatik ya da belirgin nükleollü vezikülerdir (19,24).

Büyüme paterni ve konfigürasyonuna göre tübüler, tübülovillöz ve villöz olarak alt tiplendirilir. Otopsi serilerinde görülme sıklığı sırasıyla %95, %2-4 ve %1-3'tür. Lezyonda %75'den fazla tübüler ya da villöz komponent varsa tübüler adenom ya da villöz adenom olarak isimlendirilir. Oranı %75 değerinin altında kalan tüm lezyonlar ise tübülovillöz adenom olarak isimlendirilir (4,19).

İnvaziv karsinoma dönebileceğinden klinik takibi önemlidir. Tüm adenomların yaklaşık %5'inde invazyon bulunur. Boyut arttıkça ve tübüler alt tipten villöze doğru gittikçe invaziv karsinom oranı artar (19).

Bazen muskularis mukoza altında atipik glandlar görülebilir ve yanlışlıkla malign tanısı alabilir. Bu epitelyal yanlış yerleşim (Psödoinvazyon) durumu hiç de nadir değildir, hatta gerçek malign transformasyondan daha siktir. Sitolojik yapının yüzeydeki ile aynı olması, glandlara eşlik eden gevşek stroma ve inflamasyon bulguları, gland çevresinde hemosiderin pigmenti, düzgün sınır psödoinvazyon lehinedir (20,22). Küçük hücre grupları, tek tek neoplastik hücreler, desmoplastik yanıt ise karsinom lehinedir (22). Desmoplazi normal benign kolonik adenomlarda izlenmez, varlığı da invaziv adenokarsinom lehine ciddi bir kuşku uyandırır (24). Bu tarz olgularda birden fazla patoloğun değerlendirmesi ya da bu konuda tecrübeli bir merkezde değerlendirilmesi gerekir (4).

İnvaziv adenokarsinomda metastaz riski varken, high grade displazide yoktur. İnvaziv adenokarsinom terimi muskularis mukoza boyunca invazyon yaparak submukozaya girişi ifade eder. Herhangi bir polip de submukozaya invaze ise ona malign polip denir. Malign poliplerde raporlanması gereken maddeler şunlardır: invazyon derinliği, tümör diferansiyasyonu, vasküler invazyon, tümöral tomurcuklanma ve cerrahi sınır durumu (19,22).

2.8.1.3. İnflamatuvar bağırsak hastalığı ile ilişkili displazi

İnflamatuvar bağırsak hastalığında (İBH) gelişen displazi ve displaziden karsinom gelişimi, sporadik kanser yolaklarından farklıdır. Artan yayınlarla çok çeşitli morfolojik özelliklerde displazi tiplerinin varlığı gösterilmiştir. Öyle ki bu konu DSÖ 2019'da kendine ayrı bir bölüm ayrılacak hale gelmiştir (22).

Ülseratif kolit ve Crohn hastalıklarında gelişen displazi, hastalıkların sık görüldüğü lokalizasyonlarıyla uyumludur. Hastalığın süresi, daha geniş bir alanı tutması, erken başlangıçlı olması, ailede kolorektal karsinom öyküsü ve inflamasyonun derecesi riski artıran durumlardır (4).

İBH'da devam eden inflamasyon oksijen radikalleri ile DNA mutasyonuna sebep olur, çeşitli moleküler faktörler salınır. İBH ilişkili karsinomlarda da p53 mutasyonu görülür fakat klasik sporadik adenom-karsinomdan farklıdır. P53 mutasyonu histolojik olarak displazinin tespit edilmesinden bile önce vardır. Klasik yolaktaki KRAS ve APC mutasyonları daha az görülür (4).

Endoskopik olarak görülebilen ve görülemeyen şeklinde sınıflandırılmıştır. Histopatolojik olarak ise displazi negatif, belirsiz displazi, düşük dereceli displazi ve yüksek dereceli displazi şeklinde sınıflandırılmıştır. Displazi, konvansiyonel (adenomatöz tip) displazi ve konvansiyonel olmayan displazi şeklinde kategorize edilir (4,22).

2.8.1.4.Soliter polipler ve polipozis sendromları

Kolonda polipler ve yüksek kolon kanseri riski ile ilişkili bazı sendromlar tanımlanmıştır. Bu hastalıkların genetik temeli incelendikçe, sporadik kolon kanserlerinin yolakları daha iyi anlaşılmıştır (20).

Lynch Sendromu

Lynch Sendromu (LS) DNA yanlış eşleşme genleri(Mismatch) olan MLH1, PMS2, MSH2 ve MSH6'daki "germline" mutasyonlar sonucu oluşur. Otozomal dominant geçişlidir. Kolorektal kanserlerin (KRK) yaklaşık olarak %12-18'i Mikrosatellit instabilite (MSI) gösterirler. Bunların da üçte ikisi sporadik, üçte biri

germline mutasyonlardır. Yani tüm KLK vakalarının yaklaşık %3'ünde bu sendrom görülür (19,20). Bu hastalarda aynı zamanda endometrium, mide, ince bağırsak, over, mesane, karaciğer gibi diğer bölgelerde de tümör gelişimi izlenir (25).

LS'lu hastalardaki kolorektal karsinom, sporadik ortaya çıkanlara göre daha erken yaşta görülür ve konvansiyonel adenom yolağından gelişir. Lynch sendromunda patognomonik olmamakla birlikte bazı özellikler daha fazla izlenir. Bunlar genç yaş, sağ kolon yerleşimi, tümörü infiltrate eden lenfositler, müsinöz özellikler, az diferansiyasyon (solid ya da medüller görünüm), tümörde "kirli nekroz" yokluğu ve Crohn hastalığı benzeri inflamatuvar yanıtın varlığıdır (20).

Lynch Sendromunda, kolorektal kanserler daha erken prezente olurlar. Bu da cerrahi olarak tedavi edilmeleri halinde daha iyi prognozlu olmalarını sağlar (19).

Muir-Torre Sendromu ile Turcot Sendromu'nun Lynch Sendromu'nu ile keşiştiği ortak kümeler vardır. Muir-Torre Sendrom'lu hastalarda kolorektal tümörler, multipl sebaceöz tümörler ve keratoakantomlar birlikte görülür. Turcot Sendrom'lu hastalarda Lynch Sendromu ile ilişkili tümörler dışında astrositom ve glioblastom gibi malign beyin tümörleri izlenir (19,25).

Ailesel (Familyal) Adenomatöz Polipozis

Ailesel (Familyal) Adenomatöz Polipozis (FAP) onlu yaşlarda ortaya çıkan kalın bağırsağı neredeyse halı gibi tamamen kaplayan kolorektal adenomların varlığı ile karakterizedir. Adenomların sayısı yüzlerce hatta binlerce olabilir. Bu kalıtsal hastalık otozomal dominant geçişlidir. Adenomatöz polipozis coli (APC) geni kromozom 5q21 yerleşimlidir, ve bu gendeki mutasyonlar asıl sebeptir. Az bir kısmı da baz eksizyon onarım geni olan MYH'nin germline mutasyonu sonucu oluşur (18–20).

Mikroskobik olarak konvansiyonel adenomlardan farklı değildir. Hastada birkaç adenomatöz polip varlığının FAP'ı göstermesi gerekmez. Bu tanı için en az 100 polip görmek gerekir (20).

Tanısal kriterleri şunlardır; (a) 100 ya da daha fazla kolorektal polip, (b) adenomatöz polipozis koli (APC) geninde germline mutasyon, (c) ailede APC öyküsü, ve (d) takip eden maddelerden en az birinin olması: epidermoid kist, osteom ya da desmoid tümör. Fibrom, tiroid kanseri, osteom, epidermoid kist, retina pigment epitelinin konjenital hipertrofisi, normalden daha fazla diş olması da bu sendromun parçalarındandır (19).

FAP mide ve ince bağırsağı da tutabilir. FAP'lı hastaların %90'ında en çok da duodenumda olmak üzere ince bağırsak adenomları, midede ise fundik gland polibi ve adenomlar gelişebilir. Hastaların %10'unda 60 yaş civarında duodenal adenokarsinom gelişir(19).

FAP'lı hastaların tamamında 30 yaşından önce kolorektal karsinom gelişir. FAP zemininden gelişen karsinomların, sporadik kolorektal karsinoma göre ortalama 20 yıl erken tanı aldığı söylenebilir. Bu nedenle hastaların en geç 20-25 yaşlarında profilaktik kolektomi olmaları gerekir. Ancak, hastalarda ekstraintestinal organ neoplazilerinin görülme ihtimali her zaman vardır. Bu nedenle kolektomi sonrası da takip önemlidir (18,20).

Gardner Sendromu FAP'ın bir varyantı olup, çok sayıda bağırsak adenomları yanısıra kafatası ve mandibulada multipl osteomlar, tiroid tümörleri, derinin keratinöz kistleri ve fibromatozis görülür (19,20).

Turcot Sendromu FAP'ın diğer varyantı olup bağırsak adenomları yanısıra beyin tümörleri görülür. APC ve DNA onarım genlerinde mutasyonu olan iki farklı alt tipi vardır(19).

Atenu Ailesel Adenomatöz Polipozis: Genellikle polip sayısı 100'den azdır. FAP'ın daha hafif formudur. Karsinom FAP'a göre 15 yıl daha geç, sporadiklere göre 10 yıl daha erken gelişir. Mide ve ince bağırsak lezyonlarının görülmesinde fark yoktur (19).

Peutz-Jeghers Sendromu

Peutz-Jeghers polipleri hamartomatöz lezyonlardır. En sık ince bağırsakta görülmekle birlikte kolonda ve midede de görülebilir. Genellikle soliter değil, hemen daima sendromun parçasıdır. Peutz-Jeghers sendromu mukokütanoz pigmentasyon ile beraber gastrointestinal hamartomatöz poliplerin görüldüğü otozomal dominant bir hastalıktır (20,25).

Hastalar 20'li yaşlarda tanı alırlar. Klinik semptomlar yerleşime göre değişiklik gösterir. İnce bağırsak polipleri abdominal ağrı, kolon polipleri kanlı dışkılama ile başvurulabilir (19).

Kümülatif kanser riski yüksekten düşüğe doğru meme, kolon, pankreas, mide ve over şeklindedir. Sendromik hastaların yarısında ve bazı sporadik vakalarda 19. kromozomdaki STK11/LKB1 geninde fonksiyon kaybı saptanmıştır (18,19).

Makroskobik olarak büyük boyutta, pedünlüllü ve lobüle yapıda görülürler. Mikroskobik incelemede lezyona hamartomatöz görüntü veren muskularis mukozadan gelen düz kas lifleri tipiktir (18,20).

Juvenil Polipozis Sendromu

Juvenil polipler hamartomatöz lezyonlardır. Çocuklardaki en sık polip türüdür. Yine de 3'te 1'i erişkinlerde görülür. Çoğunlukla rektum lokalizasyonlu olup soliterdir. Kanama en sık bulgudur. Poliplerin %10'u otoampüte olur ve rektumdan atılır (19,20).

Otozomal dominant geçişli Juvenil Polipozis Sendromu'nda sayıları 5'ten fazladır, ancak FAP kadar da fazla değildir. Bu sendromda poliplerin bazıları adenomatöz özellikte olup adenokarsinom gelişebilir. Kalıtsal defekt SMAD4 ya da BMPR1A genlerindeki inaktivasyondur (19,20).

Tipik olarak çapları 3 cm'yi geçmeyen, pedünlüllü, düzgün yüzeyle, kırmızımsı lezyonlardır. Kesit yüzeylerinde karakteristik kistik boşlukları vardır. Mikroskobik olarak yüzeyde ülserasyon ve granülasyon dokusu, altında ödemli inflame stroma içerisinde mukus dolu kistik genişlemiş glandlar bulunur (18,20).

Cronkhite-Canada Sendromu

Bu sendrom herediter değildir. Juvenil tipte polipler diğer polipozis sendromlarından farklı olarak genellikle 50 yaşından sonra görülür. Poliplere alopesi, tırnak atrofisi ve ciltte hiperpigmentasyon eşlik eder (19,20).

Klinik olarak ishal, kilo kaybı ve iştahsızlık görülür. Hastaların %50'si kaşeksiden kaybedilir. Polip özellikleri juvenil polip ile aynıdır. Adenomatöz değişiklik ve kolorektal karsinom bu hastalarda da görülebilir (19,20).

Cowden Sendromu

Cowden Sendromu 3 germ yaprağını da etkileyen otozomal dominant bir hastalıktır. Çok sayıda organı etkileyen multip hamartomlarla karakterizedir (25). Mukokütanöz lezyonlar (yüzde trikilemmomalar, akril keratozlar, oral mukozal papillomlar), mide, kolon, meme ve tiroid kanserleri görülebilir. Polipler olguların %35'inde görülür (19,20,25).

En sık görülen polip tipi, hafif fibrotik epitelde ve muskularis mukozada disorganizasyon içeren polip tipidir. Sendrom PTEN genindeki germline mutasyonlara bağlıdır (19).

Serrated Polipozis Sendromu

Kalın bağırsakta görülen çok sayıda serrated polip ile karakterize bir sendromdur. Üst Gİ traktı ve ince bağırsağı etkilemez. Genellikle asemptomatiktir, ve 50-60'lı yaşlarda tanı alırlar. Hatta ilk tanı kolorektal karsinom tanısıyla beraber olabilir. Kadın erkek eşit etkilenir. Serrated polip alt tiplerinden herhangi biri görülebilir(25).

2.8.2.Kolorektal adenokarsinom

Adenokarsinomlar kalın bağırsağın glandüler veya müsinöz diferansiasyon gösteren malign epitelyal tümürüdür. Karsinom terimi için tümörün submukozayı invaze etmesi gerekir (26).

2.8.2.1. Epidemiyoloji

Globocan 2020 yılındaki istatistiklere göre kolorektal karsinomlar en sık üçüncü, ölüme neden olan en sık ikinci kanserdir. Dünya genelinde 1.9 milyonu aşkın görülmüş, 935 binden fazla ölüme neden olmuştur. 1.15 milyonu kolon, 0.7 milyonu rektum oluşturur (27,28).

Kolorektal karsinom batılı yaşam tarzının hastalığı olarak kabul edilir (19). Bu sebeple KRK görülme sıklığı gelişmiş ülkelerde daha yüksek olup, orta ve düşük gelirli ülkelerde batılılaşmaya bağlı olarak artmaktadır. Bunun nedeninin değişen yaşam stili ve diyet olduğu düşünülmektedir (19).

KRK için ileri yaş hastalığı denilebilir. Vakaların %10'u 50 yaşın altında izlenirken, sadece %1'i 35 yaşın altında izlenir (24). Fakat istatistikler KRK görülme yaşının gittikçe düştüğünü göstermektedir (19).

Türkiye'de 2020 yılında 21.191 hasta KRK tanısı almıştır. Türkiye'de en sık görülen üçüncü kanser KRK olmuştur. En sık görülen kanserler erkeklerde sıklık sırasına göre akciğer kanseri, prostat kanseri ve KRK iken, kadınlarda meme kanseri, tiroid kanseri ve KRK'dir (29).

2.8.2.2. Etiyoloji

KRK etiyojisinde yapısal ve çevresel risk faktörleri vardır. Yaş daha önce de ifade edildiği gibi en önemli risk faktörlerindendir. Genetik yatkınlık ve inflamatuvar barsak hastalığı da yapısal risk faktörlerindendir. FAP'da KRK olma ihtimali %100 iken LS bu oran %90'lara kadar çıkar. Herediter sendromların etkisi "Soliter polipler ve polipozis sendromları" bölümü ve KRK "Patogenez"i kısımlarında daha ayrıntılı tartışıldı (4,24).

Geriye kalan risk faktörleri büyük ölçüde yaşam tarzıyla ilgilidir ve daha da önemlisi değiştirilebilirler; bu da KRK insidansını önemli ölçüde azaltmayı mümkün kılar. En belirgin şekilde rol oynayan beş yaşam tarzı faktörü obezite, sedanter yaşam, işlenmiş et, kırmızı et ve alkol tüketimidir (24). KRK oranını şekilde düşüren maddeler ise şunlardır: sebzedden zengin beslenme, fiziksel aktivite, oral kontraseptif kullanımı, folik asit içeren multivitamin takviyesi (24).

Diğer nadir ancak iyi bilinen risk faktörleri ise pelvik radyasyon, kistik fibrozis, üreterosigmoidostomi ve akromegalidir (4).

2.8.2.3. Kinik Özellikler

Çekum ve diğer sağ kolon tümörleri sıklıkla kronik kan kaybına sebep olur. Bu nedenle demir eksikliğine bağlı anemi ve yorgunluk halsizlik bulgularıyla başvurabilir. Yaşlı bir erkekde ya da postmenapozal bir kadındaki demir eksikliği anemisi bu açıdan mutlaka taranmalıdır. Sol kolon-rektum tümörleri ise daha çok rektal kanama, bağırsak alışkanlığında değişiklikler, kramp tarzı sol alt kadran ağrısı ile kendini gösterebilir. Sol kolon çapı daha dar olduğundan obstrüksiyon bulguları daha çok sol kolon tümörlerinde görülür (18,20).

Endoskopik tarama yöntemlerinin yaygınlaşması ve adenomların karsinom prekürsörü olabileceği bilgisiyle önlem alınmaya ve erken tanıya gidilmeye çalışılmaktadır. Fakat KRK'lerin çoğu sinsi bir ilerleme gösterir ve ileri evrelere kadar semptom göstermeyebilir. Bu amaçla gaitada gizli kan bakılmaya çalışılmaktadır. Serum karsinoembriyjenik antijen (CEA) artışı çoğu tümörde görülür. KRK'lerin ise ancak ileri evrelerinde artışı izlenir. Ne yazık ki bu test tarama testinden ziyade tedavi takibi ve metastazların erken saptanmasında kullanılır (18,20).

2.8.2.4. Patogenez

KRK'ler farklı mekanizmalar sonucu oluşan heterojen bir hastalık grubudur. KRK'leri tek bir yolak şeklinde değerlendirmek yerine klinik ve oluşum yollarına göre değerlendirmek tedavi seçeneklerini de değiştirecektir (3).

KRK'ler temel olarak 3 farklı yoldan meydana gelir: Klasik adenom-karsinom yolağı, serrated yolak ve MSI yolağı. Bu üç yolağın Şekil 2'de gösterildiği gibi ortak ve farklı yönleri vardır.. Sol kolon ve rektumda daha çok klasik adenom-karsinom yolağı ve serrated yolak görülür. İlkinde konvansiyonel adenomlardan kromozomal instabilite ile, ikincisinde traditional serrated adenomlardan düşük seviyede CpG ada metilasyonu ile karsinom oluşur. Sağ kolonda MSI yolağı baskındır. Bu yolak ile serrated polipler mikrosatellit instabilite(MSI) ve CpG ada metilasyonu ile karsinoma ilerler (3). Bazı tümörlerde bu yolaklardan birden fazlası aynı anda bulunabilir (3,4).

1. Kromozomal instabilite (CIN): Daha küçük bir gen grubunu etkileyen DNA kazanımları/amplifikasyonları ve kayıpları/silinmeleri ile yüksek düzeyde DNA somatik kopya sayısı değişiklikleri (SCNA'lar) ile sonuçlanan kromozomal instabilite

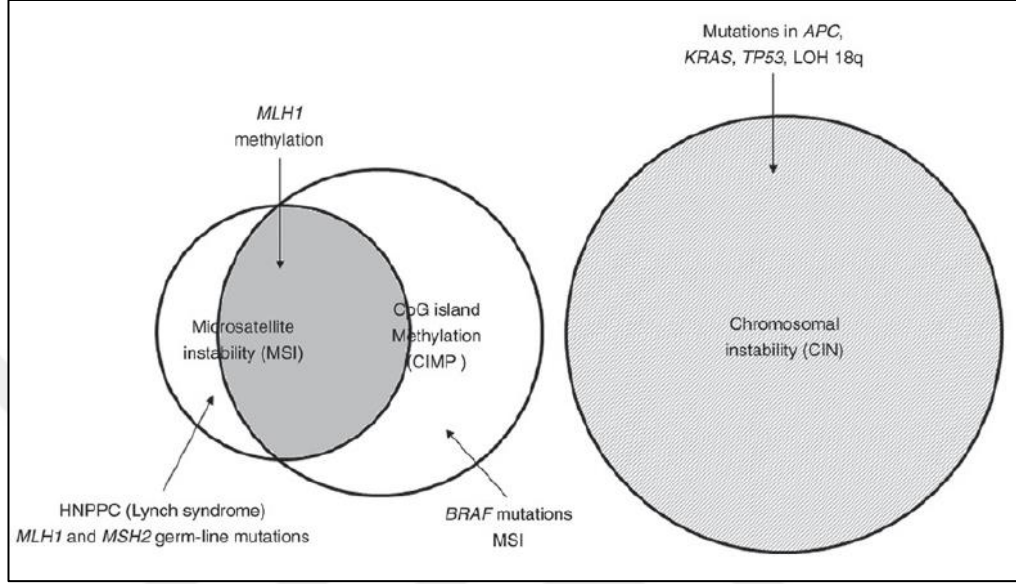
2.Mikrosatellit instabilite (MSI): Çok sayıda geni etkileyen defektif DNA yanlış eşleşme onarımı nedeniyle yüksek mutasyon oranına (hipermutant) sahip mikrosatellit instabilite

3.CpG ada metilasyon fenotipi (CIMP): Çok fazla sayıda geni etkileyen (ultramutant) çok yüksek mutasyon oranına sahip hatalı düzeltme polimerazı (çoğunlukla birkaç driver mutasyonu olan mutasyonlar)

1- Kromozomal instabilite (CIN)

CIN, KRK'de en yaygın genetik instabilite türü olarak görünmektedir ve adenom-karsinom geçişlerinin %85'inde gözlenmektedir. CIN, karsinogenezde yer alan genleri içeren kromozomların tamamının ya da büyük bir kısmının kaybı ya da kazanımıyla oluşur (5).

Kolorektal karsinomlarda onkogen veya tümör süpresör genlerde mutasyonlar izlenir. Somatik mutasyon gösteren onkogenler KRAS, BRAF, PIK3 ve CTNNB1(B-Katenin geni) dir. Sıklıkla tutulan tümör süpresör genler ise TP53, APC, DPC4/SMAD4, DCC ve MCC'dir.

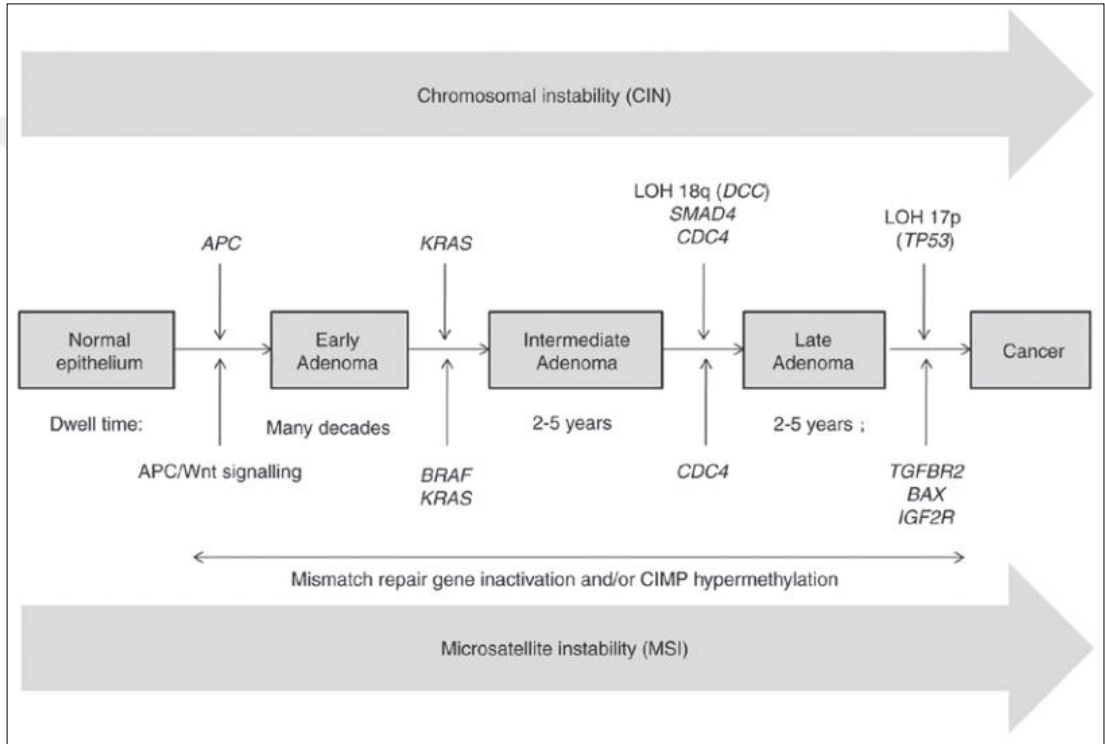


Şekil 2: Kolorektal kanser başlangıcını ve gelişimini yönlendiren genetik ve epigenetik instabilite yollarına genel bakış CIN, Kromozomal instabilite; MSI, mikrosatellit instabilite; CIMP, CpG ada metilatör fenotipi; APC, adenomatöz polipozis; KRAS, KRAS proto-onkogen GTPaz; BRAF, B-Raf proto-onkogen serin/treonin kinaz; TP53, tümör proteini 53; LOH, heterozigotluk kaybı; HNPCC, Herediter non-polipozis coli; MLH1, mutL homolog 1; MSH2, mutS homolog 2 (5).

Fearon ve Vogelstein tarafından önerilen kolorektal karsinogenezin çok basamaklı genetik modeli günümüzde geçerliliğini korumaktadır. Bu modele göre, APC'nin inaktivasyonu ilk olay olarak gerçekleşmekte, bunu adenomatöz evrede onkojenik KRAS mutasyonları takip etmekte ve devamında 18q kromozomunun delesyonu ve tümör baskılayıcı gen olan TP53'ün 17p kromozomu maligniteye geçişte sırayla rol oynar (Şekil 3) (5,20).

