

**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KOLONİK HİPERPLASTİK VE ADENOMATÖZ POLİPLER İLE
KOLONİK KARSİNOMLARDA İMMÜNHİSTOKİMYASAL
OLARAK CD44 VE LGR5 EKSPRESYONU
VE KARSİNOGENEZİSDEKİ ROLÜ**

DR. DİLARA YILDIZ

UZMANLIK TEZİ

KIRIKKALE

2015

**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KOLONİK HİPERPLASTİK VE ADENOMATÖZ POLİPLER İLE
KOLONİK KARSİNOMLARDA İMMÜNİSTOKİMYASAL
OLARAK CD44 VE LGR5 EKSPRESYONU
VE KARSİNOGENEZİSDEKİ ROLÜ**

DR.DİLARA YILDIZ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Yrd.Doç.Dr.Mahi BALCI

KIRIKKALE

2015

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Patoloji Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 15/ 09/ 2015

Yrd. Doç. Dr. Mahi BALCI
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Patoloji AD
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Pınar ATASOY
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Patoloji AD
Üye

Doç. Dr. Ebru Şebnem AYVA
Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Patoloji AD
Üye

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmalarım süresince her konuda yardımını yanımda hissettiğim, bilgi, öneri ve deneyimlerinden faydalandığım değerli tez danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız Yrd. Doç. Dr Mahi Balcı'ya,

Bize mesleki bilgi ve tecrübelerini tükenmez sabır ve özenle aktaran, patolojinin temel inceliklerini gösteren, akademik ortamda olduğu kadar insan ilişkilerinde de yetişme ve gelişmeye katkıda bulunan değerli hocamız Prof. Dr. Pınar Atasoy'a,

Uzun bir süre önce aramızdan ayrılan, meslek hayatına hazırlanmamızda emeğini ve sabrını esirgemeyerek yetişme ve gelişmemize çok büyük katkıları olan değerli hocamız Prof. Dr. Önder Bozdoğan'a,

Çalışmış olduğumuz kısa dönemde bilgi ve deneyimlerini bizden esirgemeyen değerli hocamız Doç. Dr. Ebru Şebnem Ayva'ya,

Aramıza yeni katılmasına rağmen her zaman yanımda olan ve desteğini hiç esirgemeyen değerli hocamız Yrd. Doç. Dr. Canan Altunkaya'ya