APC/B-Katenin mutasyonu

KRK'li hastaların %90'ında mevcuttur. Germline mutasyonlar FAP nedenidir. Wnt sinyal yolundaki APC(adenomatöz polipozis coli) proteini, B-katenin yıkımında yer alır ve mutasyonunda B-katenin sitoplazmada birikmeye başlar. Artmış B-katenin hücre çekirdeğinde WNT yolağını aşağı doğru aktive eder. Böylece kanserli hücrelerin çoğalmasını, göçünü, invazyon ve metastazını teşvik eder (4,5).



Şekil 3: Kolorektal adenom-karsinom sekansı. APC mutasyonu normal kolorektal epiteli adenoma dönüştüren ilk adımdır. Adenom-karsinom dizisine üç ana yol neden olur: CIN, MSI ve CIMP. CIN, Kromozomal instabilite; MSI, Mikrosatellit instabilite; CIMP, CpG adası metilatör fenotipi (5).

KRAS mutasyonu

KRAS hücresel proliferasyonu, farklılaşmayı ve hayatta kalmayı düzenleyen sinyal yollarındaki RAS ailesine aittir. RAS genindeki onkogenik mutasyonlar tüm insan tümörlerinin %30'unda tanımlanmıştır. Bu mutasyonların %85'ini KRAS, %15'ini NRAS ve %1'den azını Hras protoonkogenleri oluşturmaktadır. Hras

KRK'de bildirilmemiştir. KRAS mutasyonları ile KRK'in kötü gidişatı, akciğer ve karaciğer metastazları arasında ilişki bildirilmiştir (5).

KRAS, membrana bağlı hücre içi GTPaz aktivitesine sahip bir GTP/GDP bağlayıcı proteindir. KRAS mutasyonlarında GTPaz aktivitesi bozulduğundan GTP ilişkili sinyal yolları aktifleşir. Bu mutasyonlar KRK'lerin %35-45'inde tespit edilmiştir. En sık kodon 12-13'te mutasyon görülür KRAS mutasyonu, anti-EGFR ilaçlara direnç için öngörü sağlar (5).

18q Allel Kayıpları

Kromozom 18'in uzun kolundaki allel kayıpları geç karsinojenik süreçte KRK'lerin %70'inde tespit edilir ve kötü prognoz göstergesidir. Bu gen bölgesinde DCC, SMAD2 ve SMAD4 dahil olmak üzere önemli tümör süpresör genler vardır(5). SMAD genleri, TGF- β sinyal iletiminde hücre içi mediatörlerdir ve değişikliklerinde TGF- β 'ya direnç kazandırıp karsinogeneze katkıda bulunabilir (5).

TP53 inaktivasyonu (17p kaybı)

TP53 KRK'lerin yaklaşık %50-75'inde kaybedilen tümör süpresör genidir. Bu oran adenomlara göre çok yüksektir ve adenom-karsinom geçişindeki rolüne dikkat çeker. TP53 çeşitli sinyallere yanıt olarak DNA onarımı, hücre döngüsü durması, yaşlanma, metabolizma ve apoptozda rol oynar. Gerektiğinde G1 hücre siklusunu durdurup apoptozu başlatır. Bu şekilde yüzlerce genin transkripsiyonun düzenleyen transkripsiyon faktörünü kodladığı için "genomun koruyucusu" olarak tanımlanmıştır (4,5).

P53 mutasyonu immünohistokimyasal (İHK) olarak saptanabilir. Diffüz nükleer boyanma ya da tam kayıp anlamlıdır. Normal dokularda ise Wild tip denilen dağınık düşük oranda boyanma yapar (30).

2- Mikrosatellit instabilite (MSI)

KRK'de MMR(Mismatch Repair) genlerindeki instabilitenin anlaşılmasında esas çalışmalar Lynch Sendromu'na dayansa da Lynch Sendromu tüm KRK'lerin %3'ünü oluşturmaktadır. Esasen tüm KRK'lerin yaklaşık %12-17'si MSI'ya sahiptir. Bu da çoğu MMR defektif olgunun sporadik olduğunu göstermektedir (31). MMR defektif olgular, aynı evredeki MMR stabil olgulara göre daha iyi prognozludur. Fakat 5-FU tedavisinden fayda görmemektedirler (19,32).

Mikrosatellitler tüm genomda bulunan tekrarlayan sekanslardır. Mono-, di-, tetra- vb. nükleotit tekrarlarıdır. DNA kopyalanması sırasında DNA polimeraz yeterli bağlanmadığında bu bölgeler hatalı kopyalanır. DNA kopyalanırken en sık mutasyon oluşan bölgelerdir (33).

Mikrosatellitler Simple Sequence Repeats (SSRs) ya da Short Tandem Repeats (STRs) olarak da isimlendirilirler. İnsanda en sık CA tekrarı görülür. Yüksek oranda polimorfizm içerirler. Bu nedenle adli tıpta, babalık testi gibi testlerde bu genler üzerinden değerlendirme yapılır (33).

MMR genleri (MLH-1, MSH-2, MSH-6, PMS-2) bu hataların düzeltilmesinden sorumludur. MMR genleri kompleks yaparak DNA'yı tamir etmeye çalışır. En bilinenler MLH-1 ve PMS-2 kompleksi ve MSH-2 ile MSH-6'nın kompleksidir. Fonksiyonel olarak tümör supresör genlerdir. Görev kaybı olması için her iki allele de mutasyon olması gerekir (34).

Çalışmalarla, MMR genlerinin inaktive eden, germline veya somatik mutasyonları içeren iki farklı moleküler yol tanımlamıştır. Lynch Sendromu'nda germline mutasyon sonrasında 2. allele de mutasyon olur ve buna "second hit hipotezi" denir. Bir MMR genindeki germ hattı mutasyonlarına, nokta mutasyonları, heterozigotluk kaybı (LOH) veya metilasyon nedeniyle ikinci bir darbe (sekond hit) vurulması, geni etkisiz hale getirebilir (34).

İkinci moleküler yol olan CpG adası metilatör fenotipi (CIMP) olarak da adlandırılan DNA metilasyonu KRK'lerin %20'sinde meydana gelir ve somatik

KRK'lerdeki MMR defektif formuyla sonuçlanır. DNA hipermetilasyonu çoğu durumda genlerin baskılanmasına neden olur. Sporadik KRK'lerde CIMP zemininde MLH1 promotörünün hipermetilasyonu izlenir. Hipermetilasyon da MLH1 ekspresyon kaybına neden olur (34).

MSI analizi için çeşitli yöntemler kullanılır. İHK'sal olarak MMR gen protein analizi yapılır. MLH-1, MSH-2, MSH-6 ve PMS-2 değerlendirilir. %95 sensitiftir, ve nükleer boyanmanın %5'in üzerinde olması kayıp olmadığı şeklinde değerlendirilir. Kontrol olarak stromal hücreler ve lenfositler kullanılabilir. Raporlarken pozitif-negatif şeklinde değil, kayıp var-yok şeklinde raporlanması tavsiye edilir (35).

PCR tabanlı MSI testi mikrosatellit sekanlardaki instabiliteyi göstermektedir. Normal ve tümöral hücrelerin nükleotit tekrarlarının uzunluklarını karşılaştırarak MSI saptanır. %30'un üstünde farklılık varsa instabil kabul edilir (31).

STR-Fragman analizlerinde Sanger sekanslama yöntemi kullanılır. 1998 yılında MSI için uluslararası gen lokusları belirlenmiştir (36). Buna göre 2 adet mononükleotit (BAT25 ve BAT26), üç adet de dinükleotit (D5S346, D2S123, D17S250) tekrar bölgeleri MSI lokusları olarak belirlendi. Bu beş lokustan iki ve üstü instabilse MSI-High(H), yalnızca bir lokus instabilse MSI-Low(L), instabilite yoksa MSS kabul edildi. Bazı durumlarda alternatif lokuslarla beraber 5'ten fazla lokus analiz edilebilir. Bu durumda analiz edilen lokusların %30'undan fazlası instabilse MSI-H, %30'un altında ise MSI-L, sıfır ise MSS kabul edilir (5,36).

Yeni nesil sekanslama (NGS), çok sayıda mikrosatellit lokusunda MSI'yı eş zamanlı olarak tespit edebilmektedir. NGS ile değerlendirilen solid tümörlerin PCR ve İHK sonuçlarıyla %97 gibi yüksek uyum gösterdiği izlenmiştir (31).

Sıvı biyopsi hücresiz DNA'yı (cfDNA, yani hücre çoğalması ve ölümü sırasında kan dolaşımına dökülen DNA parçaları) test eder. İHK, NGS ve PCR testleri ile yüksek uyum gösteren bu test yeterli tümör dokusu olmayan hastalar için kullanılabilir (31).

Sporadik MSI-H kanserler serrated polip yolağından gelişirken, Lynch kanserleri klasik adenom yolağından gelişir. Klinik olarak MSI-H kanserler proksimal lokalizasyonludur ve erkeklerde daha siktir. Sporadik MSI-H kanserler BRAF(V600E) mutasyonu ile ilişkili iken, Lynch kanserlerinin %20'si B-katenin mutasyonu gösterir (19).

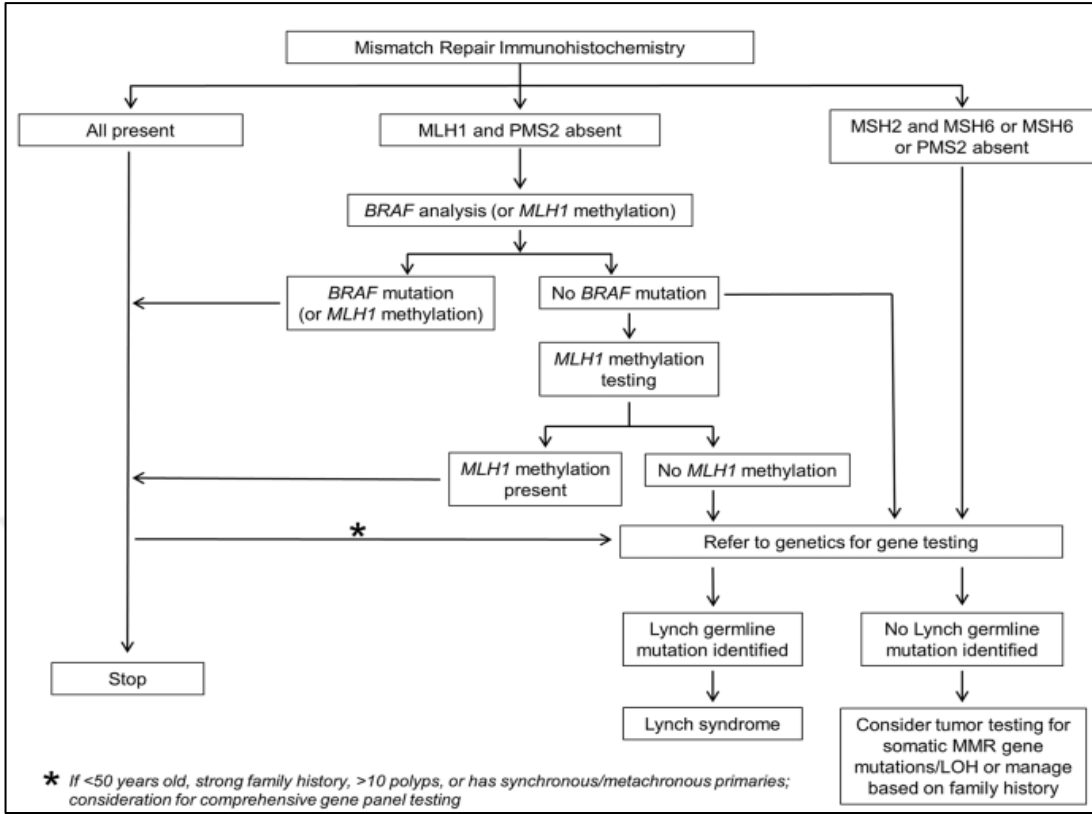
Lynch Sendromu

MMR defektifKRK'ler bazı karakteristik patolojik özelliklere sahiptir; müsinöz ve taşlıyüzük hücreli histoloji, az diferansiye, medüller alt tip, tümörü infiltre eden lenfositler(10 BBA'nın en az 1'inde 5 TIL), Crohn benzeri reaksiyon, genç yaş, sağ kolon yerleşimi. Tümöral tomurcuklanma ve kirli nekroz ise MSS ile ilişkilidir (19,37).

Klinik olarak Lynch, Revize Bethesda kriterleri ile tanımlanmıştır:

- 1.50 yaşın altında kolorektal kanser tanısı almak
2. Yaştan bağımsız olarak Lynch sendromu ilişkili senkron veya metakron tümöre sahip olmak
3. 60 yaşın altında, histolojik olarak MSI-H ilişkili tümör fenotipine sahip olmak
4. Birinci derece akrabaların bir veya birden fazlasında en az biri 50 yaşın altında gelişmiş Lynch sendromu ilişkili tümörün bulunması
5. Yaştan bağımsız olarak 2 veya daha fazla birinci veya ikinci derece akrabada Lynch sendromu ilişkili tümörün bulunması (38).

Hastaların Lynch Sendromu olup olmadıklarını anlamak için MMR İHK testleri, BRAF analizi, MLH1 metilasyon profili ve klinik şüpheyi içeren bir algoritma kullanılır (Şekil 4): Klinik şüphe varsa İHK'sal analiz normal çıkarsa bile genetik testler yapılır. İHK'sal analizde MSH-2 ve MSH-6, ya da sadece MSH-2, sadece PMS-2 kaybında direk genetik testler yapılır. Genetik testler germline mutasyonu desteklerse olgu Lynch Sendromu tanısı alır. İHK'sal analizde MLH-1 ve PMS-2 kaybı saptanırsa önce BRAF, gerekirse MLH1 metilasyon testi yapılır. Bunların pozitif çıkması olgunun muhtemelen sporadik KRK olduğunu gösterir (35).



Şekil 4: Lynch Sendromu tanısal algoritma

CpG ada metilasyon fenotipi (CIMP):

Tümör baskılayıcı genlerde, promotör CpG adalarında DNA hipermetilasyonu yoluyla transkripsiyonel inaktivasyon olur. Bu durum genlerin baskılanmasına neden olarak karsinogenezde önemli bir yer eder. Bir dizi tümör baskılayıcı genin, kolorektal kanserlerde promoter metilasyonu ile susturulduğu gösterilmiştir. CIMP kolorektal adenom vakalarının %30-35'inde tespit edilmiştir ve karsinogenezin serrated yolağı için bir özellik olarak kabul edilmektedir. CIMP-pozitif kolorektal tümörler, proksimal tümör lokasyonu, kadın cinsiyeti, müsinöz ve az diferansiyasyon, yüksek BRAF - düşük TP53 mutasyon oranları gibi farklı bir klinik, patolojik ve moleküler profile sahiptir. Yüksek CIMP ile JC virüsü arasında bir bağlantı da ileri sürülmüştür (5,39).

Günümüzde hangi metilasyon belirteçlerinin ve yöntemin CIMP'ı daha kesin olarak belirleyebileceği konusunda tartışmalar devam etmektedir. CIMP-H tanısı için

bazı laboratuvarlar MINT1, MINT2, MINT31, MLH1 ve p16INK4a lokuslarına bakmakta, 2 veya daha fazlasını pozitif kabul eder. Alternatifbeş promoter CpG adası (CACNA1G, IGF2, NEUROG1, RUNX3 ve SOCS1 dahil) çalışan laboratuvarlar bu lokuslardan en az 3'ünde metilasyon görülmesini pozitif kabul eder (5,19,39).

CIMP'in klinik ve bazı histopatolojik özelliklerinin MMR defektif KRK ile benzer olduğu görülmektedir. Özellikle, sporadik MMR defektif KRK'ler neredeyse sadece MLH1'in CIMP metilasyonu ile ilişkilidir ve bu geni inaktive eder. Aksine ailesel MSI vakaları(Lynch sendromu) başta MLH1 ve MSH2 olmak üzere MMR genlerindeki germline mutasyonlardan kaynaklanır (5,39).

2.8.2.5. Makroskopik Özellikler

Çoğu KRK polipoid ya da ülserovejetandır. Genel olarak polipoid karsinomlar, ülseratif lezyonlara göre daha iyi prognozludur. Ancak bu durum büyük olasılıkla tanı anında polipoid lezyonların daha erken bir klinikopatolojik evrede olmasından kaynaklanır. KRK'ler nadiren midedeki linitis plastikaya benzer şekilde diffüz tutulum yapar. Bu görünüm çoğu zamanda primer KRK'ler dışında metastatik tümörlerden kaynaklanır. Bütün tümör tiplerinde kesit yüzü homojendir, bazen nekroz eşlik eder. Serozal yüze kadar ulaşan tümörlerde dış yüzde düzensizlik izlenebilir (19,24). Tümördeki büyüme paternleri, histolojik alt tipinden bağımsız olarak değerlendirildiğinde prognoz açısından bir anlam ifade etmemektedir (40).

Makroskopide numuneler tespit edilmeden tümör kısımları açılmamalıdır; bunun yerine, numunenin iyice fikse olması ve enine kesit alınabilmesi için sağlam bırakılmalıdır. Bu, tümörün radyal cerrahi sınıra olan mesafesinin değerlendirilmesini optimize etmek için yapılır. Tümörün proksimal ve distal cerrahi sınırlardan uzaklığı mümkünse materyal taze iken yapılmalı ve numune proksimal ve distalden antimezenterik yüzden açılarak tümörün hemen yakınındaki bağırsak sağlam bırakılmalıdır. Daha sonra formole batırılmış gevşek bir gazlı bez ya da pamuk, açılmamış tümürlü bağırsak bölümüne yerleştirilir. Numune yeterli miktarda temiz formolde en az 48 saat (tercihen 72 ila 96 saat) fikse olur. Böylece enine kesit en iyi şekilde alınabilir (24).

Tümör perforasyonu KRK'in nadir bir komplikasyonudur, ancak hastane içi yüksek mortalite ve morbidite dahil olmak üzere kötü sonuçlarla ilişkilidir. Lümeni tamamen tıkayan bir tümörün proksimalinde etkilenmemiş kolonun perforasyonu da genel peritonit ve sepsis nedeniyle yüksek mortaliteyle ilişkilidir. Bildirilen perforasyon oranları %2,6 ile %9 arasında değişmektedir. Yaşlı hastalarda perforasyon görülme olasılığı daha yüksektir (41).

2.8.2.6. Gradeleme

Adenokarsinom, hücrelerin glandüler (asiner) yapılar oluşturma derecesine göre üç diferansiyasyon derecesine ayrılabilir. %95'den fazla glandüler diferansiyasyon iyi, %50-95 arası glandüler diferansiyasyon orta derecede, %50'den daha az glandüler diferansiyasyon ise az diferansiye olarak sınıflandırılır. Glandüler, skuamoz ve nöroendokrin diferansiyasyon izlenmeyenler de grade 4 indiferansiye olarak sınıflandırılır. KRK'lerin %15-20'si iyi diferansiye, %60-70'i orta derecede diferansiye, %15-20'si az diferansiye adenokarsinomlardır. İyi ve orta derecede diferansiye olan tümörler düşük, az diferansiye ve indiferansiye tümörler ise yüksek dereceli karsinom başlığı altında toplanmışlardır. Diferansiyasyon, tümörün ilerleme sınırında bakılan tümöral tomurcuklanma alanında değerlendirilmemelidir (19,20).

2.8.2.7.Histolojik Altıpler Ve Sınıflandırma

Çoğu KRK'ler olağan morfolojiye sahip, Adenokarsinom (NOS, Başka türlü sınıflandırılmayan) olarak tanımlanır. Histolojik olarak farklı komponentlerden oluşan adenokarsinomlar da olabilir. Bu durumda farklı komponentlerin oranlarıyla beraber rapor edilmesi tavsiye edilir. (ör: orta derecede diferansiye adenokarsinom, %10 ekstraselüler müsin komponenti) (24).

Adenokarsinom, NOS

İyi, orta derecede diferansiye tümörler, tipik olarak orta-büyük boyutta glandlardan oluşur. Diferansiyasyon azaldıkça uzun ve kolumnar hücreler, küboidal ve poligonal olmaya başlar. Gland içlerinde nükleer ve selüler debris içeren kirli nekroz

alanları bulunur. Metastatik bir adenokarsinomda görülen kirli nekrozlar kolon adenokarsinomu açısından uyarıcıdır.

Desmoplazi bazen pankreas ve safra yolları tümörlerindeki kadar baskın olabilir. Stromal reaksiyonun yapısı da önemlidir. Miksoid alanlardan zengin bir desmoplastik stroma, kollojenden zengin stromaya göre kötü prognoz ile ilişkilidir.

Glandüler hücreler dışında da Paneth hücreleri, nöroendokrin hücreler, skuamoz hücreler, melanositler ve trofoblastik hücreler görülebilir. Bu durumun genellikle prognostik bir önemi yoktur.

Müsinöz adenokarsinom

En sık görülen alt tiptir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre bir tümöre Müsinöz adenokarsinom demek için en az %50'sinin müsinöz olması gerekmektedir. Müsinöz alanların %50'nin altında olması durumunda "Müsinöz komponent içeren" şeklinde sınıflandırılır. Bu müsinöz alanların içerisinde tabakalar, kümeler halinde ya da taşlı yüzük hücreleri dahil tek tek düşen tümör hücreleri bulunabilir (4).

Non-müsinöz adenokarsinomlarla karşılaştırıldığında daha ileri evrede prezente olur, daha yaygın perirektal yayılım yapar, daha yüksek lenf nodu metastazı gösterirler. Ancak çalışmalar göstermiştir ki prognozda evre önemlidir, tek başına histolojinin etkisi bağımsız prognostik faktör değildir ve aynı evredeki Adenokarsinom NOS ile benzer prognoz gösterir. Sistemik tedaviye yanıtı ise görece daha kötüdür. Ayrıca CIMP-H ve MSI ile daha yüksek oranda ilişkilidir. Müsinöz adenokarsinom derecelendirmesi glandüler formasyon ve epitelyal matürasyona göre yapılmalıdır (4,39).

Taşlı yüzük hücreli karsinom

Tümör hücrelerinin en az %50'si taşlı yüzük hücrelerinden oluşmalıdır. Taşlı yüzük hücrelerinde intrasitoplazmik müsin ve müsinin kenara doğru ittiği nükleuslar vardır. Son derece nadirdir ve gençlerde, sağ kolonu tercih eder. Tümörler sıklıkla duvar boyunca hızlıca infiltre olup, ileri evrelerde ortaya çıkar. Aynı evreye göre değerlendirip, adenokarsinom NOS ve müsinöz karsinom ile karşılaştırınca prognoz

daha kötüdür. Metastazlar hızla ve KRK için tipik olmayan birden fazla yerde gelişir. Yüksek bir MSI insidansı ve Lynch sendromuyla güçlü bir ilişkisi vardır. PDL-1 pozitifliği daha fazla izlenir. Tümörün %50'sinden daha azında taşlı yüzük hücresi varsa, “Taşlı yüzük hücreli komponent içeren” olarak sınıflandırılır (4,19).

Kolonun taşlı yüzük hücreli karsinomu tanısı vermeden, mide ve meme de dışlanmalıdır. Ayrıca inflamasyon durumlarında hücreler birbirinden kopup tek tek düşebileceğinden, tanı verirken emin olunmalıdır (22).

Medüller adenokarsinom

Genellikle kadınlarda, sağ kolon veya çekumda görülür. Tüm KRK'ler arasında %2-4 oranında izlenir. Makroskopik olarak büyük-iri tümörlerdir. Tümör hücreleri poligonal şekilli, veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü, geniş eozinofilik sitoplazmalı hücrelerden oluşur. Tümör hücreleri lenfosit ve nötrofillerle infiltredir. Önemli bir tanısal özellik büyüme sınırlarının itici tarzda olmasıdır. İtici sınırlar ve pleomorfizmin düşük seviyede olması, az ve indifferansiye karsinomdan ayırmada önemli olabilir. Çünkü medüller karsinomun yanlışlıkla az ve indifferansiye karsinom şeklinde raporlanıp, atlandığına dair sonuçlar vardır. Medüller karsinomlar konvansiyonel tedaviye yanıtız, ancak immün terapiye çok iyi yanıt veren, iyi prognozlu tümörlerdir. Bu nedenle tanıları atlanmamalıdır. Medüller karsinomun immünprofilinde, CDX-2 ve MLH1 ile boyanma kaybı görülür, nöroendokrin belirteçler negatiftir. Genetik olarak bu tümörlerin çoğu MSI ile karakterizedir (4,24).

Serrated adenokarsinom

KRK'lerin yaklaşık %10-15'ini oluşturur. Serrated polip yolağından gelişen ya da serrated morfolojide olan tümörleri ifade eder. Testere dişi şeklinde, müsinoz ya da trabeküler büyüme paterni gösteren, bol eozinofilik sitoplazmalı, yoğun kromatinli, düşük nükleus sitoplazma oranına sahip, nekroz bulandırmayan tümörlerdir. Proksimalde MSI ilişkili olanlar SSL'dan, distalde MSS olanlar TSA'dan gelişebilir (4).

Mikropapiller adenokarsinom

Mikropapiller adenokarsinom, histolojik olarak çevredeki stromadan retraksiyon gösteren küçük iç içe geçmiş tümör hücre kümeleri ile karakterizedir. Bu durum küçük damarları taklit edebilir. Tanı için tümörün %5'inden fazlasını oluşturması gerekir. Bu alt tipte lenf nodu metastazı, lenfatik invazyonu ve perinöral invazyon sıklığıdır (4).

Adenom benzeri adenokarsinom

Bu nadir görülen alt tipte villöz adenom benzeri yapısal değişiklikler görülür. İnvaziv alanların %50'sinden fazlasında görülmelidir. Büyüme paterni itici tarzdadır. Özellikle küçük biyopsilerde tanısal zorluklar yaşanabilir, bu durumlarda desmoplastik stroma yardımcı olabilir. KRAS mutasyonu vakaların çoğunda görülür (4,24).

Adenoskuamoz karsinom

Nadir görülen alt tip olup, hem adenokarsinom hem de skuamoz hücreli karsinom komponentini birlikte içerir. Klinik olarak paraneoplastik hiperkalsemiye sebep olabilir. Ülseratif kolit tanılı hastalarda izlenebilir. Tüm KRK'lerin %0.6'sında izlenir, tanı anında hastaların %50'si metastatiktir (4,24).

Sarkomatoid komponent içeren adenokarsinom

Genellikle yaşlılarda görülen, andiferansiye karsinom ve sarkomatoid komponentler içeren, klinik gidişatı kötü olan bir alt tiptir. Makroskobik olarak, hızlı büyüyen, iri, kanamalı tümörlerdir. Sarkomatoid komponent iğsi ya da rabdoid görünümde olabilir. Rabdoid hücreler miksoid matrikste, diskoheziv özelliktedir. İmmünohistokimyasal olarak SMARCB1(INI1) kaybı olabilir. EMA karsinom ve iğsi olan her iki komponenti de boyayabilir. Metastalarında iki komponentten biri ya da her ikisi görülebilir (4,24).

Andiferansiye karsinom

Bu tümörler büyük ve yumuşaktır. Çünkü görece olarak desmoplazi azdır ve belirgin nekroz sıktır. Gland oranı %5'in altındadır. Medüller karsinomla ayrımı bazen zor olabilir. Bu durumlarda itici büyüme paterninin ve belirgin lenfosit infiltrasyonunun daha çok medüller karsinomda görülmesi ile yapılabilir.

Bu temel alt tipler dışında nadiren görülen az koheziv, onkositik, hepatoid, bazaloid alt tipler de bildirilmiştir (4,24).

2.8.2.8. Önemli histolojik özellikler

Lenfovasküler invazyon

Küçük damar vasküler invazyonunun venöz (büyük damar) invazyondan ayrı olarak rapor edilmesi önerilmektedir. Küçük damar invazyonu, seçilebilir bir düz kas tabakası veya elastik lamina olmaksızın endotel ile kaplı ince duvarlı yapıların tümör tutulumunu gösterir. Küçük damarlar lenfatikleri, kapillerleri ve postkapiller venülleri içerir (42).

Belirgin bir düz kas tabakası veya elastik lamina içeren endotel kaplı boşlukların içindeki tümör, venöz (büyük damar) invazyon olarak kabul edilir. Hematoksilin-eozin (H&E) veya elastik boya ile elastik bir lamina ile çevrelenmiş sınırlı tümör nodülleri de venöz invazyon olarak kabul edilir. Venöz invazyon ektramural (muskularis proprianın ötesinde) veya intramural (submukoza veya muskularis propria) olabilir. Ektramural venöz invazyonun çok değişkenli analize birçok çalışmada bağımsız bir olumsuz prognostik faktör olduğu ve karaciğer metastazı için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (4,42).

Arterlere komşu tümör birikimleri ("yetim arter" işareti) ve muskularis propriadan perikolik yağ dokusuna uzanan uzamış tümör nodülleri ("çıkıntılı dil" işareti) gibi histolojik özellikler venöz invazyon şüphesini arttırabilir. Elastik boyama, venöz invazyonun saptanmasında kullanılabilir (4).

Perinöral invazyon

Tümörün sinir hattı boyunca büyümesine perinöral invazyon denir. Tümör hücreleri tanım gereği sinir çevresinin en az üçte birini çevrelemelidir ve sinirlerin üç katmanından (epinörium, perinörium ve endonörium) herhangi birini invaze etmelidir (4).

Perinöral invazyonun kötü prognozun bağımsız göstergesi olduğu gösterilmiştir. Ekstramural perinöral invazyon daha büyük bir olumsuz prognostik etkiye sahip olabilir, ancak intramural ve ekstramural perinöral invazyon arasındaki ayrım iyi araştırılmamıştır (43).

Tümöral tomurcuklanma

Tümörün invazyon sınırında tek hücrelerin veya beşten az hücreden oluşan küçük kümelerin varlığı, tümör tomurcuklanması olarak kabul edilir. Çok sayıda çalışma, polipte ortaya çıkan adenokarsinomda yüksek tümöral tomurcuklanmanın lenf nodu tutulumu için önemli bir risk faktörü olduğunu göstermiştir (19,26). Bazı çalışmalarda tümör tomurcuklanması en önemli bağımsız prognostik faktördür (26).

Uluslararası tümör tomurcuklanması konsensus konferansı (ITBCC) 2016 yılında tümör tomurcuklanmasını değerlendirmek için aşağıdaki kriterleri önermiştir:

1. Tümör tomurcuklanması sayımları H&E kesitlerinde yapılmalıdır. İnflamasyon gibi gizleyici faktörlerin olduğu durumlarda, tümör tomurcuklanmasının sınırını değerlendirmek için keratin gibi immünohistokimyasal tetkikler kullanılabilir, ancak skorlama H&E kesitlerinde yapılmalıdır.

2. Tümör tomurcuklanması, invaziv tümör içeren mevcut tüm kesitlerin gözden geçirilmesinden sonra bir "hot point" –en yoğun alan- seçilerek rapor edilmelidir. Toplam tomurcuk sayısı, bazı mikroskoplarda 20'lik büyültmeye karşılık gelen 0,785 mm²'lik bir alanda sayılarak raporlanmalıdır.

3. Hem toplam tomurcuk sayısı, hem de üç kademeli bir skor (0,785 mm² alan alanına dayalı) raporlanmalıdır: düşük (0-4 tomurcuk), orta (5-9 tomurcuk) ve yüksek (10 veya daha fazla tomurcuk).

Tomurcuklanmanın, poliplerde ortaya çıkan kanserlerin yanı sıra evre I ve II vakalar için de bildirilmesi tavsiye edilmektedir (26,44).

Az diferansiye kümeler

Glandüler oluşum olmaksızın >5 tümör hücresinden oluşan gruplardır ve olumsuz bir prognostik özelliktir (4).

Büyüme paterni

İnvaziv sınır, tümör-konakçı etkileşimini gösteren, prognozun belirlenmesinde önemli bir özelliktir. Büyüme paterni standart parafin kesitlerde değerlendirilebilir. İki tip büyüme paterni vardır: infiltratif büyüme ve itici sınırlar. Agresif KRK'de, "İnfiltratif tümör sınırı" olarak adlandırılan büyüme paterni, KRK hastalarında kötü sağkalım sonuçları ve hastalığın erken nüksetmesi ile ilişkilendirilmiştir. Ek olarak, infiltratif tümör büyümesi sıklıkla olumsuz klinikopatolojik özelliklerin varlığı ve BRAFV600 mutasyonu dahil agresif tümör davranışıyla ilişkili moleküler değişikliklerle ilişkilidir (45).

Buna karşılık, lenf nodu ve uzak metastaz riski düşük olan KRK vakalarında sıklıkla iyi sınırlı "itme" büyüme paterni görülür. İtici büyüme paterni sıklıkla MSI ile ilişkilendirilen bir özelliktir (4,45).

Tümörü infiltre eden lenfositler

Tümör mikroçevresinde neoplazi ile stroma ve tümörü infiltre eden lenfositler (TIL) arasında karmaşık bir etkileşim vardır. Özellikle tümör/konak invazyon sınırında TIL, hastanın önceden var olan tümör içi bağışıklığının etkinleştirilmesi de dahil olmak üzere immünoterapi potansiyelinin ortaya çıkarılmasına yönelik önemli bir veridir (46).

Kolon kanserinde, TIL'in uzun süredir MSI alt grubunun ayırt edici bir özelliği olduğu biliniyor ve dMMR ve çerçeve kayması mutasyonlarının birikmesinden kaynaklanan neoantijenlere karşı bir yanıtı temsil ettiği varsayılıyor (4,46).

Crohn benzeri lenfositik reaksiyon

KRK rezeksiyonlarında gözlemlenen lenfositik reaksiyon, uzun zamandır tümör hücrelerine karşı konakçı immün tepkilerinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Artmış lenfositik reaksiyon ile olumlu prognostik sonuç arasında anlamlı bir korelasyon vardır. Bu korelasyon peritümöral lenfositik infiltrasyon, bölgesel lenf düğümlerinde lenfoid hiperplazi dahil olmak üzere lenfositik sistemleri içeren çeşitli aktivitelerde gözlemlenmiştir (47).

Karsinomun periferindeki nodüler lenfoid agregatların (LA'lar) histolojik özelliği aynı zamanda lenfatik sistemin tümörlere karşı aktivasyonunu da yansıtır. Pek çok çalışma Crohn benzeri reaksiyon'un olumlu sonuçlarla ilişkili bir özellik olduğunu göstermiştir ve yakın zamanda MSI durumuyla ilişkili olduğu ve MSI histolojik belirteçlerinden biri olduğu gösterilmiştir (47).

Yakın zamanda, lenfositlerin varlığının incelenmesi için immünohistokimya kullanarak tümörün invazyon sınırında bakılan CD3 ve CD8, önemli bir prognostik güce sahip olduğunu göstermiştir (4).

Kirli nekroz

Kirli nekroz, nekrotik odaklarda belirgin nötrofil infiltrasyonu ve hücre kırıntıları ile birlikte tümör nekrozunun bir şeklidir. Histolojik olarak, tümör nekrozunu tanımlamak için tabaka benzeri ve tekdüze ölü hücre kümeleri kullanılır. Tümör nekrozu temel olarak vasküler kollapsa, yüksek interstisyel basınca ve/veya kan akışını aşan hızlı tümör büyümesine bağlı olarak tümörlerdeki kronik iskemiden kaynaklanır. Ayrıca tümör nekrozuna düzensiz hücre çoğalması ve besin dengesizliği neden olur (48).

Kirli nekrozun kötü prognoz göstergesi olabileceğine dair yayınlar vardır (48).

Tümör-stroma oranı

Primer tümörde bulunan stroma miktarını tahmin eden kolay bir tekniktir. Tümör stroma oranının %50'nin üstünde olup olmamasına göre, stroma ya da tümör baskın olarak kategorize edilir. Yüksek stromal içeriğe sahip tümörler kötü prognozla ilişkilendirir. Tümör-stroma oranı, kolon kanserinde güçlü, bağımsız bir prognostik parametre olarak bildirilmiştir ve rutin patoloji teşhislerine uygulanabilir (49).

Stromal desmoplazi

KRK'lerde konakçı yanıtlarından olan desmoplazi üç kategoride incelenebilir: Matür, intermediate ve immatür. İmmatür desmoplastik yanıt paterni, evre III KRK hastalarında hastalık nüksü ve mortalite ile ilişkili görünmektedir. Tersine, lenf nodu tutulumu ve venöz embolizasyon matür stroma varlığı ile önleniyor olabilir. Bu açıdan stromal desmoplazi yanıtının kategorisi prognozu öngörmede yönlendirici olabilir (50,51).

Tümör depozitleri (nodülleri)

Primer karsinomun lenf drenaj alanından ilerleyip perikolorektal yağ dokusu içinde yer edenlezyonlara denir. Bu nodüllerin ana tümöre 5 mm uzakta olması ve devamlılık göstermemesi gerekir. Sağkalımı olumsuz etkilediği bilinmektedir (52).

2.8.2.9. İmmünohistokimyasal ve histokimyasal özellikler

KRK'lerde MMR gen araştırılması için immünohistokimyasal (İHK) çalışmalar yapılabilir. Bunun dışında rutin olarak İHK çalışma yapılmasına gerek yoktur. Fakat genellikle farklı alt tiplerin belirlenmesi (nöroendokrin) ve primer-metastaz ayrımı için İHK çalışmalar uygulanabilir.

Keratinler: KRK'ler düşük molekül ağırlıklı sitokeratin ekspresyon ederler. Çoğu tümör CK20 pozitif(%80-%100), CK7 negatiftir (%85).

Villin: Mikrofilament ilişkili aktin bağlayıcı proteindir. %90'dan daha fazla oranda epitelyal hücrelerin fırçamsı kenarlarında diffüz sitoplazmik boyanma gösterir. Gastrointestinal diferansiyasyonu göstermek için de kullanılır (akciğer, mesane).

CDX2: KRK'lerin %90'dan fazlasında nükleer ekspresyon gösterir. İstisnai olarak medüller karsinomlar ve MMR defektif KRK'ler gösterilebilir.

SATB2: Hind-gut kökenli tümörleri göstermede yararlıdır. Hem epitelyal hem de nöroendokrin hücrelerini boyar. KRK'lerde CDX2'ye göre daha sensitiftir.

Müsinler: MUC2 çoğu KRK'lerde ekspresyon edilir. MUC1(EMA) de pozitif olabilir. Fakat pankreatikobiliyer tümörlerdeki MUC5AC ekspresyonu, müsinöz adenokarsinomlar dışında izlenmez.

CEA ve B-katenin değişik oranlarda pozitifdir.

Histokimyasal olarak KRK'ler müsin boyaları ile pozitifdir (24).

2.8.2.10. Prognoz

Hastaya ait bazı önemli faktörler yaş, cinsiyet, sosyoekonomik düzey ve komorbiditelerin varlığıdır (24). Tümörün patolojik evrelemesi tümörün gidişatı için en önemli prognostik ve prediktif göstergedir (24).

Tümör derinliği ve peritoneal invazyon: Hastaların prognozu TNM sistemindeki T sınıflandırmasında ifade edilen tümör derinliği ile direkt ilişkilidir. Visseral peritonun invazyonu peritoneal karsinomatozis için belirgin bir risktir. Bazı çalışmalar peritoneal invazyonun nüks ve azalmış sağkalımla ilişkili olduğunu göstermiştir. Tümör serozaya 1 mm'den yakınsa örnek sayısı artırılmalıdır. İnvazyona bağlı perforasyon ile inflamatuvar perforasyon ayırımı için de dikkatli olunmalıdır (24).

Lenf nodu tutulumu: Hem prognoz hem de hasta yönetimi açısından önemli bir kriterdir. En az 12 adet lenf nodu diseke edilmesi önemlidir. Metastatik lenf nodu/toplam lenf nodu oranı potansiyel bir prognostik faktördür. Bir takım çalışmalar uzak lenf nodu metastazının daha kötü klinik gidişat ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Mikrometastaz 0.2 mm'den büyük, 2 mm'den küçük 10 ila 20 tümör hücresinden oluşan kümeler olarak tanımlanır. Bu mikrometastazların standart pozitif lenf nodları olarak değerlendirilmesi önerilir, çünkü kemoterapi kararını etkileyebilir (24,53).

Neoadjuvan terapi sonrası görülen aselüler müsin depozitleri canlı tümör hücresi içermediğinden T ve N skorlamalarını değiştirmez (24). Ekstrakapsüler yayılım farkedildiğinde mortaliteyi etkilediği için raporda bildirilmelidir (24). İzole tümör hücreleri genellikle immünohistokimyasal boyama gibi özel tekniklerle bulunan tek tümör hücreleri veya 0,2 mm'den küçük tümör hücresi kümeleri olarak tanımlanır ve prognoza etkileri kanıtlanmadığından N0 olarak sınıflandırılır (26).

Tümör depozitleri: Rezidü lenf nodu bulgusu olmadan perikolonik yağ doku içindeki tümöral odaklara denir. Tümör dokusu oraya bölgesel lenfatik drenaj ile ulaşır. Tümör depozitleri pN1c şeklinde kategorize edilir. Tümör depozitlerinin varlığı kötü prognoz göstergesidir. Tümör depozitlerinin sayısı da raporda bildirilmelidir. 5 ve daha fazla tümör depozitlerinin varlığında sağkalım belirgin olarak düşer (24,26,52).

Histolojik grade: Gradeleme sistemi 2.8.2.6. numaralı başlık altında anlatıldı. KRK'lerde grade arttıkça prognoz kötüleşir. İyi diferansiye ve orta derecede diferansiye KRK'ler düşük dereceli olarak ortak bir sınıflandırmada değerlendirilirler çünkü prognoz açısından benzer sonuçlar görülür (24).

Tümör tomurcuklanması: Poliplerden gelişen pT1 tümörlerde artmış lenf nodu metastaz riskinin göstergesidir. Evre 2(pT3/pT4 N0) tümörlerde görülmesi o tümörün prognostik gidişinin evre 3 KRK'ler gibi olacağını gösterir. Bu da adjuvan kemoterapi kararını etkileyebilir (24,54).

Histolojik alt tip: Bazı KRK'lerin Adenokarsinom-NOS'a göre daha farklı davrandığı bilinmektedir. Taşlı yüzük hücreli karsinom, mikropapiller adenokarsinom, rabdoid veya sarkomatoid komponent içeren tip, indiferansye karsinom daha agresif tümörlerdir. Medüller karsinom, adenom benzeri adenokarsinom, ve çoğu MMR defektif KRK'ler ise daha iyi prognoza sahip tümörlerdir (24,37).

Proksimal ve distal rezeksiyon sınırları: Tümörün cerrahi sınırlara bitişik ya da 1 mm'den yakın olması rezidü tümör varlığını ifade eder. Bu durum tek başına prognozun kötü gideceğini gösterir ve nüks beklentisini artırır (4,24).

Radial cerrahi sınır: Radial cerrahi sınırdaki tümörün pozitifliği dışında tümörün yakınlığının da rekürrensi etkilediği gösterilmiştir. Bu nedenle raporlarda tümörün radial cerrahi sınırlara uzaklığının verilmesi tavsiye edilmektedir (24).

Lenfovasküler invazyon: Uzak metastaz gelişme riskini gösteren güçlü bir prediktif değerdir. Küçük damar invazyonundan ayırmak gerekir (24).

Perinöral invazyon: KRK'lerin yaklaşık %20'sinde görülür. Tümör derecesinin yüksek olması, az diferansiye, rektal lokalizasyonlu tümörlerde oran artar. Hem rekürrens hem de sağkalım açısından kötü prognostik faktördür (24,43).

İmmün yanıt: Lenfositlerin immün yanıtı farklı şekillerde olabilir; tümörü infiltre eden lenfositler, peritümöral lenfositik yanıt ve peritümöral lenfoid agregatlar (Crohn benzeri lenfositik yanıt). Crohn benzeri lenfositik yanıt birçok çalışmada bağımsız prognostik faktör olarak bulunmuştur. İmmün yanıt ile artmış sağkalım arasında belirgin bir korelasyon vardır. Nötrofil ve eozinofiller de farklı inflamatuvar immün yanıtlarda yer alırlar (24,47).

Büyüme paterni: Bağımsız bir prognostik kriterdir. İnfiltratif ya da itici tarzda olabilir. İtici tarzda büyüme MSI fenotipi ile ilişkili olup daha iyi prognoz gösterir. Küçük glandlar, düzensiz hücre kümeleri ile dokuları yarararak ilerleyen infiltratif büyümede perinöral invazyon daha fazla görülür ve kötü prognoz göstergesidir (24,45).

Moleküler belirteçler: Moleküler çalışmalar iki temel yolla KRK sağkalımında etkilidir. Birincisi KRK'in prognostik gidişatını gösterebilir. İkincisi tedaviye yanıtta prediktif belirteç olarak kullanılabilir (24).

Birçok çalışma, MMR eksikliğinin diğer değişkenlerden bağımsız olarak olumlu bir sonucun öngörücüsü olduğunu bulmuştur. Bu, evre II hastalık için büyük bir klinik öneme sahiptir. MSI durumu, iyi prognoza sahip olan ve dolayısıyla adjuvan kemoterapiden fayda görmeyen hasta alt gruplarını belirlemek için önemlidir. Ayrıca, MMR defektif kanserlerin florourasil bazlı kemoterapiden fayda görmeyebileceğine dair kanıtlar vardır. Bu kanıtlar, standart kemoterapiden kaçınmak için yönlendiricidir (19,24).

18q heterozigot kaybı (LOH) DCC, Bcl2 ve SMAD kaybını içerir. LOH ve p53 mutasyonu bulunan tümörlerin kötü prognozlu oldukları gösterilmiştir. KRAS kodon12 ve kodon 13 mutasyonu anti-EGFR tedavisine direnci göstermektedir. Aynı şekilde BRAF(V600E) ve PIK3CA mutasyonları da tedaviye direnci gösterir. PTEN kaybı, EGFR aşırı ekspresyonu, HER2 aşırı ekspresyonu saptanan tümörlerin prognostik ve prediktif değeri konusunda çelişkili sonuçlar bulunmaktadır (5,19).

Büyük serilerle yapılan çalışmalarda, KRK için küratif cerrahi sonrası 5 yıllık sağkalım oranı kabaca %40-60 seviyesindedir. Başarısızlık yaşanan olguların %90'ından fazlasında lokal rekürrens ve/veya bölgesel lenf nodu metastazları ortaya çıkar. Rekürrenlerin üçte ikisinden fazlası ilk 2 yıl, %91'i 5 yıl içerisinde kendini gösterir (20).

2.8.2.11. TNM Evrelemesi

Cerrahi rezeksiyon, kolorektal karsinom için en etkili tedavi olmaya devam etmektedir ve prognozun en iyi tahmini, rezeksiyon örneğindeki patolojik bulgulardan elde edilmektedir. Günümüzde evrelemek için American Joint Committee on Cancer (AJCC), International Union Against Cancer (UICC) ve Collage of American Pathologist(CAP) tarafından TNM Evrelendirme Sistemi'nin kullanılması önerilmektedir.

“p” sembolü TNM’nin patolojik sınıflandırılmasını, "T" tanımı daha önce tedavi edilmemiş bir primer tümörü , pN lenf nodu metastazını doğrulamak için yeterli lenf nodunun çıkarılmasını ve pM, uzak lezyonların incelemesini ifade eder. Klinik sınıflandırma (cTNM) genellikle hastanın ilk değerlendirilmesi sırasında veya patolojik sınıflandırma mümkün olmadığında tedaviden önce sevk eden doktor tarafından yapılır.

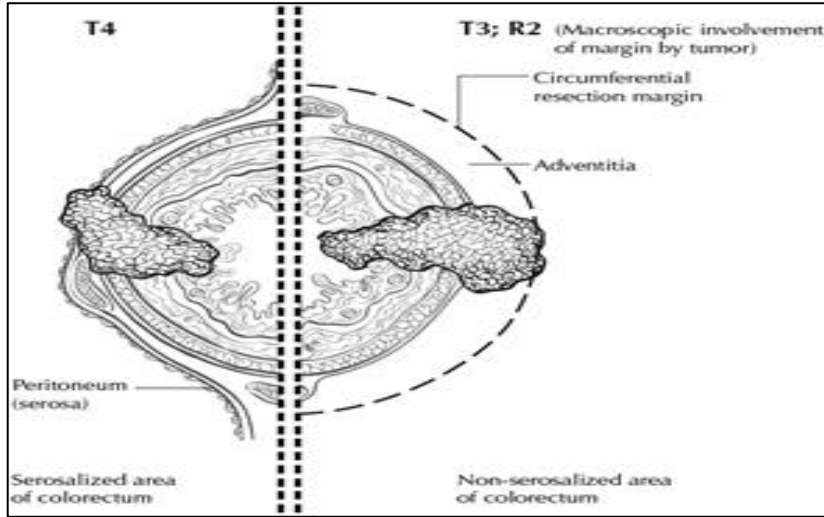
"m" son eki tek bir bölgede birden fazla primer tümörün varlığını gösterir ve parantez içinde kaydedilir: pT(m)NM.

"y" ön eki, sınıflandırmanın, ilk tedavi (yani neoadjuvan kemoterapi, radyasyon tedavisi veya hem kemoterapi hem de radyasyon tedavisi) sırasında veya sonrasında yapıldığı vakaları gösterir. ycTNM ya da ypTNM.

"r" ön eki, hastaliksız bir dönemden sonra tekrarlayan bir tümörü gösterir ve "r" öneki ile tanımlanır: rTNM.

pTis. Kolorektal karsinomlar için, karsinoma in situ (pTis), lamina propria ve/veya muskularis mukozaya invaze, ancak bu sınırı geçmeyen (intramukozal karsinom) tümörleri ifade eder.

pT4. Serozal yüzeyi (visseral periton) tutan veya komşu organları veya yapıları doğrudan invaze eden tümörler T4 kategorisindedir (26).



Şekil 5: Serozal ve non-serozal bölge invazyonuna göre değişen pT evreleri(26)

T-Primer Tümör:

pTx: Primer tümör değerlendirilemedi

pT0: Primer tümör kanıtı yok (saptanmadı)

pTis: Karsinoma in situ, intramukozal karsinom (lamina propria veya muskularis mukoza invazyonu var, muskularis mukozanın ötesine invazyon yok)

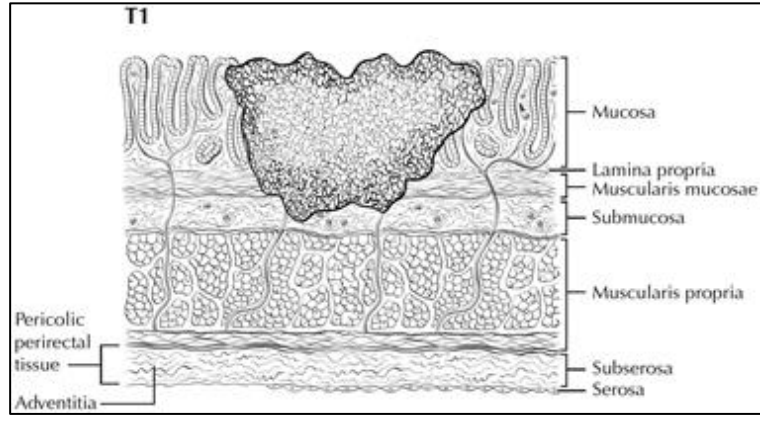
pT1: Tümör submukozaya invaze(tümör muskularis mukozayı aşmış fakatmuskularis propria invazyonu yok) (Şekil 6)

pT2: Tümör muskularis propriaya invaze (Şekil 7)

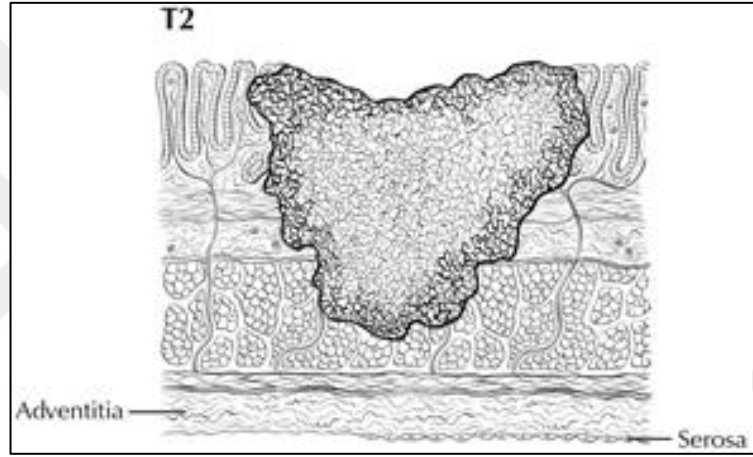
pT3: Tümör muskularis propriayı aşmış, subserozaya, perikolorektaldokulara invaze (Şekil 5 ve 8)

pT4: Tümör komşu organ veya yapılara veya visseral peritona invaze (Şekil 5)

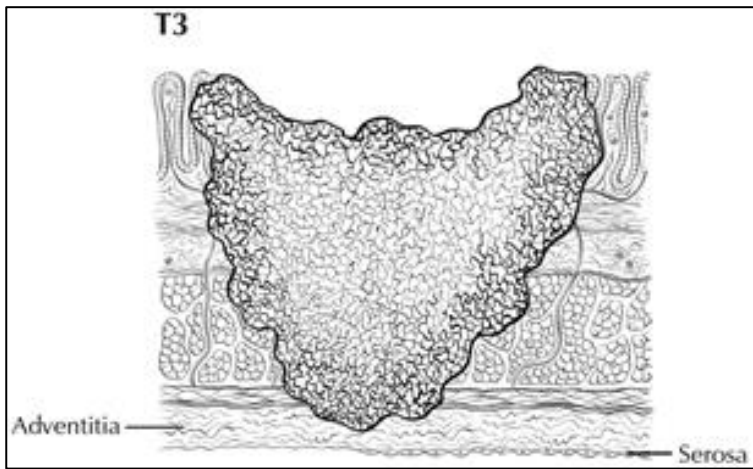
pT4a: Visseral peritona invazepT4b: Komşu organ veya yapılara invaze



Şekil 6: Tümörün submukozaya invazyonu (26)



Şekil 7: Tümörün muscularis propriaya invazyonu (26)



Şekil 8: Tümörün subserozaya invazyonu (26).

N-Bölgesel lenf nodları:

pNx: Bölgesel lenf nodları değerlendirilemedi.

pN0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok

pN1: Bir-üç bölgesel lenf nodunda metastaz

pN1a: Bir bölgesel lenf nodunda metastaz

pN1b: İki veya üç bölgesel lenf nodunda metastaz

pN1c: Bölgesel lenf nodu metastazı yok ancak subseroza, mezenter veya peritonla kaplı olmayan perikolik veya perirektal/mezorektal dokularda tümör nodülleri

pN2: Dört veya daha fazla bölgesel lenf nodunda metastaz

pN2a: Dört-altı arasında bölgesel lenf nodunda metastaz

pN2b: Yedi veya daha fazla lenf nodunda metastaz

M-Uzak metastaz:

pM0: Uzak metastaz yok

pM1: Bir veya daha fazla uzak bölge veya organ metastazı veya peritoneal metastaz

pM1a: Peritoneal metastaz olmadan bir organ ya da bölgeye metastaz

pM1b: Peritoneal metastaz olmadan iki veya daha fazla organ veya bölgeye metastaz

pM1c: Diğer organ veya bölge metastazı olan ya da olmayan peritoneal metastaz
(4,26)

2.8.2.12. Metastaz

Lenf nodu metastazı dahil edilmezse KRK hastalarının %20'si tanı anında metastatiktir. Metastatik hastalar daha önce tedavi edilemez olarak görülüyorken tedavideki sürekli gelişmelerin yardımıyla hayatta kalma oranları arttı. Fakat yine de karaciğer veya akciğer metastazı olan hastalar nadiren 5 yılı aşkın süre hayatta kalabilir. Metastatik KRK'lerin sağkalım üzerindeki olumsuz etkisi göz önüne alındığında, KRK'i erken tespit etmek hayati önem taşımaktadır (55).

Kolondan ve rektumun proksimal kısımlarından kan, portal sistem yoluyla karaciğere boşaltılır. Karaciğerden sonraki organ kalp yoluyla akciğerlerdir. Rektumun distal kısımları karaciğeri aşar ve ilk karşılaşılan organ akciğerlerdir. Anatomik konum ve histolojik alt tip, metastaz bölgesini de etkiler. Rektal karsinomlar toraks, beyin ve kemiğe metastaz yaparken, kolon kanserleri peritona müsinöz ve taşlı yüzük alt tipleri ile kolay yayılır (55).

Tedavi edilmediği takdirde karaciğer metastazı olan hastaların ortalama ömrü 9 aydır. Karaciğer metastazlarına yönelik cerrahi yaklaşımlarda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir ve karaciğer metastazlarının rezeksiyonu, metastazektomi yapılabilen hastalarda %35 ila %55 genel 5 yıllık sağkalım oranı ve %25'inde 10 yıldan fazla hayatta kalma oranı ile iyi sonuçlar alınmıştır. Ancak, bu oranlar karaciğer metastazı olan hastaların sadece %10 ila %20'sinde, cerrahi olarak kabul edilebilir adaylar için geçerlidir. Metastazektomilerde raporlanması gereken bazı önemli faktörler vardır: metastazın sayısı ve boyutu, cerrahi sınıra uzaklığı, lenfatik, venöz veya perinöral invazyon varlığı, safra yolları invazyonu, tümörde psödokapsül varlığı, neoadjuvan kemoterapiye yanıt durumu (24).

Karaciğerden sonra ikinci en sık non-nodal metastatik bölge peritondur. Tanı anında hastaların %10'unda peritoneal metastaz vardır. Metastazlar periton boşluğu içindeki periton sıvısı yoluyla yayılabilir. Müsinöz adenokarsinomlar, mukus üretimi ile periton boşluğunda yayılmayı kolaylaştırabilir (55). Kolorektal peritoneal karsinomatozis kötü prognoza sahiptir. Tedavi edilmediği takdirde ortalama sağkalım süresi sadece 6 aydır. Peritoneal karsinomatozis için yüksek risk taşıyan faktörler

vardır: Evre pT4, pT3 müsinöz veya taşlı yüzük hücreli karsinom, perforasyon veya fistül oluşumu ve pozitif cerrahi sınır (24).

2.8.2.13. Tedavi

Kolon ve rektum kanseri olan hastalar tümörün evresine bağlı olarak kemoterapi olsun ya da olmasın tümörün rezeksiyonu ile tedavi edilir. Tümörün eksize edilebileceği düşünülüyorsa, tıbbi bir kontrendikasyon da olmadığı sürece tüm hastalara rezeksiyon yapılır (20,24).

Karaciğer ve akciğerde metastatik lezyonlar bazı şartlara bağlı olarak eksize edilebilir. Primer tümör, kür için rezeke edilmiş, ya da edilecekse, metastatik lezyonun tamamının rezeke edilmesi mümkünse ve organ, rezeksiyon sonrası fonksiyonlarını devam ettirebilecek durumdaysa metastazektomi yapılabilir (20,24).

Tümör küçük ve iyi diferansiye ise, abdominoperitoneal rezeksiyon için de uygun değilse bazen lokal rezeksiyon tedavileri uygulanabilir. Bu rezeksiyon materyalinde mikroasiner patern, indiferansiye hücreler, damar invazyonu ve tümör tomurcuklanması varsa tedaviye adjuvan kemoterapi eklenmelidir (24).

Kemoterapi daha çok rektal karsinomlar için kullanılır. 1950'lerden bu yana floropirimidinler KRK kemoterapisinin temel dayanağı olmuştur. (intravenöz 5-florourasil [5-FU] ve lökovorin[folinik asit]). Daha sonra, ileri evre hastalarda fayda gösteren iki yeni sitotoksik ajan bulunmuştur. Bir topoizomeras inhibitörü olan irinotekan, ikincisi ise, üçüncü nesil bir platin bileşiği olan oksaliptatin. Genellikle bu ilaçların bir kombinasyonu şeklinde tedavi verilir. Örneğin, FOLFOX protokolü, FOLFinik asit + 5-Fluorourasil + Oksaliplatinden oluşur; FOLFIRI protokolü, FOLFinik asit + 5 fluorourasil +IRInotekan'dan oluşur, ve FOLFOXIRI, dört ilacın tümünü içerir) (24).

İn vitro çalışmalar, MSI-H tümörlerin 5-Florourasil (5-FU) ve sisplatin gibi çeşitli kemoterapötik ajanlara direnç gösterdiğini ortaya koymaktadır (56,57) MSI'nın kemoterapi belirleyicisi olarak kullanımına ilişkin klinik veriler çelişkilidir, ancak çoğu çalışma MSI-H tümörlerin 5-FU'ya zayıf yanıt verdiğini göstermektedir

(58,59) Yakın zamanda yapılan bir meta-analiz, 5-FU bazlı kemoterapi kullanımından bağımsız olarak nüksüz sağkalımda fark olmadığını göstermiştir (60). Başka bir meta-analiz, MSS tümörlü hastalarda 5-FU bazlı kemoterapiye daha iyi yanıt alındığını doğrulamıştır (61). MSI-H tümörlerin olumsuz patolojik özelliklerine rağmen, genel sağkalımları daha iyidir (61).

Hedefe yönelik terapötik ajanların eklenmesi, dirençli veya ilerleyici metastatik hastalığı olan hastalarda faydalı bulunmuştur. Cetuximab ve panitumumab, neoplazinin ilerlemesinde önemli olduğu gösterilen, apoptotik yolların, hücre büyümesi ve proliferasyonunun aşağı akış sinyalini inhibe eden anti-EGFR antikorlarıdır. Her ikisi de KRAS mutasyonlarını içermeyen ileri evre KKK'lerde oldukça etkilidir. Bu nedenle, anti-EGFR tedavisine başlanmadan önce primer tümörde veya metastazda KRAS mutasyon analizi gereklidir. Regorafenib, KRAS mutant tümörler dâhil diğer tedavilere dirençli metastatik tümörlerde etkili olduğu gösterilen multikinaz inhibitörüdür (24).

Rektal karsinomlarda postoperatif kemoterapi ile pelvise radyasyon tedavisinin birlikte uygulanmasının lokal rekürrens olasılığını azalttığı ve sağkalımı uzattığı gösterilmiştir (20).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından, 25.03.2021 tarihinde 241 karar numaralı belge ile izin alınmıştır.

3.1. Çalışma Grubunun Tanımlanması

Çalışmamız retrospektif bir çalışma olup arşiv materyallerinin taranması ile gerçekleştirilmiştir. Serimize Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2018-2022 yılları arasında adenokarsinom tanısı almış, MMR genlerinin İHK'sal çalışması yapılmış, kolon ve rektuma ait 224 adet endoskopik biyopsi ve rezeksiyon materyali ve ayrıntılı rapor durumu bilinen, klinikopatolojik verilerine ulaşılan konsültasyon vakaları dahil edildi.

3.2. Klinikopatolojik Verilerin Toplanması Ve Değerlendirilmesi

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD arşivlerinden 224 adet KRK olgusuna ait Hematoksilen-Eozin (H&E) boyalı lamalar ile İHK'sal olarak MMR genleri çalışılan lamalar çıkarıldı. Değerlendirme, %10 nötral tamponlu formalin ile 16-24 saat tespit sonrası rutin doku takibi yapılan, parafine gömüldükten sonra 4 mikron kalınlığında kesilerek Hemotoksilen- eosin (HE) ile boyanan kesitler ile yapıldı. Değerlendirmelerin tamamı ZEISS marka, Primo Star model mikroskop ile yapıldı.

Hastaların genel özellikleri olan histolojik alt tip, cinsiyet ve yaş, klinikopatolojik bulguları olan pTNM, yerleşim yeri, tümörün en büyük çapı ve polip varlığı, histomorfolojik bulguları olan diferansiasyon, moleküler KRAS, NRAS ve BRAF sonuçları Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastane Bilgi ve Yönetim Sistemi (HBYS)'nden ve Tıbbi Patoloji arşiv kayıtlarından elde edildi. Bu veriler arşiv lamalarının tekrar değerlendirilmesi sırasında elde edilen verilerle karşılaştırıldı. İlk adenokarsinom tanısını merkezimizde almayan veya konsültasyon ile gelen hastaların verilerine, E-nabız üzerinden ya da konsültasyona gelirken getirdiği ilk raporu ile ulaşıldı. Sağkalıma ait veriler HBYS üzerinden ulaşılan Kimlik Paylaşımı Sistemi ile elde edildi. Vefat eden hastaların ilk tanı tarihi ile vefat tarihi arasındaki zaman, ay cinsinden değerlendirildi. Sağ olan hastaların sağkalım bilgisi ise tanı

anından son kontrol tarihi olan 2023 Kasım'ına kadar geçen zamanın ay cinsinden değerlendirilmesiyle elde edildi.

Tümör alt tipi, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)-2019 verilerine göre değerlendirildi. Müsinöz adenokarsinom ve taşlı yüzük hücreli adenokarsinom tanıları, tümörün en az %50'sinde bu komponentleri içerdiğinde kullanıldı. Zayıf koheziv tanısı, izole halde ya da küçük agregatlar şeklinde tümör hücreleri olup, taşlı yüzük hücresi morfolojisi içermediğinde kullanıldı (4).

Diferansiyasyon ve gradeleme için College of American Pathologists (CAP) protokolü kullanıldı. %95'in üzerinde gland formasyonu bulunan tümörler iyi diferansiye, %50 ile %95 arasında gland formasyonu bulunan tümörler orta derecede diferansiye, %50'nin altında gland formasyonu içeren tümörler de az diferansiye olarak sınıflandırıldı (43).

Tümör çapı ve yaş kategorize edilerek değerlendirildi. Tümörün en büyük çapı, 2 cm'nin altında, 2 ile 5 cm arasında ve 5 cm üzerinde olacak şekilde üç kategoriye ayrıldı. Yaş ise iki farklı şekilde kategorize edildi. Birincisinde 40 yaş altı, 40 ile 59 yaş aralığı ve 60 yaş ve üstü olacak şekilde, ikincisinde 50 yaş altı, 50 yaş ve üstü olacak şekilde kategorize edildi. Tümör lokalizasyonu için DSÖ 2019'da belirtilen sağ kolon, sol kolon ve rektum şeklinde 3'lü sistem kullanıldı. Buna göre çekum, çıkan kolon, hepatik fleksura ve transvers kolon için sağ kolon, splenik fleksuradan sigmoid kolona kadar sol kolon, ve rektum olarak sınıflandırıldı(4).

Patolojik evreleme için, AJCC (American Joint Committee on Cancer)'nin 8. basım TNM evrelendirme sistemi kullanıldı (4,43).

Tümör nodüllerinde (depozitleri), rezidü lenfoid doku bulunmayan perikolonik yağ doku içerisindeki tümöral odaklar seçildi (43).

Tümör tomurcuklanmasının değerlendirilmesinde Uluslararası Tümör Tomurcuklanması Konsensus Konferansı (International Tumor Budding Consensus Conference, ITBCC) 2016 kriterleri kullanılmış olup 3'lü sınıflandırma yapıldı. 0.785 mm²'de (bazı mikroskoplarda 20'lik büyütme karşılık gelir) 0-4 tomurcuk

düşük, 5-9 tomurcuk orta, 10 ya da daha fazla tomurcuk görülenler yüksek olarak sınıflandırıldı (43,54).

Tümörü infiltre eden lenfositler TIL-düşük ve TIL-yüksek olacak şekilde kategorize edildi. Tümörün invazyon sınırında 40'lık objektifle bakılan 5 alandan en fazla olan lenfosit sayısı geçerli sayıldı. Buna göre herhangi bir büyük büyütme alanında tümöral odakta 3'ün altındaki lenfosit sayısı düşük, 3 ve üzeri lenfosit sayısı yüksek olarak kategorize edildi (46).

Kirli nekroz, 40'lık objektife iki veya daha fazla odakta belirgin inflamatuvar hücreler ve hücre debrisleri görüldüğünde pozitif kabul edildi (48).

Stromal yanıt olan desmoplazi üç kategoride incelendi: Matür, intermediate ve immatür. İmmatür desmoplazi, tümörün invazyon sınırında en az bir büyük büyütme alanında (x40) miksoid stromanın varlığı olarak tanımlandı; miksoid stroması x40'lık objektif alanından daha küçük olan ve tümörün invazyon sınırında keloid benzeri kollajenlerin varlığında intermediate desmoplazi, keloid benzeri kollajen veya miksoid stroması olmayanlar matür desmoplazi olarak sınıflandırıldı (44,50).

Tümör-stroma oranı, stromanın seçilen alanda %50'nin üstünde olup olmamasına göre, stroma yüksek ya da stroma düşük olarak kategorize edildi. Değerlendirme yapılırken 10'luk büyütme alanı tümör ile dolu olan, tüm kenarlarda devam eden odaklar seçildi (49).

Tümörün büyüme paterni, infiltratif ya da itici olarak sınıflandırıldı (45).

3.3. İmmünohistokimyasal İnceleme

Daha önceden İHK'sal çalışması tamamlanmış lamalar arşivden çıkarıldı. Laboratuvarımızda MMR genlerinin İHK ile çalışılması tam otomatik İHK boyama cihazı olan Ventana BenchMark Ultra ile yapılmaktadır. Deparafinizasyon ve antijen açığa çıkarma işlemleri de bu cihazda otomatik olarak yapılmaktadır. Bu cihazda biyotinsiz, HRP multimer bazlı, hidrojen peroksit substrat ve 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorit (DAB) kromojeni içeren (ultraView™ UniversalDAB Detection Kit) kullanılır. Primer antikorlar otomatik olarak damlatılarak MLH-1 48 dakika, MSH-2 ve MSH-6 32 dakika ve PMS-2 44 dakika inkübe edilir. Zıt boyaması hematoksilin

ve Bluing Reagent ile yapılır. Bu aşamadan sonra işlemler manuel ilerler. Dehidratasyon, ksilen ile şeffaflandırılma ve lamel kapatılması ile işlem tamamlanır. Kullanılan primer antikolar şu şekildedir: Ventana anti-MSH2 fare monoklonal antikoru (G219-1129), Ventana anti-MSH6 tavşan monoklonal antikoru (SP93), Ventana anti-PMS2 fare monoklonal antikoru (A16-4) ve Ventana anti-MLH1 fare monoklonal antikoru (M1).

Pozitif kontrol olarak dört antikor için destromal hücreler, lenfositler ve varsa normal kolon mukozası kullanıldı. Nükleer boyanmalar pozitif boyanma olarak kabul edildi. Tümörde nükleer boyanma görülmemesi “Mismatch Repair Gen” proteinlerinde “kayıp” olarak değerlendirildi. Noktasal nükleer boyanma da ekspresyon kaybı olarak değerlendirildi. Tekrar değerlendirme sırasında kontrol dokusu içermeyen veya kontrol olarak kullanılacak stromal hücreler ve lenfositlerde boyanma yoksa, olgular çalışma dışı bırakıldı. Aynı kişiye ait birden fazla rapor varlığında rezeksiyon öncesi, ya da tedavi öncesi biyopsilerine yapılan İHK çalışma geçerli sayıldı.

3.4. Moleküler Çalışma

Hastane sisteminden KRAS, NRAS ve BRAF çalışılıp çalışılmadığı incelendi. Çalışılmışsa hangi kodona ait olduğu belirlendi.

Laboratuvarımızda PCR çalışması için parafin bloktan hazırlanan 4 adet 5µ kalınlığında boyasız kesitten Qiagen GeneRead DNA FFPE KIT, Diatech pharmacogenetics easy KRAS/NRAS/BRAF DNA ekstraksiyon kiti kullanılarak genomik DNA elde edilir. Genomik DNA real time-PCR yöntemi ve Qiagen Rotor-Gene Q cihazı ile analiz edilir, Tablo 2’de belirlenen bölgeler için mutasyon analizine alınır.

Tablo 2. KRAS, NRAS ve BRAF genlerinin çalışılan ekzonları

KRAS	NRAS	BRAF
Ekzon 2: G12A	Ekzon 2: G12x	Ekzon 15: V600E
Ekzon 2: G12D	Ekzon 2: G13x	Ekzon 15: V600K
Ekzon 2: G12V	Ekzon 3: A59x	Ekzon 15: V600D
Ekzon 2: G12R	Ekzon 3:Q61H	Ekzon 15: V600R
Ekzon 2: G12S	Ekzon 3:Q61K	
Ekzon 2: G12C	Ekzon 3:Q61R	
Ekzon 2: G13D	Ekzon 3:Q61L	
Ekzon 3: A59x	Ekzon 4: K117x	
Ekzon 3:Q61x	Ekzon 4: A146x	
Ekzon 4: K117x		
Ekzon 4: A146x		

3.4 İstatistiksel Analiz

Araştırma verilerimizin istatistiksel değerlendirmesinde IBM SPSS 21.0 for windows istatistik paket programı kullanıldı. Ölçümsel değişkenler ortalama \pm standart sapma (SD) ile, kategorik değişkenler sayı ve yüzde (%) ile sunuldu. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığına Kolmogrov Smirnov testi ile bakıldı. Nitel değişkenlerin karşılaştırılmasında Pearson Chi-kare (χ^2) testi, Yates Chi-kare (χ^2) testi ve Fisher Chi-kare (χ^2) testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişki için Pearson/spearman korelasyon analizi yapıldı. Hastalısız Sağ kalım sürelerine Sağkalım analizi için Kaplan Meier testi uygulandı. Hipotezler çift yönlü alınmış olup, $p \leq 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı sonuç kabul edildi.

4. BULGULAR

Diyarbakır Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na 2018-2022 yılları arasında gönderilmiş, KRK tanısı almış 224 adet vaka çalışmaya alındı.

Çalışmamızdaki hastaların yaş, cinsiyet ve histolojik alt tip ile MMR durumlarının karşılaştırılması Tablo 3'de verilmiştir.

4.1. Genel Özellikler

Tablo 3. Olguların yaş, cinsiyet ve histolojik alt tipi ile MSI durumu karşılaştırması

Demografik ve klinikopatolojik bulgular		n(%)			p değeri
		MMR Stabil n(%)	MMR Defektif n(%)	Toplam n(%)	
Yaş aralığı-1	<40	26 (15,8)	10 (16,9)	36 (16,1)	>0,05
	40-59	86 (52,1)	26 (44,1)	112 (50)	
	≥60	53 (32,1)	23 (39)	76 (33,9)	
Yaş aralığı-2	<50	62 (37,6)	20 (33,9)	82 (36,6%)	>0,05
	≥50	103 (62,4)	39 (66,1)	142 (63,4)	
Cinsiyet	Erkek	89 (53,9)	43 (72,9)	132 (58,9)	<0,05
	Kadın	76 (46,1)	16 (27,1)	92 (41,1)	
Histolojik Alt Tip	Adenokarsinom-NOS	137 (85,1)	52 (91,2)	189 (86,7)	>0,05
	Müsinöz Adenokarsinom	17 (10,6)	4 (7)	21 (9,6)	
	Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom	6 (3,7)	0 (0)	6 (2,8)	
	Zayıf Kohezif İçeren	1 (%0,6)	1 (%1,8)	2 (%0,9)	

4.1.1. Histolojik Alt Tip

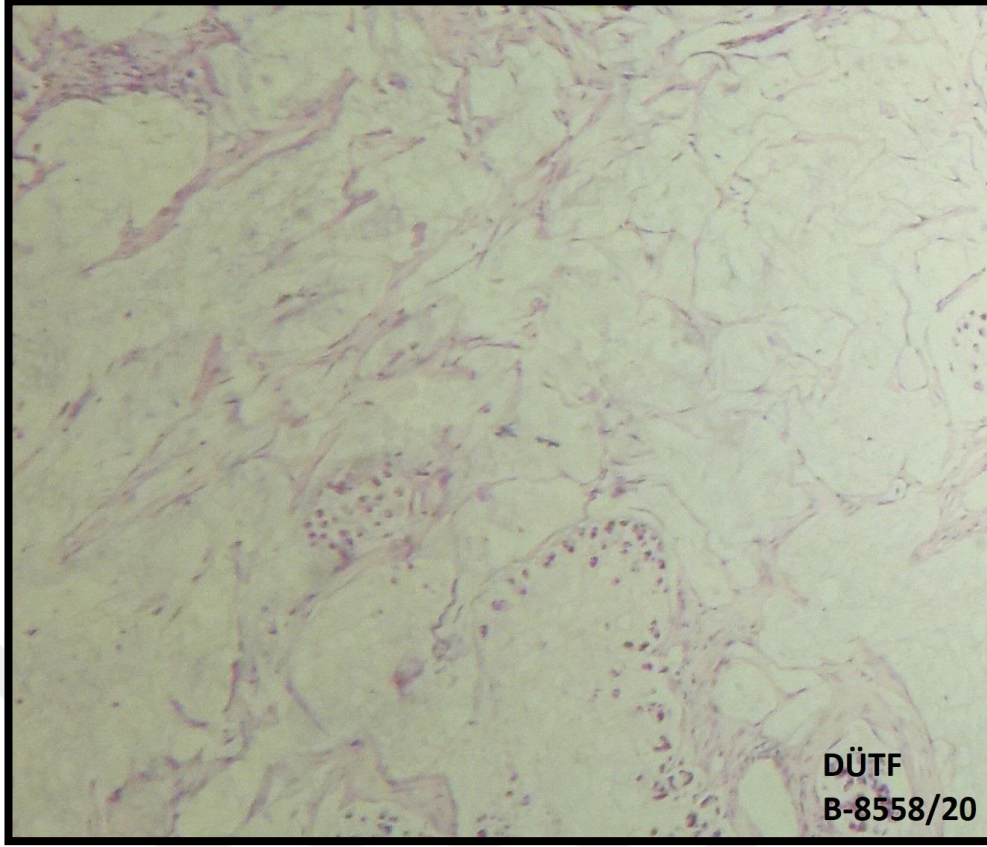
WHO 2019'a göre yapılan sınıflamada olguların 189'u (%86,7) Adenokarsinom-NOS, 21'i (%9,6) Müsinöz Adenokarsinom, 6'sı (%2,8) Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom, 2'si (%0,9) Zayıf Koheziv İçeren olarak sınıflandırıldı.

Bu olguların tamamı MMR genleri açısından değerlendirildiğinde MMR Stabil olguların 137'si (%85,1) Adenokarsinom-NOS, 17'si (%10,6) Müsinöz Adenokarsinom (Şekil 9), 6'sı (%3,7) Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom ve 1'i (%0,6) Zayıf Koheziv İçeren grubundaydı. MMR Defektif olguların 52'si (%91,2) Adenokarsinom-NOS, 4'ü (%7) Müsinöz Adenokarsinom, ve 1'i(%1,8) Zayıf Koheziv İçeren grubundaydı. Histolojik alt tipler kendi içinde değerlendirildiğinde Adenokarsinom-NOS olgularının 137'si (%72,4) MMR stabil, 52'si(%27,6) MMR defektif, Müsinöz Adenokarsinom olgularının 17'si(%80,9) MMR stabil, 4'ü(%19,1) MMR defektif, Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom olgularının 6'sı (%100) MMR stabil, Zayıf Koheziv İçeren olguların 1'i(%50) MMR stabil, 1'i(%50) MMR defektifti.

Histolojik alt tipler ile MSI durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p>0,05$).

4.1.2. Cinsiyet

Olgularımızın 132'si (%58,9) erkek, 92'si (%41,1) kadındı. Bu olgular MMR genleri açısından değerlendirildiğinde MMR stabil olguların 89'u (%53,9) erkek, 76'sı (%46,1) kadındı. MMR defektif olguların ise 43'ü (%72,9) erkek, 16'sı (%27,1) kadındı. Cinsiyet ile MSI durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlendi ($p<0,05$).



Şekil 9: Müsinöz Adenokarsinom (H&E, x100)

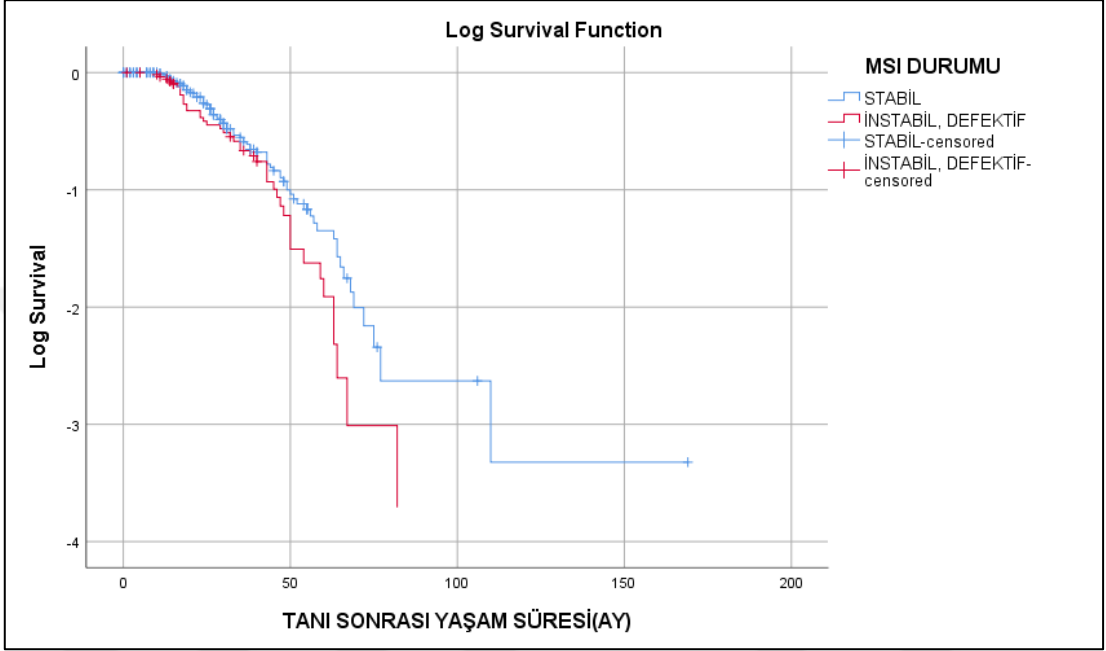
4.1.3. Yaş

Olguların en genci 21, en yaşlısı 85 yaşında olup, yaş ortalaması $55 \pm 13,63$ olarak hesaplanmıştır. Ayrıca olgular 2 ayrı yaş kategorisine göre değerlendirildi. Kategori 1'e göre olguların 36'sı (%16,1) 40 yaş altında, 112'si (%50) 40-60 yaş arasında, 76'sı (33,9) 60 yaş üstündedir. Kategori 2'ye göre olguların 82'si (%36,6) 50 yaş altındayken, 142'si (%63,4) 50 yaşın üstündedir.

Bu olgular MMR genleri açısından değerlendirildiğinde Yaş kategorisi 1'e göre MMR Stabil ve Defektif olguların sırasıyla 26'sı (%15,8) ve 10'u (%16,9) 40 yaşın altında, 86'sı (%52,1) ve 26'sı (%44,1) 40-59 yaş arasında, 53'ü (%32,1) ve 23'ü (%39) 60 yaş ve üzerindedir. Yaş kategorisi 2'ye göre MMR Stabil ve Defektif olguların sırasıyla 62'si (%37,6) ve 20'si (%33,9) 50 yaşın altında, 103'ü (%62,4) ve 39'si (%66,1) 50 yaş ve üzerindedir. Yaş ile MSI durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p > 0,05$).

4.1.4. Sağkalım

Ortalama sağkalım tanı sonrası $44,46 \pm 2,73$ ay, MMR stabil hastalarda $47,70 \pm 3,73$ ay ve MMR defektif hastalarda $38,71 \pm 4,43$ ay olarak hesaplandı (Şekil 10).



Şekil 10. MSI durumu ve sağkalım arasındaki ilişki (Kaplan-Meier analizi)

MMR stabil hastalarda tanı sonrası en çok yaşayan 169 ay, MMR defektif hastalarda ise 96 aydı. MSI durumu ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p > 0,05$).

4.2. Klinikopatolojik Bulgular

Olguların pTNM, tümörün yerleşim yeri, tümörün en büyük çapı ve polip varlığı parametrelerinin MSI durumları ile karşılaştırılması Tablo 4'de sunulmuştur.

Tablo 4. Olguların klinikopatolojik verilerinin, MSI durumları ile karşılaştırılması

Bulgular		MMR Stabil n(%)	MMR Defektif n(%)	Toplam n(%)	p değeri
pT	T1	3 (3)	1 (2,1)	4 (2,7)	>0,05
	T2	2 (2)	4 (8,3)	6 (4,1)	
	T3	67 (67,7)	29 (60,4)	96 (65,3)	
	T4	26 (26,3)	14 (29,2)	40 (27,2)	
pN	N0	15 (28,3)	6 (40)	21 (30,9)	>0,05
	N1	34 (64,2)	9 (60)	43 (63,2)	
	N2	4 (7,5)	0 (0)	4 (5,9)	
pM	M0	63 (50)	32 (76,2)	95 (56,5)	=0,05
	M1	63 (50)	10 (23,8)	73 (43,5)	
Tümör yerleşimi	Sağ kolon	34 (25,6)	26 (61,9)	60 (34,3)	<0,05
	Sol kolon	48 (36,1)	10 (23,8)	58 (33,1)	
	Rektum	51 (38,3)	6 (14,3)	57 (32,6)	
Tümörün en büyük çapı	0-2 cm	3 (3,4)	1 (2,9)	4 (3,3)	
	2-5 cm	42 (47,7)	6 (17,1)	48 (39)	

	≥5 cm	43 (48,9)	28 (80)	71 (57,7)	<0,05
Polip	Yok	89 (75,4)	30 (76,9)	119 (75,8)	>0,05
	Var	29 (24,6)	9 (23,1)	38 (24,2)	

4.2.1. TNM

Olgularımızın 4'ü (%2,7) T1 evresinde, 6'sı (%4,1) T2 evresinde, 96'sı (%65,3) T3 evresinde ve 40'ı (%27,2) T4 evresindedir. MMR stabil olguların 3'ü (%3) T1, 2'si (%2) T2, 67'si (%67,7) T3 ve 26'sı (%26,3) T4 evresindeyken MMR defektif olguların 1'i (%2,1) T1, 4'si (%8,3) T2, 29'u (%60,4) T3 ve 14'ü (%29,2) T4 evresindedir. MSI durumu ile T evrelemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p>0,05$).

Lenf nodu metastazı açısından olgularımızın 21'i (%30,9) N0 evresinde, 43'ü (%63,2) N1 evresinde ve 4'ü (%5,9) N2 evresindedir. MMR stabil olguların 15'i (%28,3) N0, 34'ü (%64,2) N1 ve 4'ü (%7,5) N2 evresindeyken MMR defektif olguların 6'sı (%40) N0, 9'u (%60) N1 evresindedir. MSI durumu ile N evrelemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p>0,05$).

Hastalarımızın 95'inde (%56,5) metastaz izlenmezken, 73'ü (%43,5) metastatiktir. MMR stabil olguların 63'ü (%50) M0 evresinde, 63'ü (%50) M1 evresindedir. MMR defektif olguların 32'si (76,2) M0 evresinde, 10'u (%23,8) M1 evresindedir. MSI durumu ile M evrelemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,05$).

47 hastada karaciğer, 27 hastada akciğer, 4 hastada over, 6 hastada periton-plevra, 11 hastada kemik, 7 hastada beyin, 2 hastada sürrenal, 1 hastada mesane, 1 hastada pankreas, 1 hastada saçlı deri, 1 hastada vajen metastazı izlendi.

4.2.2. Yerleşim Yeri

Olgularımızın 60'ı (%34,3) sağ kolon, 58'i (%33,1) sol kolon, 57'si (%32,6) ise rektum yerleşimlidir. MMR stabil olguların 34'ü (%25,6) sağ kolon, 48'i (%36,1) sol kolon ve 51'i (%38,3) rektum yerleşimlidir. MMR defektif olguların 26'sı (%61,9) sağ kolon, 10'u (23,8) sol kolon ve 6'sı (%14,3) rektum yerleşimlidir. Tümör yerleşimi ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (**p<0,05**).

4.2.3. Tümörün En Büyük Çapı

Olgularımızın 4'ü (%3,3) 2 cm'nin altında, 48'i (%39) 2 ile 5 cm arasında ve 71'i (%57,7) 5 cm'nin üzerindedir. MMR stabil olguların 3'ü (%3,4) 2 cm'nin altında, 42'si (%47,7) 2 ile 5 cm arasında ve 43'ü (%48,9) 5 cm'nin üzerindedir. MMR defektif olguların 1'i (%2,9) 2 cm'nin altında, 6'sı (%17,1) 2 ile 5 cm arasında ve 28'i (%80) 5 cm'nin üzerindedir. Tümör boyutu ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (**p<0,05**). Bizim çalışmamızda MSI olguların 28'i (%80) 5 cm ve üzerindeyken, MSS olguların 43'ü (%48,9) 5 cm ve üzerindeydi.

4.2.4. Polip Varlığı

Olgularımızın 119'unda (%75,8) eşlik eden polip izlenmezken, 38'inde (%24,2) polip görüldü. MMR stabil olguların 89'unda (%75,4) polip izlenmedi, 29'unda (%24,6) izlendi. MMR defektif olguların 30'unda (%76,9) polip izlenmedi, 9'unda (%23,1) görüldü. Polip görülen 38 vakanın 5'i FAP tanılı, 1'i Peutz Jeghers Sendormu tanılıydı. Polip varlığı ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi (**p>0,05**).

4.3. Histomorfolojik Bulgular

Olgulara ait histomorfolojik bulguların MSI durumları ile karşılaştırılması Tablo 5’de sunulmuştur.

Tablo 5. Histomorfolojik bulguların, MSI durumları ile karşılaştırılması

Histomorfolojik Bulgular		n(%)			P değeri
		MMR Stabil n(%)	MMR Defektif n(%)	Toplam n(%)	
Diferansiasyon	İyi diferansiye	36 (22,4)	12 (21,1)	48 (22)	>0,05
	Orta derecede diferansiye	101 (62,7)	34 (59,6)	135 (61,9)	
	Az diferansiye	24 (14,9)	11 (19,3)	35 (16,1)	
Tümör nodülleri	Yok	112 (94,1)	46 (90,2)	158 (92,9)	>0,05
	Var	7 (5,9)	5 (9,8)	12 (7,1)	
Tümör tomurcuklanması	0-4 adet	68 (56,2)	35 (68,6)	103 (59,9)	<0,05
	5-9 adet	42 (34,7)	8 (15,7)	50 (29,1)	
	>9	11 (9,1)	8 (15,7)	19 (11)	
İntratümöral lenfositik yanıt	TILs-Düşük	114 (80,9)	44 (80)	158 (80,6)	>0,05
	TILs-Yüksek	27 (19,1)	11 (20)	38 (19,4)	
Kirli nekroz	Yok	88 (63,3)	34 (61,8)	122 (62,9)	

	Var	51 (36,7)	21 (38,2)	72 (37,1)	>0,05
Desmoplazi türü	İmmatür	43 (39,4)	8 (15,1)	51 (31,5)	<0,05
	İntermediate	13 (11,9)	15 (28,3)	28 (17,3)	
	Matür	53 (48,6)	30 (56,6)	83 (51,2)	
Tümör-stroma oranı	Stroma-düşük	76 (71)	48 (90,6)	124 (77,5)	=0,05
	Stroma-yüksek	31 (29)	5 (9,4)	36 (22,5)	
Tümörün büyüme paterni	İtici	33 (32,7)	23 (43,4)	56 (36,4)	>0,05
	İnfiltratif	68 (67,3)	30 (56,6)	98 (63,6)	

4.3.1. Diferansiasyon

Olgularımızın 48'i (%22) iyi diferansiye, 135'i (%61,9) orta derecede diferansiye ve 35'i (%16,1) az diferansiyedir. MMR stabil olguların 36'sı (%22,4) iyi diferansiye, 101'i (%62,7) orta derecede diferansiye ve 24'ü (%14,9) az diferansiyedir. MMR defektif olguların 12'si (%21,1) iyi diferansiye, 34'ü (%59,6) orta derecede diferansiye ve 11'i (%19,3) az diferansiyedir. Diferansiasyon derecesi ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p>0,05$).

4.3.2. Tümör Nodülleri

Olgularımızın 158'inde (%92,9) tümör nodülleri izlenmezken, 12'sinde (%7,1) vardı. MMR stabil olguların 112'sinde (%94,1) tümör nodülleri yok, 7'sinde (%5,9) varken, MMR defektif olguların 46'sında (%92,9) yok, 5'inde (%9,8) vardı. Tümör nodüllerinin varlığı ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p>0,05$).

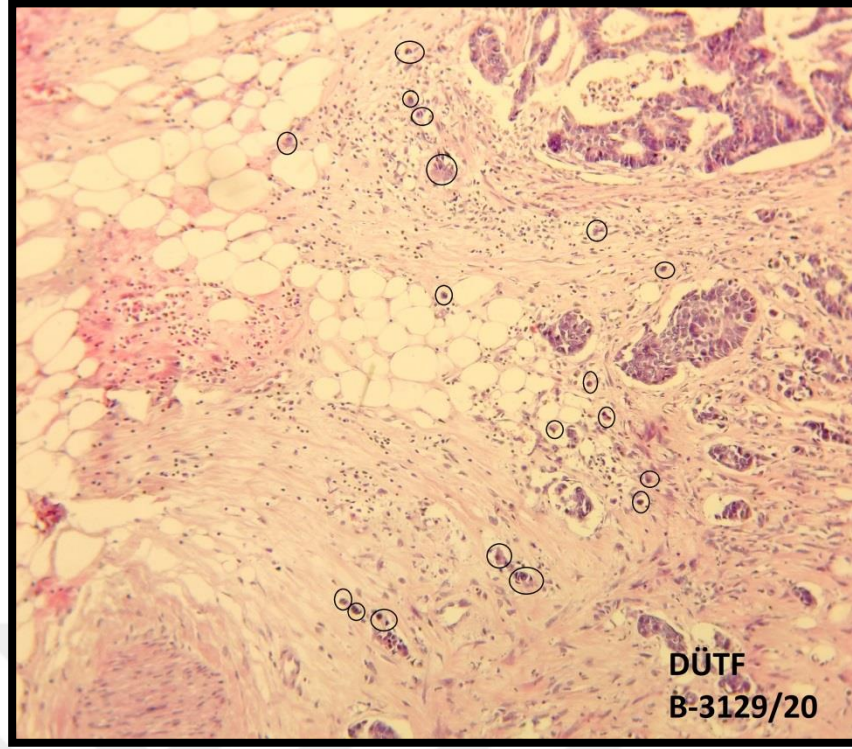
4.3.3. Tomurcuklanma

Olgularımızın tümör tomurcuklanma derecesi 103'ünde (%59,9) düşük, 50'sinde (%29,1) orta, 19'unda (%11) yüksekti (Şekil 11). MMR stabil olguların 68'i (%56,2) düşük, 42'si (%34,7) orta, 11'i (%9,1) yüksek dereceliyken, MMR defektif olguların 35'i (%68,6) düşük, 8'i (%15,7) orta, 8'i (%15,7) yüksek dereceliydi.

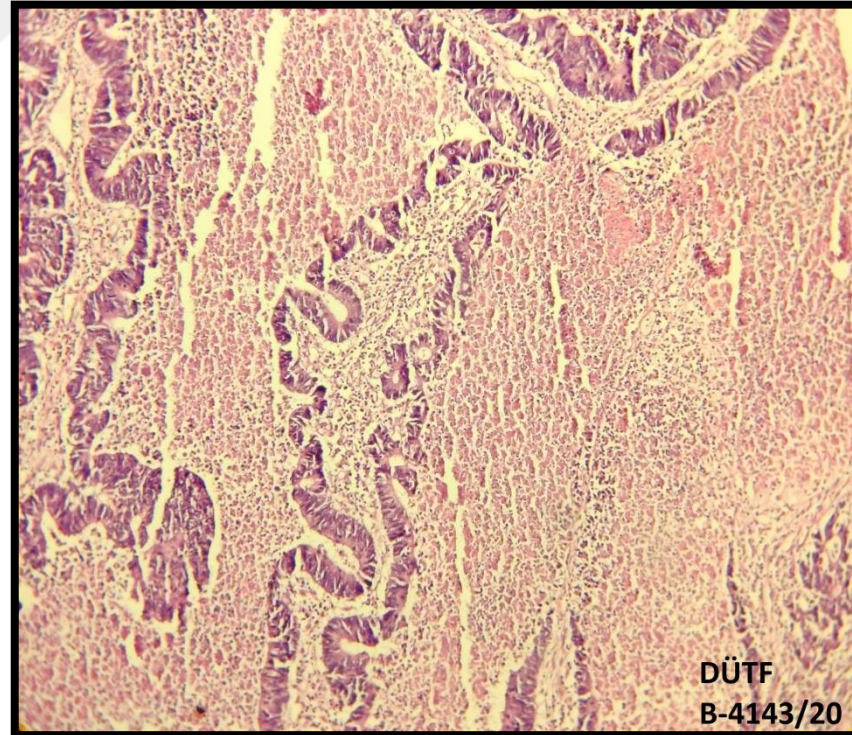
Tümör tomurcuklanma derecesi ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p<0,05$).

4.3.4. Tümörü İnfiltrate Eden Lenfositler

Tümörü infiltre eden lenfositlerin derecesi olgularımızın 158'inde (%80,6) düşük, 38'inde (%19,4) yüksekti. MMR stabil olguların 114'ü (%80,9) düşük, 27'si (%19,1) yüksek dereceliyken, MMR defektif olguların 44'ü (%80) düşük, 11'i (%20) yüksek dereceliydi. Tümörü infiltre eden lenfositlerin derecesi ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 11: Adenokarsinom-NOS vakasında tümöral tomurcuklanma (H&E, x100)



Şekil 12: Adenokarsinom-NOS vakasında kirli nekroz (H&E, x100)

4.3.5. Kirli Nekroz

Olgularımızın 122'sinde (%62,9) kirli nekroz görülmezken, 72'sinde (%37,1) vardı (Şekil 12). MMR stabil olguların 88'inde (%63,3) kirli nekroz yok, 51'inde (36,7) vardı. MMR defektif olguların 34'ünde (%61,8) kirli nekroz yok, 21'inde (%38,2) vardı. Kirli nekroz varlığı ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p>0,05$).

4.3.6. Desmoplazi Türü

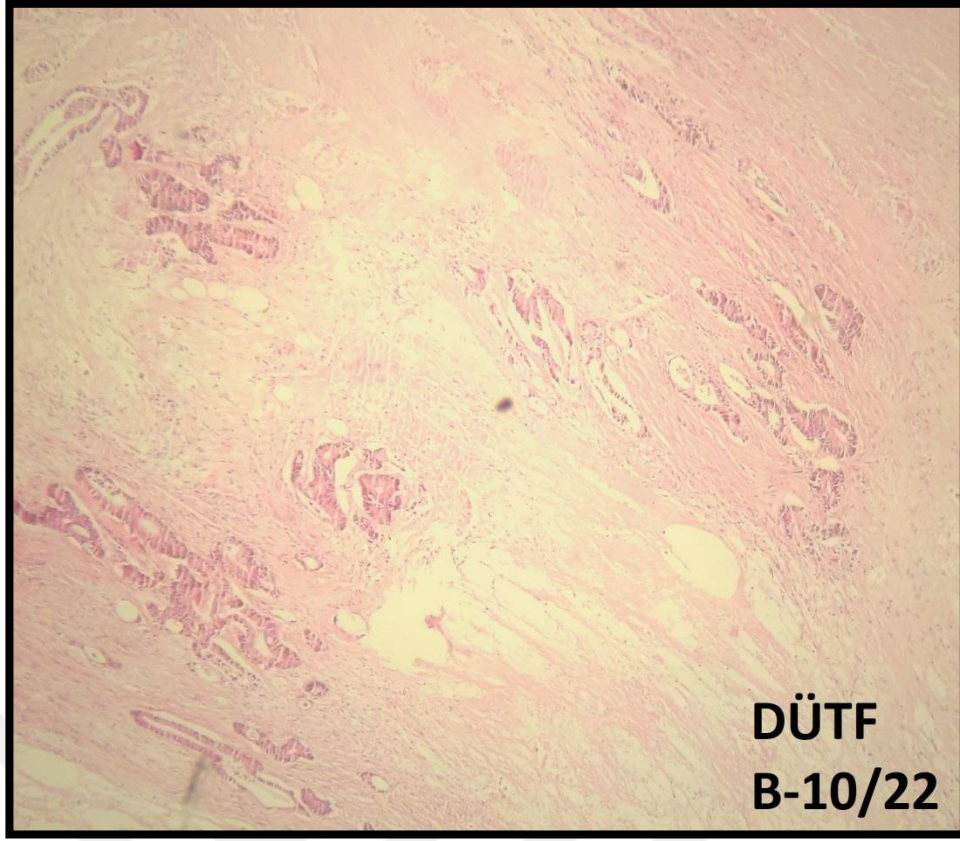
Olgularımızın 51'i (%31,5) immatür stromaya, 28'i (%17,3) intermediate stromaya ve 83'ü (%51,2) matür stromaya sahipti. MMR stabil olguların 43'ü (%39,4) immatür, 13'ü (%11,9) intermediate ve 53'ü (%48,6) matür stromaya sahipti. MMR defektif olguların 8'i (%15,1) immatür, 15'i (%28,3) intermediate ve 30'u (%56,6) matür stromaya sahipti. Desmoplazi türü ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p<0,05$).

4.3.7. Tümör-Stroma Oranı

Olgularımızın invaziv sınırdaki stroma oranı değerlendirildiğinde 124'ü (%77,5) düşük stromalı, 36'sı (%22,5) yüksek stromalıydı (Şekil 13). MMR stabil olguların 76'sı (%71) düşük stromalı, 31'i (%29) yüksek stromalıydı. MMR defektif olguların 48'i (%90,6) düşük stromalı, 5'i (%9,4) yüksek stromalıydı. Tümör stroma oranı ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,05$).

4.3.8. Büyüme Paterni

Olgularımızın 56'sı (%36,4) itici tarzda büyürken, 98'i (%63,6) infiltratifti. MMR stabil olguların 33'ü (%32,7) itici, 68'i (%67,3) infiltratifti. MMR defektif olguların 23'ü (%43,4) itici, 30'u (%56,6) infiltratifti. Büyüme paterni ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p>0,05$).

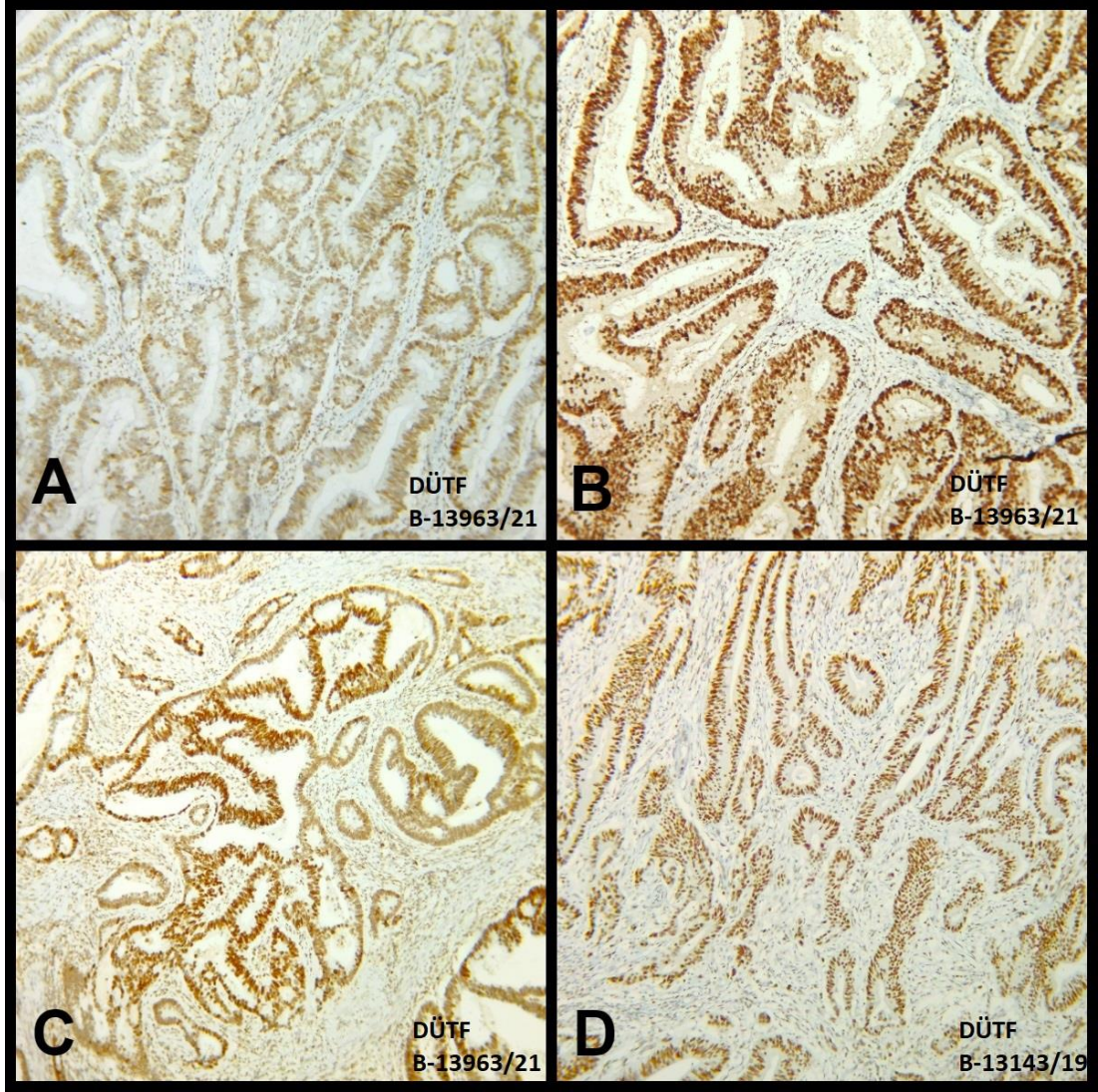


Şekil 13: Adenokarsinom-NOS vakasında stroma baskın tümör (H&E, x100)

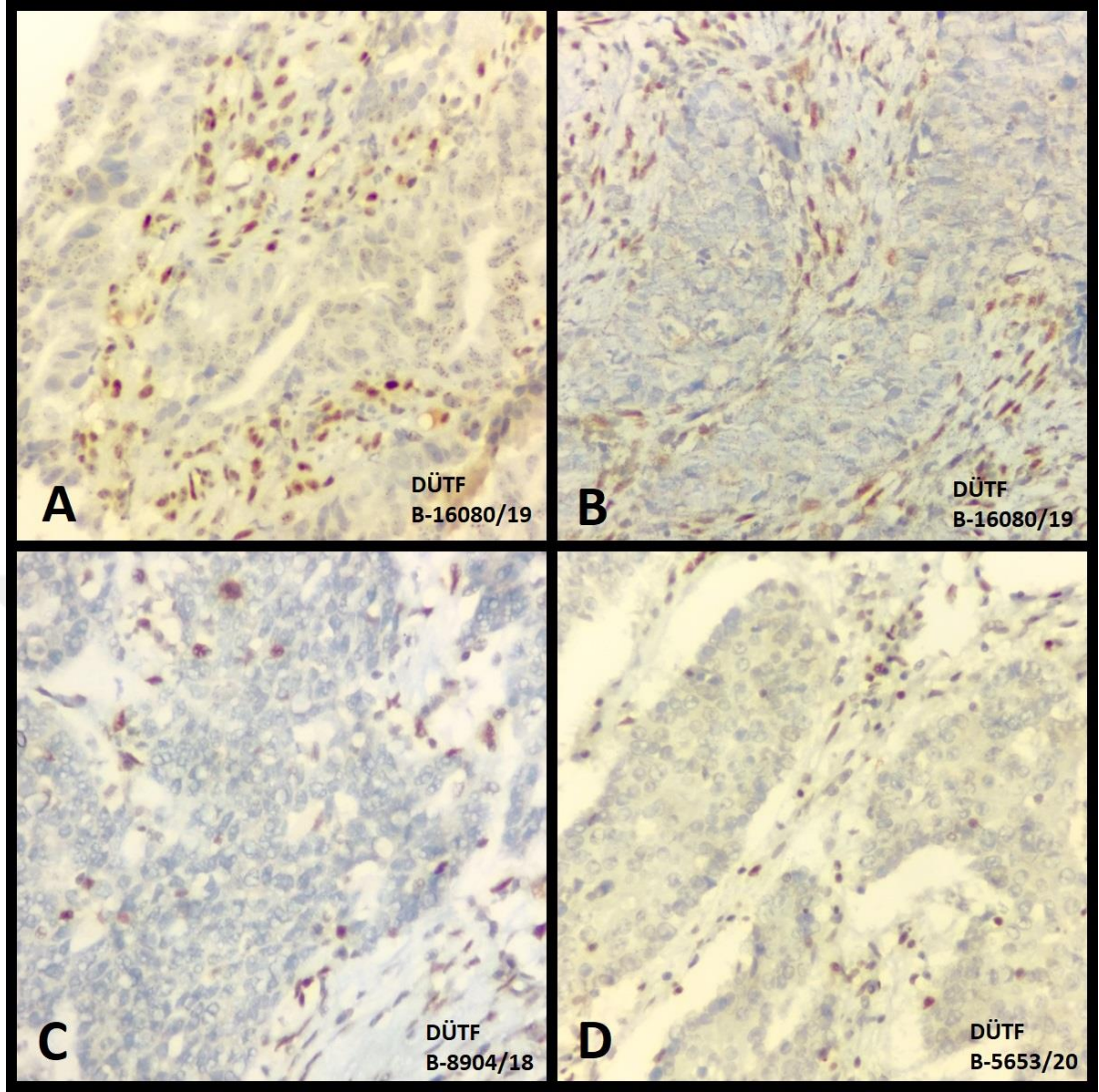
4.4. MMR Genleri

Olgularımızın 165'inde (%73,7) MMR genleri stabil (Şekil 14), 59'unda (%26,3) defektif (Şekil 15) izlendi. Olguların 28'inde (%12,5) MLH-1 ekspresyon kaybı, 21'inde (%9,4) PMS-2 ekspresyon kaybı, 15'inde (%6,7) MSH-2 ekspresyon kaybı, 19'unda (%8,5) MSH-6 kaybı, 11'inde (%4,9) hem MLH-1 hem de PMS-2 ekspresyon kaybı, 13'ünde (%5,8) ise hem MSH-2 hem de MSH-6 kaybı izlendi (Grafik 1).

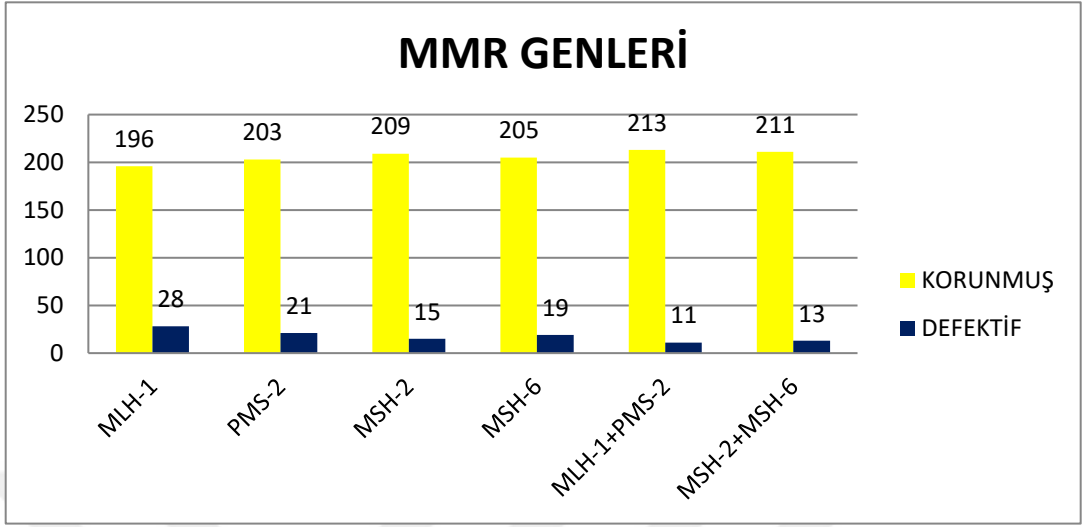
MMR defektif 59 olgu kendi içinde değerlendirildiğinde 17'sinde (%29) izole MLH-1 ekspresyon kaybı, 10'unda (%17) izole PMS-2 ekspresyon kaybı, 2'sinde (%3) izole MSH-2 ekspresyon kaybı, 6'sında (%10) izole MSH-6 ekspresyon kaybı, 11'inde (%19) MLH-1 ve PMS-2 ekspresyon kaybı, 13'ünde (%22) MSH-2 ve MSH-6 ekspresyon kaybı izlendi (Grafik 2).



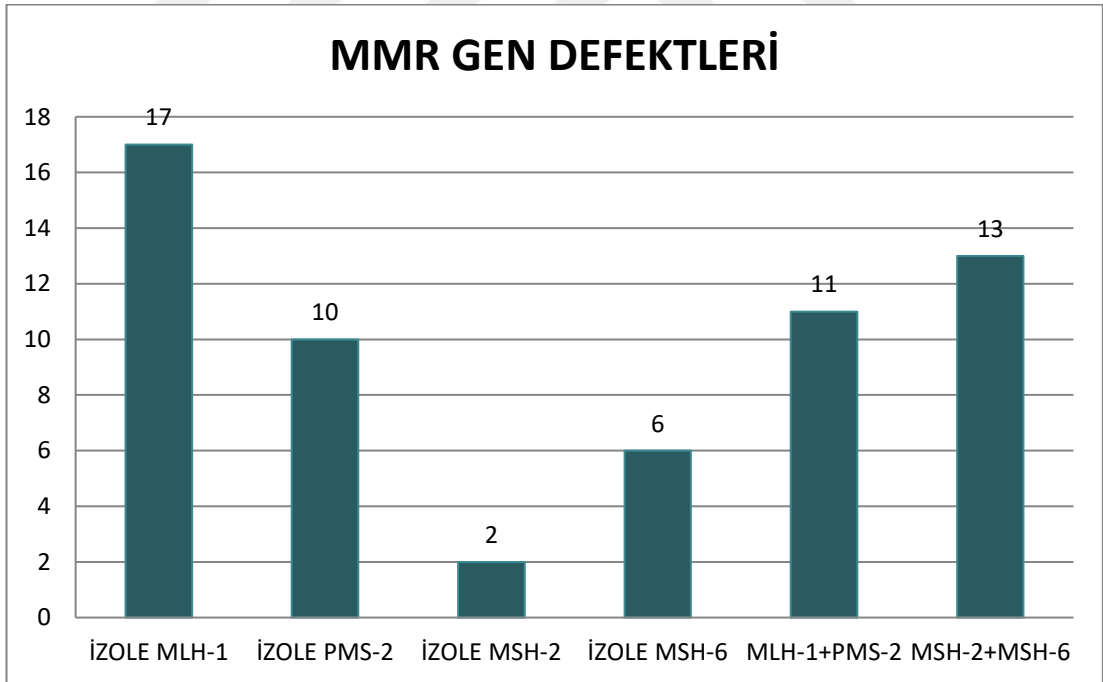
Şekil 14: **A:** MLH-1 ekspresyonu gösteren MMR stabil olgu, **B:** PMS-2 ekspresyonu gösteren MMR stabil olgu, **C:** MSH-2 ekspresyonu gösteren MMR stabil olgu, **D:** MSH-6 ekspresyonu gösteren MMR stabil olgu (İmmünoperoksidaz, x100)



Şekil 15: **A:** MLH-1 ekspresyon kaybı gösteren olgu **B:** PMS-2 ekspresyon kaybı gösteren olgu **C:** MSH-2 ekspresyon kaybı gösteren olgu **D:** MSH-6 ekspresyon kaybı gösteren olgu (İmmünoperoksidaz, x400)



Grafik 1. MLH-1, PMS-2, MSH-2 ve MSH-6 genlerinin ekspresyon durumları



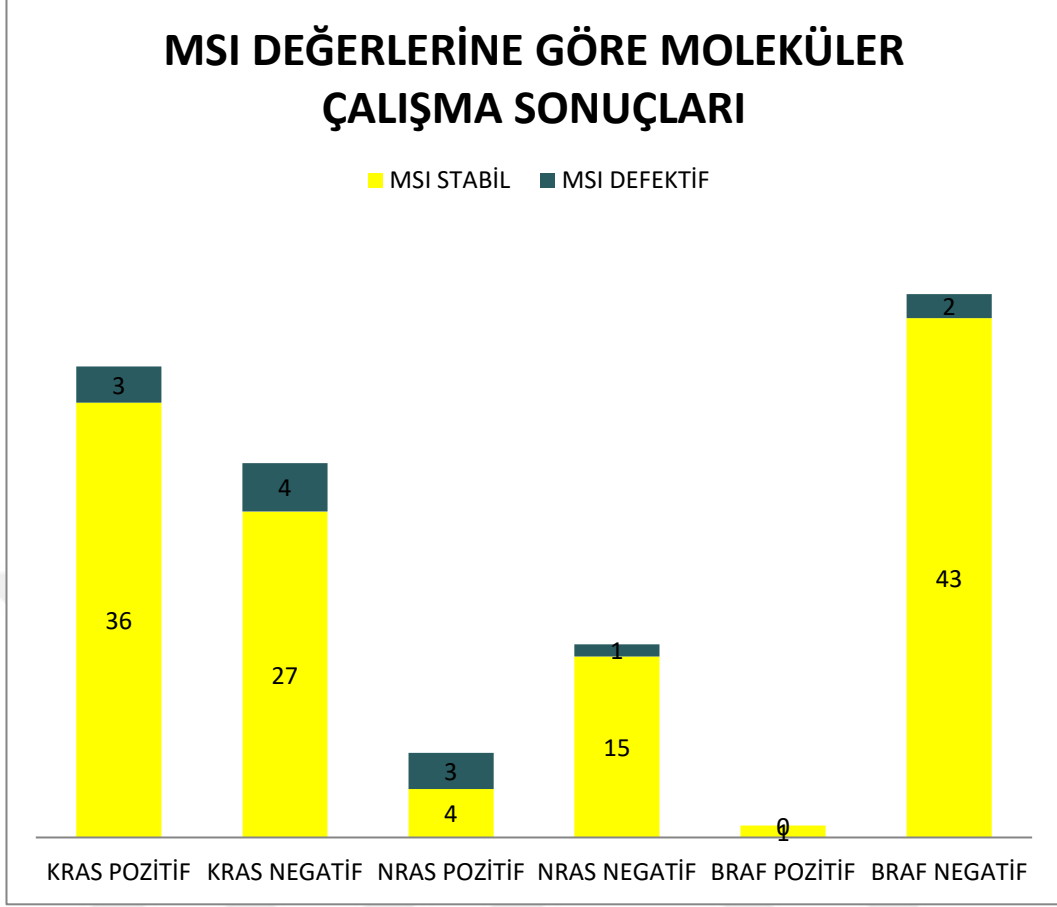
Grafik 2. MLH-1, PMS-2, MSH-2 ve MSH-6 genlerinin izole ekspresyon kaybını gösteren vaka sayıları

4.5. Moleküler Testler

KRAS olgularımızın 31'inde (%44,3) negatifken, 39'unda (%55,7) pozitif, NRAS 16'sında (%76,2) negatif, 5'inde (%23,8) pozitif, BRAF 45'inde (%97,8) negatif, 1'inde (%2,2) pozitif. Olgular MMR genleri açısından değerlendirildiğinde MMR stabil olguların 27'si (%42,9) KRAS negatif, 36'sı (%57,1) KRAS pozitif, 15'i (%78,9) NRAS negatif, 4'ü (%21,1) NRAS pozitif, 43'ü (%97,7) BRAF negatif, 1'i (%2,3) BRAF pozitif. MMR defektif olguların 4'ü (%57,1) KRAS negatif, 3'ü (%42,9) KRAS pozitif, 1'i (%50) NRAS negatif, 1'i (%50) NRAS pozitif, 2'si (%100) BRAF negatif (Tablo 6 ve Grafik 3). KRAS, NRAS ve BRAF testleri ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p>0,05$).

Tablo 6. KRAS, NRAS ve BRAF moleküler testlerinin MSI durumları ile karşılaştırılması

Moleküler test		MMR Stabil n(%)	MMR Defektif n(%)	Toplam n(%)	p değeri
KRAS	Negatif	27 (42,9)	4 (57,1)	31 (44,3)	>0,05
	Pozitif	36 (57,1)	3 (42,9)	39 (55,7)	
NRAS	Negatif	15 (78,9)	1 (50)	16 (76,2)	>0,05
	Pozitif	4 (21,1)	1 (50)	5 (23,8)	
BRAF	Negatif	43 (97,7)	2 (100)	45 (97,8)	>0,05
	Pozitif	1 (2,3)	0 (0)	1 (2,2)	



Grafik 3: KRAS, NRAS ve BRAF moleküler testlerinin MSI değerlerine göre karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

KRK, dünya genelinde ikinci en ölümcül kanserdir. Önümüzdeki yıllarda küresel insidans ve mortalitenin artması beklenmektedir. Her iki cinsiyette en sık kanser akciğer, sonra kadınlarda meme ve erkeklerde prostat kanseridir. KRK tanı açısından üçüncü ve mortalite açısından ikinci sırada yer almaktadır (1,62). KRK yüksek gelirli ülkelerin ve batılı yaşam tarzının hastalığı olarak bilinmekte, bu sebeple gelişmişliğin bir göstergesi gibi kabul edilmektedir (63). KRK ile ilişkili risk faktörleri arasında ailesel ve kalıtsal faktörler ile yaşam tarzıyla ilişkili değişkenler yer alır. Kanıtlar aşırı kilo ve obezitenin, fiziksel hareketsizliğin, sigara içmenin, alkol tüketiminin ve diyetin (lif, meyve, sebze, kalsiyum ve diyet ürünleri açısından düşük ve kırmızı ve işlenmiş et açısından yüksek bir diyet) KRK riskini artırdığını göstermektedir (62).

'Kolorektal karsinogenez' olarak adlandırılan kavram, normal kolorektal epitelden adenoma ve invaziv karsinoma ilerleme sırasında çeşitli genlerdeki mutasyonların biriktiği çok adımlı bir genetik süreçtir. KRK vakalarının %2-8'inin kalıtsal sendromlar sonucu ortaya çıktığı tahmin edilmektedir (62). KRK'de yer alan patojenik mekanizmalar üç farklı moleküler yoldan ilerler: Kromozomal instabilite (CIN), mikrosatellit instabilite (MSI) ve (CpG) adası metilatör fenotipi (CIMP) yolağı (64). Biz de çalışmamızda Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2018-2022 yılları arasında kolorektal adenokarsinom tanısı almış 224 vakanın MMR genleri ile klinikopatolojik, histomorfolojik ve moleküler bulgular ile ilişkisini inceledik.

DNA kopyalanması sırasında DNA polimeraz yeterli bağlanmadığında mikrosatellit bölgeleri hatalı kopyalanır (32). MMR genleri (MLH-1, MSH-2, MSH-6, PMS-2) bu hataların düzeltilmesinden sorumludur ve kompleks yaparak DNA'yı tamir etmeye çalışır. Görev kaybı olması için her iki allelde de mutasyon olması gerekir (33).

MMR gen analizi için altın standart Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)'dır (124). Rutinde kullanılan İHK'sal analiz ile PCR çalışmalarının uyumunu anlamak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Kolorektal tümörlerde İHK, MMR genlerinin taranması için hızlı, ekonomik, sensitif (%92,3) ve son derece spesifik (%100) bir

yöntemdir. MMR stabil olgular için normal İHK'nın prediktif değeri %96,7 ve MMR defektif fenotipi için de İHK kaybının prediktif değeri %100'dür (65). Biz de sensitivite ve spesifitesi bu kadar yüksek olan bir teste dayanarak, çalışmamızda İHK ekspresyon kaybı gösteren olguları “MMR defektif”, ekspresyon kaybı olmayan olguları “MMR stabil” olarak tanımladık.

Geniş serilerle yapılan araştırmalarda KRK'lerin %15'inde MSI saptanmış olup, bunların yaklaşık %12'si sporadik, %3'ü kalıtsal Lynch sendromudur (6,23,31,35). Bizim çalışmamızda olguların 59'unda (%26,3) MMR genleri defektif izlendi. Literatürde MMR gen kaybı oranının %30 civarında olduğunu bildiren yayınlar (65) olmasına rağmen, geniş serilerle yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamızdaki MMR defektif KRK oranı literatüre göre daha yüksektir.

MMR defektif KRK'lerin özelliklerinden bazıları, yaşlı kadınlarda görülmesi, sağ kolon baskınlığı, tümörü infiltrate eden lenfositlerin yoğunluğu, Crohn benzeri lenfositik yanıt, az diferansiye olması ve taşlı yüzük ve ya müsinoz histolojidir (36,66–68). Bizim çalışmamızda MMR defektif olgular ile erkek cinsiyet, düşük metastaz oranı, sağ kolon yerleşimi, büyük tümör çapı, immatür stromanın az olması, tümör stroma oranının yüksek olması ilişkili bulundu. Yaş, histolojik alt tip, sağkalım, pT ve N evrelemesi, polip varlığı, diferansiyasyon, tümör nodüllerinin varlığı, kirli nekroz varlığı, büyüme paterni ile MSI durumu arasında ilişki izlenmedi.

KRK evrelemesi, tedavisi ve prognozu klinikopatolojik parametrelerle yapılmaktadır. Ancak aynı evredeki tümörlerin prognozlarının ve tedaviye yanıtlarının farklı olması, bu parametrelerle moleküler çalışmaların birlikte değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koyup, KRK patogenezi ve moleküler yolları ile ilgili daha fazla araştırma yapmaya teşvik etmektedir (32). KRK'de MSI olasılığı hastalığın evresine göre değişir. Genelde erken evrelerde daha yüksek bir insidans (evre I ve II'de yaklaşık %20 ve evre III'te %12) ve metastatik olanlarda daha düşük bir insidans (%4-%5) görülür (69). Bizim çalışmamızda da MMR defektiflik oranı, düşük evredeki (Evre I ve II) olgularda daha yüksek, metastatik olgularda daha düşüktü.

Amerika merkezli National Cancer Institute kurumunun, “Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER)” araştırmasına göre 2016-2020 yılları arasında görülen kolorektal kanser vakalarının %56’sını erkekler, %44’ünü kadınlar oluşturmaktadır (70). Erkeklerde KRK riski kadınlara göre biraz daha yüksektir. Her ulusta, her yaşta erkeklerde kadınlara kıyasla KRK gelişme riski 1,5 kat daha fazladır (64). Bizim çalışmamızda erkeklerin oranı %59, kadınların oranı %41 olup, bu verimiz literatür ile uyumludur. KRK'in kalıtsallığının erkekler için %28 ve kadınlar için %45 olduğu tahmin edilmektedir (72). Bu sebeple erkeklerde daha fazla KRK saptanması genetik faktörlerden çok çevresel faktörlerle (alkol, sigara vb.) ilişkili gibi görünmektedir (62,71).

MMR defektif KRK’lerin daha çok yaşlı kadınlarda görüldüğüne dair yayınlar vardır (67,73). Kang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada MMR defektif olguların %62,5’ini erkekler, %37,5’ini kadınlar oluşturmaktadır (7). Bizim çalışmamızda da Kang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer şekilde MMR defektif olguların 43’ü (%72,9) erkek, 16’sı (%27,1) kadındı. Çalışmamızda, MMR defektif erkeklerin oranı, istatistiksel olarak anlamlı biçimde, literatürdeki çalışmalardan daha fazladır.

National Cancer Institute’ye göre KRK’in ortalama tanı yaşı 66’dır. Tüm yeni kolorektal kanser vakalarının yaklaşık %90’ı 50 yaşın üzerindeki bireylerde ortaya çıkar (74,75). 65 yaşından sonraki kişilerin kolorektal kansere yakalanma riskinin 50-64 yaşlarındaki kişilere göre yaklaşık üç kat, 25-49 yaşlarındaki kişilere göre ise yaklaşık 30 kat daha fazla olduğu tahmin edilmektedir (76). Çalışmamızda olguların en genci 21, en yaşlısı 85 yaşındadır. Yaş ortalaması 55 olarak hesaplanmış olup 50 yaş üstündeki olgularımızın oranı %63,4’tür. Çalışmamızdaki olgular literatüre göre daha genç yaş ortalamasına sahip olmakla birlikte bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir. Wong ve arkadaşları KRK insidansının genç hastalarda ve orta-yüksek gelirli ülkelerde artmaya devam ettiğini tespit etmişlerdir (77). Çalışmamızdaki yaş ortalamasının literatürdekinden daha düşük olmasının bölgemizdeki kırmızı et baskın, sebzedeki fakir diyetle ilgili olabileceğini düşündük.

Lynch Sendromu’nda sıklıkla sporadik KRK hastalarına göre 10 ila 30 yıl daha erken KRK görülür (81). Greenson ve arkadaşları, mikrosatellit instabilite

saptadıkları olgularında 50 yaş altı ile anlamlı ilişki saptamışlardır (78). Wright ve Stewart ise yaptıkları çalışmada 50 yaşın altındaki bireylerde anlamlı bir MSI artışı saptamamışlardır (79). Rantanen ve ark.'nın yaptığı çalışmada MMR stabil ve MMR defektif olguların yaş ortalamaları sırasıyla 70 ve 71'dir (80). Çalışmamızda MMR defektif KRK'lerin yaş ortalaması 54,6 olup tüm olgularımızın yaş ortalaması ile benzer, literatüre göre düşüktür. Çalışmamızda 50 yaş altındaki olgularda MMR defektifliğinde artış izlenmedi.

Literatürdeki çalışmalar MSI ile Müsinöz alt tipin ilişkili olduğunu göstermiştir. Wright ve Stewart, Adenokarsinom NOS'ların %13,2'si, müsinöz adenokarsinomların %44,8'i, taşlı yüzük hücreli karsinomların %50'si ve medüller karsinomların %100'ünde MMR proteinlerinde ekspresyon kaybı olduğunu ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık görüldüğünü rapor etmişlerdir (79). Yine çalışmalarında Müsinöz, medüller ve taşlı yüzük gibi özel karsinom tipleri, MMR defektif tümörlerin %43,8'ini oluştururken, sağlam tümörlerin yalnızca %10,6'sını oluşturmuştur (79). Halvarsson ve ark. 227 olguluk KRK çalışmasında, müsinöz adenokarsinomların %47,8'i, müsinöz diferansiyasyonlu adenokarsinomların %44,3'ü, nonmüsinöz adenokarsinomların ise %4,9'unda MMR proteinlerinde ekspresyon kaybı saptadıklarını ve farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir (82).

Çalışmamızda MMR defektif tümörlerin 4'ü(%7) Müsinöz, 1'i (%1,7) Zayıf Koheziv alt tipindeydi. Müsinöz Adenokarsinom'ların ise 4'ü (%19) MMR defektifti. Çalışmamızdaki sonuçlarda Müsinöz Adenokarsinom alt tipi literatüre göre daha düşük izlenmiş olup, MSI durumu ile histolojik alt tip arasında anlamlı bir istatistiksel ilişki izlenmemiştir.

Literatürde MMR defektif KRK'lerin iyi prognoz ile ilişkili olduklarına dair çalışmalar vardır (7,83,84). MSI-H fenotipi, birçok çalışma tarafından desteklenen daha iyi prognoz ile ilişkili bir faktör olarak bildirilmiştir. Ancak mekanizması henüz net olarak keşfedilmemiştir. Mekanizmalardan birinin, MSI-H hastaların immünolojik reaksiyonu ile daha iyi prognoz arasında bir ilişki olduğu düşünülmüştür (85). Popat ve ark. 1277 MMR defektif olgu içeren çalışmalarında, MMR defektif KRK'lerin, MMR stabil olanlara kıyasla önemli ölçüde daha iyi

prognoza sahip olduklarını bildirmişlerdir (84). Kang ve ark. 603 olgu içeren çalışmalarında MMR defektif KRK'li hastaların prognozu daha iyi bulmuşlardır, ancak, bu istatistiksel olarak anlamlı bir farka ulaşmamıştır (7).

Rantanen ve ark. 463 olgunun 6 yıllık takibinde, MMR defektif ve stabil hastalarının sırasıyla %9,1 ve %20,2'sinde uzak nüksler görmüş ve %25,8 ve %31,5'inde ölüm meydana gelmiştir. Nüksüz sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. MMR defektif hastalarda uzak metastazlar daha az görülmesine rağmen, MSI ile genel, nüksüz veya kansere özgü sağkalım (cancer-specific survival.) arasında bir ilişki bulunmamıştır (80). Çalışmamızda ortalama sağkalım tanı sonrası $44,46 \pm 2,73$ ay, MMR stabil hastalarda $47,70 \pm 3,73$ ay ve MMR defektif hastalarda $38,71 \pm 4,43$ ay olarak hesaplandı. Çalışmamızda metastaz oranı MMR defektif olgularda daha az izlense de, literatürün tersine MMR stabil hastaların sağkalımı, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber, MMR defektif hastalara göre kısmen daha iyi bulundu (Şekil 9).

MMR defektif KRK'lerin prognozu evresi ile yakından ilişkilidir (86) Lokalize kolon kanseri için hem ESMO (European Society for Medical Oncology) hem de NCCN (The National Comprehensive Cancer Network) kılavuzları, tüm evre II KRK hastalarında MSI için test yapılmasını önermekte ve MSI evre II hastalarda herhangi bir adjuvan kemoterapi uygulanmasını önermemektedir. Bununla birlikte, T4 tümörler ve patoloji raporunda 12'den az lenf nodunun incelendiği durumlar için adjuvan tedaviyi değerlendirirken ayrışır; ESMO kılavuzları, floropirimidin ve oksaliptatin ile kombinasyon tedavisini önerirken (faydası belirsiz olsa da), NCCN önermez (86). Çeşitli yayınlar, evre III hastalarda MSI ile ilişkili iyi prognoza karşı çıkmıştır. Artık IDEA konsorsiyumu (International Duration Evaluation of Adjuvant Chemotherapy) tarafından açıklandığı üzere bu iyi prognoz ilişkisi sadece düşük riskli evre III (T1-3 N1) hastalarla sınırlıdır (86).

Kang ve ark. yaptığı 603 olguluk serilerinde ve Xiao ve ark. yaptığı 2028 olguluk serilerinde MMR defektif KRK'lerin daha ileri evrede görüldüklerini belirtmişlerdir (7,87). Çalışmamızda MMR stabil olguların 93'ü (%95), MMR defektif olguların 43'ü (%89) evre 3-4 izlenmiş olup pT evresi ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Xiao ve ark. MMR defektif KRK'lerin belirgin olarak daha az lenf nodu metastazı yaptıklarını göstermişlerdir (87). Kang ve ark. yaptıkları çalışmada ise MMR defektif KRK'lerin %30'unda lenf nodu metastazı saptanırken, MMR stabil KRK'lerin %49'unda lenf nodu metastazı saptanmıştır (7). Çalışmamızda MMR stabil olguların %71'inde, MMR defektif olguların %60'ında lenf nodu metastazı saptanmış olup, MMR defektif olgularda daha az lenf nodu metastazı izlenmesine karşın, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Metastatik MMR defektif KRK'ler tüm metastatik KRK'lerin yaklaşık %5'ini oluşturmaktadır. Bu durum, MMR defektif KRK'lerin daha iyi prognozlu olmasını açıklayabilir (88). Bizim çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak, MMR stabil ve MMR defektif olgularda sırasıyla 63'e (%50) 10 (%24) oranında uzak metastaz saptanmıştır.

KRK'in çoğu (yaklaşık %70) sol tarafta görülme eğilimindeyken, küçük bir yüzdesi (yaklaşık %10) sağ tarafta görülür (89). Fakat MMR defektif olguların çoğunlukla sağ kolon yerleşimli oldukları bilinmektedir (25,87,90). Sağ kolon ve sol kolon tümörleri farklı moleküler özellikler ve histoloji sergilemektedir. Sağ taraftaki tümörlerde, MMR yolağındaki mutasyonlar sık görülür ve bu tümörler genellikle düz (flat) histolojiye sahiptir. Sol taraftaki tümörlerde ise KRAS, APC, PIK3CA, p53 mutasyonları gibi kromozomal instabilite yolağı ile ilişkili mutasyonlar gözlenir ve bu tümörler polipoid benzeri morfoloji gösterir (89).

Thibodeau ve ark., MMR defektif tümörlerin %89'unun proksimal kolonda olduğunu ve MMR defektif KRK hastalarının daha iyi bir prognoza sahip olduğunu bulmuşlardır (90,91). Lanza ve ark. 132 olguluk çalışmalarında MSH-2 ve MLH-1 ekspresyon kaybının proksimal kolon yerleşimi ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki oluşturduğunu bildirdiler (92).

Çalışmamızda olguların 60'ı (%34,3) sağ kolon yerleşimli iken, MMR defektif olguların 26'sı (%61,9) sağ kolon yerleşimliydi. Tümör yerleşimi ile MSI durumu arasında elde ettiğimiz istatistiksel olarak anlamlı ilişki, hem serimizin geneli için hem de MMR defektif olgular için literatür bilgisiyle uyumludur.

Literatürde tümör çapı ile MSI arasında direk bir ilişki olmasa da MMR defektif KRK'lerde müsinöz komponentin daha fazla görüldüğü ifade edilmiştir (36,66–68). Maeda ve ark. 1038 olgu içeren çalışmalarında müsinöz komponentin %50'den yüksek olmasının, tümör boyutundaki artış ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (93). Malik ve ark. 150 olguluk çalışmalarında MMR defektif olguların %35,3'ünün, MMR stabil olguların ise %15,8'inin 7 cm'nin üzerinde olduğunu saptamıştır (94).

Bizim çalışmamızda MMR defektif olguların 28'inin (%80), MMR stabil olguların ise 43'ünün (%48,9) 5 cm ve üzerinde tümör çapına sahip olduğunu saptadık. Böylece bu çalışma ile MMR defektif olguların anlamlı biçime daha yüksek boyuta ulaşabileceğini söyleyebiliriz. Sol kolon çapı daha dar olduğundan obstrüksiyon bulguları daha çok sol kolon tümörlerinde görülür ve daha erken saptanır (18,20). Yukarıdaki çalışmalarda da ifade edildiği üzere tümör çapı, müsinöz adenokarsinom ya da sağ kolon yerleşimi ile ilişkili olabilir. Çalışmamızda MMR defektif olguların sadece 4'ü (%7) Müsinöz Adenokarsinom alt tipli, fakat 26'sı (%61,9) sağ kolon yerleşimli, 43'ü (%89) T evre 3-4 izlendi. Müsinöz Adenokarsinom olguların azlığı nedeniyle, tümör çapları arasındaki belirgin farkın, olgularımızın sağ kolon yerleşimli olması ile bu tümörlerin obstrüksiyon bulgusu göstermeden sinsi ilerlemesi ve daha geç tanı almasına bağlı olduğunu düşündük.

Polip oluşumu ile KRK arasındaki ilişki uzun zamandır bilinmektedir. Bazı polip türleri ve polipozis sendromları KRK riskini artırır (74). FAP'lı hastaların tamamında 30 yaşından önce kolorektal karsinom gelişir (18,20). LS'nda hayat boyu KRK gelişme riski %80'dir (74). Hollanda merkezli prospektif bir çalışmada 253.833 hasta takip edilmiş, toplamda 78.068 (%27,8) kişide başlangıçta kolonoskopide polip izlenmezken, 64.223 (%25,3) kişide en az bir serrated polip, 167.545 (%66,0) kişide en az bir geleneksel adenom tespit edilmiştir. Yine bu çalışmada ortalama 36 aylık takip boyunca 504 hastada KRK saptanmış ve yüksek riskli serrated polipler ve adenomlardan sonra 3 yıl içinde artmış KRK riski olduğunu belirtilmiştir (95). Bizim çalışmamızda, olgularımızın 38'inde (%24,2) polip görüldü. MMR stabil olguların 29'unda (%24,6), MMR defektif olguların 9'unda (%23,1) görüldü. Polip görülen 38 vakanın 5'i FAP tanılı, 1'i Peutz Jeghers

Sendormu tanıydı. Serimizde polip varlığı MMR defekti arasında ilişkili görülmemiştir.

MMR defektif KRK'ler tipik olarak az diferansiye olmaya yatkındırlar (87,94,96,97). Gryfe ve ark. çalışmalarında MMR defektif olguların %42'sini, MMR stabil olguların %18'ini az diferansiye saptamışlardır (96). Alexander ve ark. MMR stabil vakaların %13, MMR defektif vakaların %38'inin az diferansiye olduğunu göstermiş ve diferansiyasyonun az olması ile MSI arasında güçlü bir şekilde ilişki olduğunu bildirmişlerdir (98). Çalışmamızda MMR stabil ve defektif olgularımızın çoğunluğu orta derecede diferansiye olup, MMR stabil olguların 24'ü (%14,9), MMR defektif olguların 11'i (%19,3) az diferansiyedir. MMR defektif olgularımızın daha yüksek oranda az diferansiye olduğunu söyleyebilesek de bu veri literatürdeki gibi istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşamamıştır.

Tümör nodüllerinin varlığı, hastalısız sağkalım ve genel sağkalımda azalma ile ilişkilendirilmiştir (99). Zhang ve ark. 45,761 olguluk geniş serilerinde tümör depoziti olan KRK'lerin oranını %25,8 olarak belirtip, bunların da %18'inde MSI saptamışlardır. MSI, tümör nodülü olmayan KRK'de daha iyi genel sağkalım ile ilişkilirken, tümör nodülü olan KRK'le ilişkili bulunmamıştır (100). Çalışmamızda tüm olguların 12'sinde (%7,1), MMR stabil olguların 7'sinde (%5,9), MMR defektif olguların 5'inde (%9,8) tümör nodülleri izlenmiş olup, MSI durumu ile tümör nodülleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmemiştir.

Tümör tomurcuklanması, KRK hastaları için kötü prognozu gösteren önemli bir parametredir. Üç farklı klinik durumda değeri artar: (1) Malign poliplerde saptanması lenf nodu metastazı için uyarıcıdır. (2) Evre 2 KRK'lerde kötü prognostik faktör olduğu için hastalarda adjuvan kemoterapi seçiminde yardımcı olabilir. (3) Rektumun biyopsi materyalinde saptanan tümör tomurcuklanması, neoadjuvan tedavi için yönlendiricidir (101). Topal ve ark. yüksek tümör tomurcuklanmasının APC gen mutasyonu ile doğru orantılı ve MSI ile ters orantılı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, MMR defektif KRK'lerin yoğun peritümöral lenfositik infiltrasyon ve tümörü infiltre eden lenfositlerin varlığı nedeniyle düşük oranda tümör tomurcuklanması sergilediğini aktarmışlardır (102). Lugli ve ark. MMR defektif KRK'lerde tomurcuklanmanın daha az görüldüğünü ve bağımsız bir prognostik faktör olduğunu

belirtmişlerdir (103). Çalışmamızda literatür ile uyumlu şekilde, MMR defektif olgularda daha düşük oranda tümör tomucuklanması izlenmiştir.

Kolon kanserinde, tümörü infiltre eden lenfositler'in (TIL) MMR defektif olgularda ayırt edici özellik olduğu uzun zamandır bilinmektedir. TIL'in MMR mutasyonları ve çerçeve kayması mutasyonlarının birikiminden kaynaklanan neoantijenlere karşı gelişen bir yanıt olduğu varsayılmaktadır (104–106). MMR değerlendirmesi standart hale geldiğinde, TIL ölçümü CAP kılavuzlarından çıkarılmış olsa da (43) son araştırmalar, MSI durumundan bağımsız olarak prognostik değere sahip olduğunu gösterdiği için TIL'e olan ilgi yeniden artmıştır (107). TIL ölçümü rutin patolojik örnekler için standardize edilememiştir. Eriksen ve ark. CD3+ ve CD8+ lenfositlerin sayımı için özel olarak geliştirilmiş uygulama tabanlı bir görüntü analiz algoritması kullanmışlardır (104,108). Fakat rutinde bu yöntem çok da pratik değildir. İseki ve ark, Uluslararası TILs Çalışma Grubu'nun meme kanserleri için uyguladığı H&E ile sayım yöntemini (109) kolorektal kanserlere uyarlamış, yüksek TIL grubunun daha iyi prognoz gösterdiğini belirtmiştir (110). Klintrup ve ark. (111) ile Huh ve ark.(112), TIL'lerin 4 seviyeli bir değerlendirme ölçeği kullanılarak incelendiği çalışmalarda, fazla sayıda inflamatuvar hücrenin KRK'de iyi prognoz ile ilişkili olduğunu bildirmiştir.

Çalışmamızda TIL sayımında Jimenez-Rodriguez ve ark uyguladığı yöntemi kullandık. Bu yöntemin sonuçları, İHK ve uygulama tabanlı karmaşık sayımlar kullanan çalışmalarla tutarlı bulunmuştur (46). Çalışmamızda MMR stabil olguların 27'si (%19,1), MMR defektif olguların 11'i (%20) TIL-Yüksek grupta olup saptanan küçük fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamasının sebebinin lenfosit sayımındaki yöntem farklılığına, sayımın subjektif olmasına, bazı H&E kesitlerin kalınlığına, tümör invaziv sınırının bazı olgularda incelenememesi gibi durumlar olabileceğini düşündük.

Kirli nekroz içindeki hücre ölümü ve nekrozun patogenezi değişiklik göstermekte ve ayrıntılı mekanizmalar belirsizliğini korumaktadır (113). Renal hücreli karsinomlarda kirli nekroz, olumsuz bir prognostik göstergedir (114). Benzer şekilde, Konishi ve arkadaşları da akciğere metastaz yapan KRK'lerde, kirli nekrozun kötü prognoz göstergesi olduğunu bulmuşlardır (48). Kirli nekroz yokluğu

ise genellikle MMR defektif KRK'lerle ilişkilendirilmiştir (78). Malik ve ark. çalışmalarında MMR defektif olguların %23,5'inde, MMR stabil olguların %59,4'ünde kirli nekroz saptamışlardır (94). Greenson ve ark. 528 olguluk serilerinde 365 olguda kirli nekroz saptamış, bunların yalnızca 9'unun (%2) MMR defektif olduğunu bildirmişlerdir (115). Çalışmamızda, literatürden farklı olarak, MMR defektif olguların 34'ünde (%61,8), MMR stabil olguların 88'inde (%63,3) kirli nekroz yokluğunu saptadık ve böylece kirli nekroz ile MMR defekti arasında ilişki olmadığını gösterdik.

Desmoplastik reaksiyon (DR), invaziv kanserin stromasında miyofibroblastların çoğalmasdır (116). Nearchou ve ark, tümör tomurcuklanması, az diferansiye kümeler ve Crohn benzeri lenfositik yanıt ile karşılaştırıldığında DR'un evre II KRK'de hastaliksız sağkalımın en güçlü prognostik göstergesi olduğunu göstermişlerdir (117). Fan ve ark matür stromaya sahip olguların belirgin olarak daha iyi prognoza sahip olduğunu belirtmiş, fakat MSI ve desmoplazi türleri arasında bir ilişki saptamamışlardır (44). Çalışmamızda bu verinin aksine MMR stabil olguların daha immatür bir stromaya sahip olduğu görüldü. MSI ve desmoplazi türü arasındaki ilişkinin, daha geniş olgu serileri içeren çalışmalarla aydınlatılmaya ihtiyacı vardır.

Çok sayıda çalışma tümör stroma oranı'nı (TSO) KRK'de bağımsız bir prognostik belirteç olarak kabul etmiştir. Yüksek miktarda stroma (düşük TSO) olumsuz bir prognozün göstergesidir (118,119). Bir çalışmada yüksek stromaya sahip olguların %71'i, düşük stromaya sahip olguların %82,5'i MMR stabil bulunmuş olup, stroma baskınlığı, MMR stabil olgularda daha çok görülmüştür (44). Diğer bir çalışmada ise MMR stabil grubun %31,9'u, MMR defektif grubun %19,2'si stromayüksek olgulardan oluşmakta olup düşük stroma ve MSI ilişkili bulunmuştur (120). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu biçimde MMR stabil olgularda, MMR defektif olgulara kıyasla yüksek stromalı vaka sayısı anlamlı biçimde daha fazlaydı. TSO, MMR defektif olguları değerlendirirken akla gelmesi gereken önemli histopatolojik parametrelerden biri olabilir.

Çalışmalar infiltratif büyüme paternine sahip hastaların sağkalımının daha kötü olduğunu göstermiştir (121). İnfiltratif büyüme paterni, invaziv tümör sınırında immün ve inflamatuvar yanıtın varlığı ile ters orantılıdır (122). MMR defektif

tümörlerde ise, inflamatuvar yanıtın ve itici büyüme paterninin daha fazla görüldüğü bilinmektedir (123). Bizim çalışmamızda MMR stabil olguların 33'ü (%32,7), MMR defektif olguların 23'ü (%43,4) itici büyüme paterni göstermekteydi. MMR defektif olgularda itici büyüme paterninin oranı daha fazla görülse de istatistiksel olarak anlamlı olacak düzeye ulaşamamıştır. MMR defektif tümörlerin itici büyüme eğiliminde olması, daha iyi prognozlu olmalarını açıklamaya yardımcı olabilir, çünkü bu büyüme modelinin aynı zamanda artan sağkalımın bağımsız bir belirleyicisi olduğu uzun zamandır bilinmektedir (115).

Proto-onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve DNA MMR genlerindeki mutasyonlar KRK gelişiminde anahtar rol oynamaktadır (125). Gelişmelerle birlikte, tedavi şekli planlanırken MSI dışında, KRAS, NRAS ve BRAF mutasyonları da göz önünde bulundurulmalıdır (126). RAS mutasyonları tüm KRK'lerin üçte birinde bulunmuştur; bunlardan KRAS mutasyonları en yaygın olanıdır (>%80), NRAS (yaklaşık %10) ve HRAS (<%5) mutasyonları ise nispeten nadirdir. BRAF mutasyonları kanserlerin %7 ila 8'inde tespit edilmiştir ve V600E mutasyonu BRAF mutasyonlarının >%90'ını oluşturmaktadır (127). Çalışmamızda olgularımızın 39'unda (%55,7) KRAS, 5'inde (%23,8) NRAS, 1'inde (%2,2) BRAF pozitif. Literatürle uyumlu şekilde, KRAS en sık mutasyon olarak saptandı.

Guo ve ark. yüksek KRAS mutasyon oranı ile kadın cinsiyet, ileri yaş, müsinöz histoloji ve pozitif tümör depozitlerini ilişkili bulmuştur (128). Fakat Immura ve ark. RAS mutasyonlarını erkek cinsiyet, iyi-orta diferansiyasyon, minimal peritümöral lenfositik reaksiyon ile ilişkili bulmuştur (129). KRAS mutasyonları, anti-epidermal büyüme faktörü reseptörü (anti-EGFR) tedavisine direnç ile ilişkilidir (130). Sarasqueta ve ark. yüksek BRAF mutasyon oranı ile kadın cinsiyet, kötü diferansiyasyon, lenfovasküler invazyon ve tümör depozitlerini ilişkili bulmuştur (131).

Hu ve ark. MSI ve KRAS arasındaki ilişkiyi araştırdıkları bir çalışmada en iyi prognozlu grubun MMR defektif ve KRAS negatif olduğunu belirtmiştir (132). Çalışmamızda 4 olgunun MMR defektif, KRAS negatif olduğunu tespit ettik.

Lynch sendromu tanısına giderken kullandığımız algoritmaya göre MLH-1 ve PMS-2 eksikliği tespit edilen olgularda BRAF mutasyonu bakılır. Buna göre BRAF negatif saptanan vakalara, LS açısından ileri çalışmalar yapılır (34). Bizim çalışmamızda iki olgu, MMR defektif ve BRAF negatifti. Bu iki olguya Lynch Sendromu tanısı için ileri çalışmalar yapılmalıdır.

Çalışmamızda olguların MSI durumu ile KRAS, NRAS, BRAF mutasyon durumları arasında doğrudan bir ilişki izlenmedi.



6. SONUÇLAR

Bu çalışmada Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2018-2022 yılları arasında kolorektal adenokarsinom tanısı almış 224 vakanın, MSI durumu ile klinikopatolojik, histomorfolojik ve moleküler bulgular arasındaki ilişkisini inceledik.

- Çalışmamızda olguların %26,3'ü MMR defektif olup, bu oran literatüre göre yüksektir.
- MMR genleri içinde, en yüksek ekspresyon kaybı %29 oranıyla MLH-1'dir.
- MMR defektif olgular ile erkek cinsiyet, düşük metastaz oranı, sağ kolon yerleşimi, büyük tümör çapı, immatür stromanın az olması, tümör stroma oranının yüksek olması ilişkili bulunmuştur.
- MMR defektif olgular ile yaş, histolojik alt tip, sağkalım, pT ve N evrelemesi, polip varlığı, diferansiasyon, tümör nodüllerinin varlığı, kirli nekroz varlığı, büyüme paterni arasında ilişki izlenmemiştir.
- Serimizde erkeklerin oranı %59, kadınların oranı %41 olup, literatür ile uyumludur.
- MMR defektif olguların %72,9'u erkek olup, bu oran literatüre göre daha yüksektir.
- Olguların en genci 21, en yaşlısı 85 yaşında olup, yaş ortalaması 55'tir.
- MMR defektif KRK'lerin yaş ortalaması 54,6 olup tüm olgularımızın yaş ortalamasına yakın, literatüre göre düşüktür. Çalışmamızda 50 yaş altındaki olgularda MMR defektifliğine artış izlenmemiştir.
- Literatürün tersine MMR stabil hastaların sağkalımı, MMR defektif hastalara göre kısmen daha iyi bulunmuş fakat istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki izlenmemiştir.
- MMR defektif olgularda daha az lenf nodu metastazı izlenmesine karşın, fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.
- Literatür ile uyumlu olarak, MMR defektif olgularda daha az oranda uzak metastaz saptanmış olup, bu iki parametre arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır.

- Literatür ile uyumlu olarak olgular, KRK'ler çoğunlukla sol kolon ve rektum yerleşimli iken, MMR defektif olguların çoğu sağ kolon yerleşimliydi. Tümör yerleşimi ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmiştir.
- MMR defektif olguların tümör çapının anlamlı ölçüde daha büyük olduğu saptanmıştır.
- Diferansiasyon azlığı, MMR defektif olgularda daha yüksek olsa da literatürdeki gibi istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşamamıştır.
- Literatür ile uyumlu şekilde, MMR defektif olgularda daha düşük oranda tümör tomucuklanması izlenmiştir.
- Literatürün aksine desmoplazi türü ile MSI durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmiştir ve MMR stabil olgularda daha fazla immatür stroma görülmüştür.
- MMR defektif olgularda stroma oranı anlamlı biçimde daha düşük bulunmuştur.
- MMR defektif olgularda itici büyüme paterninin oranı daha fazla görülse de istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır.
- Olgularımızın %55,7'si KRAS, %23,8'i NRAS, %2,2'si BRAF pozitifdir. Literatürle uyumlu şekilde, bu üçü arasında en sık KRAS mutasyonu görülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-49.
2. Sağlık Bakanlığı. Türkiye Kanser İstatistikleri 2015. TC Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Müdürlüğü. 2015;1-48
3. Uzun E, Sarioğlu S. Rektal Karsinogenez Mekanizmaları. *Türkiye Klinikleri Radyasyon Onkol - Özel Konular.* 2020;6(1):19-27.
4. Nagtegaal ID, Arends M, Salto-Tellez M. Colorectal Adenocarcinoma: Tumours of the Colon and Rectum. In: "World Health Organization Classification of Tumours of the Digestive System"
5. Nguyen HT, Duong HQ. The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy (Review). *Oncol Lett.* 2018;16(1):9-18.
6. Carethers Jm. Hereditary, Sporadic And Metastatic Colorectal Cancer Are Commonly Driven By Specific Spectrums Of Defective Dna Mismatch Repair Components. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2016;127:81-97.
7. Kang S, Na Y, Joung SY, Lee SI, Oh SC, Min BW. The significance of microsatellite instability in colorectal cancer after controlling for clinicopathological factors. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(9):e0019.
8. Cigalı BS. Sindirim sistemi (systema digestorium). İçinde: Gökmen FG (Ed.). *Sistemik Anatomi.* İzmir: İzmir Güven Kitabevi, 2003: 455-530.
9. Mahadevan V. Anatomy of the caecum, appendix and colon. *Surgery (Oxford)* 2019; 38(1): 1-6. In
10. Standring S, Borley NR, Gray H, Editors. *Gray's anatomy: the anatomical basis of clinical practice.* 40th ed., anniversary ed. Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier; 2008. 1551 s.
11. Hansen JT. Abdomen. In: *Netter's Clinical Anatomy.* 3rd ed. 2014. p. 162-3.
12. Mahadevan V. Anatomy of the rectum and anal canal. *Surgery (Oxford)* 2019; 38(1): 7-11.
13. Aktekin M, Bayramoğlu A, Keskinöz EN. *Temel İnsan Anatomisi.* Acıbadem Üniversitesi Yayını; 2021.
14. Peters JH, McFadden DW, Matthews JB, Pemberton JH. Section Editors. İçinde: Yeo CJ, editor. *Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract (Seventh Edition).* Philadelphia: W.B. Saunders; 2013. s. ii.

15. Sadler TW. Langman Medikal Embriyoloji. Başaklar AC (Çeviren). 13. Baskı, Ankara: Palme Yayınevi, 2020.
16. Anthony L. Mescher, Junqueira Temel Histoloji Konu ve Atlas. Çeviren. Solakoğlu S, Erdoğan A, Mutlu H S. 14. Baskı, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2019.
17. Detlev Drenckhahn, Anatomie von Detlev Drenckhahn, Elsevier, 2008 | ISBN 978-3-437-42342-0 |
18. Turner JR. The gastrointestinal tract. In: Kumar V, Abbas AK, Aster JC (Eds.). Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 9. ed., Canada: Elsevier Saunders, 2015: 749-820.
19. Cooper HS. Bağırsak tümörleri. İçinde: Mills SE (Ed.). Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology 6. ed., Volume 2, Türkçe. Güllüoğlu M, Yegen G, Öztürk Sarı Ş (Çevirenler). Bülbül Doğusoy G (Çeviri Ed.). İzmir: O'Tıp Kitabevi ve Yayıncılık, 2016.
20. Rosai J: Gastrointestinal Trakt "Rosai and Ackerman'ın Cerrahi Patolojisi" Çev Ed: Prof. Dr Ş.O.Özdamar, 10. Baskı, 731-732, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2015.
21. Chapman I. Adenomatous Polypi of Large Intestine: Incidence and Distribution. Ann Surg. 1963;157(2):223-6.
22. Dervişoğlu S., Çakır A., Kösemehmetoğlu K. Patolojide Tuzaklar, Kongre Kitabevi, 2022
23. Crockett SD, Nagtegaal ID. Terminology, Molecular Features, Epidemiology, and Management of Serrated Colorectal Neoplasia. Gastroenterology. 2019;157(4):949-966.e4.
24. Odze RD, Goldblum JR (Eds.). Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas. 2. ed., China: Saunders Elsevier, 2009
25. Carneiro F, Arends MJ, Lax SF et al. Genetic tumour syndromes of the digestive system. In: The WHO Classification of Tumours Editorial Board (Ed.). WHO Classification of Tumours, Digestive System Tumours. 5. ed., Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC), 2019: 511-550.
26. Globocan 2020, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/10_8_9-Colorectum-fact-sheet.pdf
27. Xi Y, Xu P. Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040. Transl Oncol. 01 Ekim 2021;14(10):101174.

28. Turkey- Globocan 2020, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization.: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/792-turkey-fact-sheets.pdf>
29. Kim KM, Ahn AR, Park HS, Jang KY, Moon WS, Kang MJ, et al. Clinical significance of p53 protein expression and TP53 variation status in colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2022;22(1):940.
30. Jin Z, Sinicrope FA. Prognostic and Predictive Values of Mismatch Repair Deficiency in Non-Metastatic Colorectal Cancer. *Cancers*. 2021;13(2):300.
31. Kawakami H, Zaanani A, Sinicrope FA. Microsatellite instability testing and its role in the management of colorectal cancer. *Curr Treat Options Oncol*.;16(7):30.
32. Parente P, Grillo F, Vanoli A, Macciomei MC, Ambrosio MR, Scibetta N, et al. The Day-To-Day Practice of MMR and MSI Assessment in Colorectal Adenocarcinoma: What We Know and What We Still Need to Explore. *Dig Dis Basel Switz*. 2023;41(5):746-56.
33. Mei WJ, Mi M, Qian J, Xiao N, Yuan Y, Ding PR. Clinicopathological characteristics of high microsatellite instability/mismatch repair-deficient colorectal cancer: A narrative review. *Front Immunol*. 2022;13:1019582.
34. Chen W, Frankel WL. A practical guide to biomarkers for the evaluation of colorectal cancer. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. 2019;32(Suppl 1):1-15.
35. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al. 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*. 1998;58(22):5248-57.
36. Jung SB, Lee HI, Oh HK, Shin IH, Jeon CH. Clinico-pathologic Parameters for Prediction of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *Cancer Res Treat Off J Korean Cancer Assoc*. 2012;44(3):179-86.
37. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(4):261-8.
38. Ogino S, Kawasaki T, Kirkner GJ, Kraft P, Loda M, Fuchs CS. Evaluation of markers for CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer by a large population-based sample. *J Mol Diagn JMD*.;9(3):305-14.
39. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*. 2000;124(7):979-94.

40. Anwar MA, D'Souza F, Coulter R, Memon B, Khan IM, Memon MA. Outcome of acutely perforated colorectal cancers: experience of a single district general hospital. *Surg Oncol*. 2006;15(2):91-6.
41. Betge J, Pollheimer MJ, Lindtner RA, Kornprat P, Schlemmer A, Rehak P, et al. Intramural and extramural vascular invasion in colorectal cancer: prognostic significance and quality of pathology reporting. *Cancer*. 2012;118(3):628-38.
42. Perineural invasion is an independent predictor of outcome in colorectal cancer - PubMed adress: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19738119/>
43. © 2023 College of American Pathologists (CAP)-Colorectal-4.2.0.2.pdf
44. Fan S, Cui X, Zheng L, Ma W, Zheng S, Wang J, et al. Prognostic value of desmoplastic stromal reaction, tumor budding and tumor-stroma ratio in stage II colorectal cancer. *J Gastrointest Oncol*
45. Koelzer VH, Lugli A. The Tumor Border Configuration of Colorectal Cancer as a Histomorphological Prognostic Indicator. *Front Oncol*. 2014;4:29.
46. Jimenez-Rodriguez RM, Patil S, Keshinro A, Shia J, Vakiani E, Stadler Z, et al. Quantitative assessment of tumor-infiltrating lymphocytes in mismatch repair proficient colon cancer. *Oncoimmunology*. 9(1):1841948.
47. Ueno H, Hashiguchi Y, Shimazaki H, Shinto E, Kajiwara Y, Nakanishi K, et al. Objective Criteria for Crohn-like Lymphoid Reaction in Colorectal Cancer. *Am J Clin Pathol*. 2013;139(4):434-41.
48. Konishi Y, Taki T, Nakai T, Kuroe T, Morisue R, Miyoshi T, et al. Clinicopathological features and prognostic impact of dirty necrosis in metastatic lung cancers from the colon and rectum. *Cancer Sci*. 2022;114(5):2169-77.
49. Pelt GW van, Kjær-Frifeldt S, Krieken JHJM van, Dieri RA, Morreau H, Tollenaar R a. EM, et al. Scoring the tumor-stroma ratio in colon cancer: procedure and recommendations. *Virchows Arch*. 2018;473(4):405.
50. Ueno H, Jones AM, Wilkinson KH, Jass JR, Talbot IC. Histological categorisation of fibrotic cancer stroma in advanced rectal cancer. *Gut*. 2004;53(4):581-6.
51. Zippi M, Toma GD, Minervini G, Cassieri C, Pica R, Colarusso D, et al. Desmoplasia Influenced Recurrence of Disease and Mortality in Stage III Colorectal Cancer within Five Years after Surgery and Adjuvant Therapy. *Saudi J Gastroenterol Off J Saudi Gastroenterol Assoc*. 2017;23(1):39.
52. Ueno H, Nagtegaal ID, Quirke P, Sugihara K, Ajioka Y. Tumor deposits in colorectal cancer: Refining their definition in the TNM system. *Ann Gastroenterol Surg*. 2023;7(2):225-35.

53. Yamamoto H. Micrometastasis in lymph nodes of colorectal cancer. *Ann Gastroenterol Surg.* 2022;6(4):466-73.
54. Lugli A, Kirsch R, Ajioka Y, Bosman F, Cathomas G, Dawson H, et al. Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. *Mod Pathol.* 2017;30(9):1299-311.
55. Riihimäki M, Hemminki A, Sundquist J, Hemminki K. Patterns of metastasis in colon and rectal cancer. *Sci Rep.* 2016;6:29765.
56. Warusavitarne J, Ramanathan P, Kaufman A, Robinson BG, Schnitzler M. 5-fluorouracil (5FU) treatment does not influence invasion and metastasis in microsatellite unstable (MSI-H) colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2006;21(7):625-31.
57. Aebi S, Kurdi-Haidar B, Gordon R, Cenni B, Zheng H, Fink D, et al. Loss of DNA mismatch repair in acquired resistance to cisplatin. *Cancer Res.* 1996;56(13):3087-90.
58. Niv Y. Biologic behavior of microsatellite-unstable colorectal cancer and treatment with 5-fluorouracil. *Isr Med Assoc J IMAJ.* 2005;7(8):520-4.
59. Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, Thibodeau SN, Labianca R, Hamilton SR, et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2010;28(20):3219-26.
60. Des Guetz G, Schischmanoff O, Nicolas P, Perret GY, Morere JF, Uzzan B. Does microsatellite instability predict the efficacy of adjuvant chemotherapy in colorectal cancer? A systematic review with meta-analysis. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2009;45(10):1890-6.
61. Guastadisegni C, Colafranceschi M, Ottini L, Dogliotti E. Microsatellite instability as a marker of prognosis and response to therapy: a meta-analysis of colorectal cancer survival data. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2010;46(15):2788-98.
62. Sawicki T, Ruszkowska M, Danielewicz A, Niedźwiedzka E, Arłukowicz T, Przybyłowicz KE. A Review of Colorectal Cancer in Terms of Epidemiology, Risk Factors, Development, Symptoms and Diagnosis. *Cancers.* 2021;13(9):2025.
63. Hossain MdS, Karuniawati H, Jairoun AA, Urbi Z, Ooi DJ, John A, et al. Colorectal Cancer: A Review of Carcinogenesis, Global Epidemiology, Current Challenges, Risk Factors, Preventive and Treatment Strategies. *Cancers.* 2022;14(7):1732.
64. Alzahrani SM, Al Doghaither HA, Al-Ghafari AB. General insight into cancer: An overview of colorectal cancer (Review). *Mol Clin Oncol.* 2021;15(6):1-8.

65. Lindor NM, Burgart LJ, Leontovich O, Goldberg RM, Cunningham JM, Sargent DJ, et al. Immunohistochemistry Versus Microsatellite Instability Testing in Phenotyping Colorectal Tumors. *J Clin Oncol*. 2002;20(4):1043-8.
66. Iacopetta B, Grieu F, Amanuel B. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Asia Pac J Clin Oncol*. 2010;6(4):260-9.
67. Al-Sohaily S, Biankin A, Leong R, Kohonen-Corish M, Warusavitarne J. Molecular pathways in colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepatol*. 2012;27(9):1423-31.
68. Jass JR. HNPCC and sporadic MSI-H colorectal cancer: a review of the morphological similarities and differences. *Fam Cancer*. 2004;3(2):93-100.
69. Battaglin F, Naseem M, Lenz HJ, Salem ME. Microsatellite Instability in Colorectal Cancer: Overview of Its Clinical Significance and Novel Perspectives. *Clin Adv Hematol Oncol HO*. 2018;16(11):735-45.
70. SEER Cancer of the Colon and Rectum - Cancer Stat Facts. Address: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/colorect.html>
71. Keum N, Giovannucci E. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16(12):713-32.
72. Graff RE, Möller S, Passarelli MN, Witte JS, Skytthe A, Christensen K, et al. Familial Risk and Heritability of Colorectal Cancer in the Nordic Twin Study of Cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2017;15(8):1256-64.
73. Kim JH, Kang GH. Molecular and prognostic heterogeneity of microsatellite-unstable colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20(15):4230-43.
74. Amersi F, Agustin M, Ko CY. Colorectal cancer: epidemiology, risk factors, and health services. *Clin Colon Rectal Surg*. 2005;18(3):133-40.
75. Ettarh R. Screening for Colorectal Cancer with Colonoscopy. *BoD – Books on Demand*; 2015. 154 s.
76. Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Przegląd Gastroenterol*. 2019;14(2):89-103.
77. Wong MCS, Huang J, Lok V, Wang J, Fung F, Ding H, et al. Differences in Incidence and Mortality Trends of Colorectal Cancer Worldwide Based on Sex, Age, and Anatomic Location. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2021;19(5):955-966.e61.

78. Greenson JK, Huang SC, Herron C, Moreno V, Bonner JD, Tomsho LP, et al. Pathologic Predictors of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(1):126-33.
79. Wright CL, Stewart ID. Histopathology and Mismatch Repair Status of 458 Consecutive Colorectal Carcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2003;27(11):1393.
80. Rantanen P, Keränen A, Barot S, Ghazi S, Liljegren A, Nordenvall C, et al. The prognostic significance of microsatellite instability in colorectal cancer: a Swedish multi-center study. *Int J Colorectal Dis*. 2023;38(1):197.
81. Sullivan BA, Noujaim M, Roper J. Cause, Epidemiology, and Histology of Polyps and Pathways to Colorectal Cancer. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2022;32(2):177-94.
82. Halvarsson B, Anderson H, Domanska K, Lindmark G, Nilbert M. Clinicopathologic factors identify sporadic mismatch repair-defective colon cancers. *Am J Clin Pathol*. 2008;129(2):238-44.
83. Kim CG, Ahn JB, Jung M, Beom SH, Kim C, Kim JH, et al. Effects of microsatellite instability on recurrence patterns and outcomes in colorectal cancers. *Br J Cancer*. 2016;115(1):25-33.
84. Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2005;23(3):609-18.
85. Schwitalle Y, Kloor M, Eiermann S, Linnebacher M, Kienle P, Knaebel HP, et al. Immune response against frameshift-induced neopeptides in HNPCC patients and healthy HNPCC mutation carriers. *Gastroenterology*. 2008;134(4):988-97.
86. Flecchia C, Zaanani A, Lahlou W, Basile D, Broudin C, Gallois C, et al. MSI colorectal cancer, all you need to know. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2022;46(9):101983.
87. Xiao H, Yoon YS, Hong SM, Roh SA, Cho DH, Yu CS, et al. Poorly Differentiated Colorectal Cancers: Correlation of Microsatellite Instability With Clinicopathologic Features and Survival. *American Journal of Clinical Pathology*. 2013;140(3):341-7.
88. Hutchins G, Southward K, Handley K, Magill L, Beaumont C, Stahlschmidt J, et al. Value of mismatch repair, KRAS, and BRAF mutations in predicting recurrence and benefits from chemotherapy in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2011;29(10):1261-70.
89. Baran B, Mert Ozupek N, Yerli Tetik N, Acar E, Bekcioglu O, Baskin Y. Difference Between Left-Sided and Right-Sided Colorectal Cancer: A Focused Review of Literature. *Gastroenterol Res*. 2018;11(4):264-73.

90. Boland CR, Goel A. Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 2010;138(6):2073-2087.e3.
91. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science*. 1993;260(5109):816-9.
92. Lanza G, Gafà R, Maestri I, Santini A, Matteuzzi M, Cavazzini L. Immunohistochemical pattern of MLH1/MSH2 expression is related to clinical and pathological features in colorectal adenocarcinomas with microsatellite instability. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. 2002;15(7):741-9.
93. Maeda Y, Sadahiro S, Suzuki T, Haruki Y, Nakamura N. Significance of the mucinous component in the histopathological classification of colon cancer. *Surg Today*. 2016;46(3):303-8.
94. Malik A, Bhatia JK, Sahai K, Boruah D, Sharma A. Evaluating morphological features for predicting microsatellite instability status in colorectal cancer. *Med J Armed Forces India*. 2022;78:S96-104.
95. Toledo DEFWM van, IJspeert JEG, Spaander MCW, Nagtegaal ID, Leerdam ME van, Lansdorp-Vogelaar I, et al. Colorectal cancer risk after removal of polyps in fecal immunochemical test based screening. *eClinicalMedicine* 2023
96. Gryfe R, Kim H, Hsieh ET, Aronson MD, Holowaty EJ, Bull SB, et al. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2000;342(2):69-77.
97. Wright CM, Dent OF, Barker M, Newland RC, Chapuis PH, Bokey EL, et al. Prognostic significance of extensive microsatellite instability in sporadic clinicopathological stage C colorectal cancer. *Br J Surg*. 2000;87(9):1197-202.
98. Alexander J, Watanabe T, Wu TT, Rashid A, Li S, Hamilton SR. Histopathological Identification of Colon Cancer with Microsatellite Instability. *Am J Pathol*. 2001;158(2):527-35.
99. Puppa G, Maisonneuve P, Sonzogni A, Masullo M, Capelli P, Chilosi M, et al. Pathological assessment of pericolonic tumor deposits in advanced colonic carcinoma: relevance to prognosis and tumor staging. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. 2007;20(8):843-55.
100. Zhang M, Hu W, Hu K, Lin Y, Feng Z, Yun JP, et al. Association of KRAS mutation with tumor deposit status and overall survival of colorectal cancer. *Cancer Causes Control CCC*. 2020;31(7):683-9.
101. Koelzer VH, Zlobec I, Lugli A. Tumor budding in colorectal cancer—ready for diagnostic practice? *Hum Pathol*. 2016;47(1):4-19.
102. Topal U, Gülcan P, Yüksel S, Teke Z, Bektaş H, Duman M. The relationship between microsatellite instability in colorectal adenocarcinoma and tumor

- budding and histopathological parameters. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2023;27(20):9793-800.
103. Lugli A, Vljajnic T, Giger O, Karamitopoulou E, Patsouris ES, Peros G, et al. Intratumoral budding as a potential parameter of tumor progression in mismatch repair-proficient and mismatch repair-deficient colorectal cancer patients. *Hum Pathol.* 2011;42(12):1833-40.
 104. Eriksen AC, Sørensen FB, Lindebjerg J, Hager H, dePont Christensen R, Kjær-Frifeldt S, et al. The Prognostic Value of Tumor-Infiltrating lymphocytes in Stage II Colon Cancer. A Nationwide Population-Based Study. *Transl Oncol.* 2018;11(4):979-87.
 105. Giannakis M, Mu XJ, Shukla SA, Qian ZR, Cohen O, Nishihara R, et al. Genomic Correlates of Immune-Cell Infiltrates in Colorectal Carcinoma. *Cell Rep.* 2016;15(4):857-65.
 106. Innocenti F, Ou FS, Qu X, Zemla TJ, Niedzwiecki D, Tam R, et al. Mutational Analysis of Patients With Colorectal Cancer in CALGB/SWOG 80405 Identifies New Roles of Microsatellite Instability and Tumor Mutational Burden for Patient Outcome. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2019;37(14):1217-27.
 107. Williams DS, Mouradov D, Jorissen RN, Newman MR, Amini E, Nickless DK, et al. Lymphocytic response to tumour and deficient DNA mismatch repair identify subtypes of stage II/III colorectal cancer associated with patient outcomes. *Gut.* 2019;68(3):465-74.
 108. Eriksen AC, Andersen JB, Kristensson M, dePont Christensen R, Hansen TF, Kjær-Frifeldt S, et al. Computer-assisted stereology and automated image analysis for quantification of tumor infiltrating lymphocytes in colon cancer. *Diagn Pathol.* 2017;12(1):65.
 109. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol.* 2015;26(2):259-71.
 110. Iseki Y, Shibutani M, Maeda K, Nagahara H, Fukuoka T, Matsutani S, et al. A new method for evaluating tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in colorectal cancer using hematoxylin and eosin (H-E)-stained tumor sections. *PLoS ONE.* 2018;13(4):e0192744.
 111. Klintrup K, Mäkinen JM, Kauppila S, Väre PO, Melkko J, Tuominen H, et al. Inflammation and prognosis in colorectal cancer. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2005;41(17):2645-54.

112. Huh JW, Lee JH, Kim HR. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes for patients with colorectal cancer. *Arch Surg Chic Ill* 1960. 2012;147(4):366-72.
113. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ*. 2018;25(3):486-541.
114. Kuroe T, Watanabe R, Kojima M, Morisue R, Sugano M, Kuwata T, et al. Evaluation of the morphological features and unfavorable prognostic impact of dirty necrosis in renal cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2021;147(4):1089-100.
115. Greenson JK, Bonner JD, Ben-Yzhak O, Cohen HI, Miselevich I, Resnick MB, et al. Phenotype of Microsatellite Unstable Colorectal Carcinomas: Well-Differentiated and Focally Mucinous Tumors and the Absence of Dirty Necrosis Correlate With Microsatellite Instability. *Am J Surg Pathol*. 2003;27(5):563.
116. Angeli F, Koumakis G, Chen MC, Kumar S, Delinassios JG. Role of stromal fibroblasts in cancer: promoting or impeding? *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med*. 2009;30(3):109-20.
117. Nearchou IP, Kajiwarra Y, Mochizuki S, Harrison DJ, Caie PD, Ueno H. Novel Internationally Verified Method Reports Desmoplastic Reaction as the Most Significant Prognostic Feature For Disease-specific Survival in Stage II Colorectal Cancer. *Am J Surg Pathol*. 2019;43(9):1239.
118. Mesker W, Liefers GJ, Junggeburst J, Van Pelt G, Alberici P, Kuppen PJK, et al. Presence of a High Amount of Stroma and Downregulation of SMAD4 Predict for Worse Survival for Stage I–II Colon Cancer Patients. *Analytical Cellular Pathology*. 2009;31:169-78.
119. Mesker WE, Junggeburst JMC, Szuhai K, de Heer P, Morreau H, Tanke HJ, et al. The carcinoma-stromal ratio of colon carcinoma is an independent factor for survival compared to lymph node status and tumor stage. *Cell Oncol*. 2007;29(5):387-98.
120. Huijbers A, Tollenaar RAEM, v Pelt GW, Zeestraten ECM, Dutton S, McConkey CC, et al. The proportion of tumor-stroma as a strong prognosticator for stage II and III colon cancer patients: validation in the VICTOR trial. *Ann Oncol*. 2013;24(1):179-85.
121. Zlobec I, Baker K, Minoo P, Hayashi S, Terracciano L, Lugli A. Tumor border configuration added to TNM staging better stratifies stage II colorectal cancer patients into prognostic subgroups. *Cancer*. 2009;115(17):4021-9.
122. Halvorsen TB, Seim E. Association between invasiveness, inflammatory reaction, desmoplasia and survival in colorectal cancer. *J Clin Pathol*. 1989;42(2):162-6.

123. Román R, Verdú M, Calvo M, Vidal A, Sanjuan X, Jimeno M, et al. Microsatellite instability of the colorectal carcinoma can be predicted in the conventional pathologic examination. A prospective multicentric study and the statistical analysis of 615 cases consolidate our previously proposed logistic regression model. *Virchows Arch.* 2010;456(5):533-41.
124. Yuan L, Chi Y, Chen W, Chen X, Wei P, Sheng W, et al. Immunohistochemistry and microsatellite instability analysis in molecular subtyping of colorectal carcinoma based on mismatch repair competency. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(11):20988-1000.
125. Carethers JM, Jung BH. Genetics and Genetic Biomarkers in Sporadic Colorectal Cancer. *Gastroenterology.* 2015;149(5):1177-1190.e3.
126. Ahmed M. Colon Cancer: A Clinician's Perspective in 2019. *Gastroenterol Res.* 2020;13(1):1-10.
127. Sanz-Garcia E, Argiles G, Elez E, Tabernero J. BRAF mutant colorectal cancer: prognosis, treatment, and new perspectives. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2017;28(11):2648-57.
128. Guo T, Wu Y, Tan C, Jin Y, Sheng W, Cai S, et al. Clinicopathologic features and prognostic value of KRAS, NRAS and BRAF mutations and DNA mismatch repair status: A single-center retrospective study of 1,834 Chinese patients with Stage I-IV colorectal cancer. *Int J Cancer.* 2019;145(6):1625-34.
129. Imamura Y, Lochhead P, Yamauchi M, Kuchiba A, Qian ZR, Liao X, et al. Analyses of clinicopathological, molecular, and prognostic associations of KRAS codon 61 and codon 146 mutations in colorectal cancer: cohort study and literature review. *Mol Cancer.* 2014;13:135.
130. Richman SD, Seymour MT, Chambers P, Elliott F, Daly CL, Meade AM, et al. KRAS and BRAF mutations in advanced colorectal cancer are associated with poor prognosis but do not preclude benefit from oxaliplatin or irinotecan: results from the MRC FOCUS trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2009;27(35):5931-7.
131. Fariña-Sarasqueta A, van Lijnschoten G, Moerland E, Creemers GJ, Lemmens VEPP, Rutten HJT, et al. The BRAF V600E mutation is an independent prognostic factor for survival in stage II and stage III colon cancer patients. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2010;21(12):2396-402.
132. Hu J, Yan WY, Xie L, Cheng L, Yang M, Li L, et al. Coexistence of MSI with KRAS mutation is associated with worse prognosis in colorectal cancer. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(50):e5649.

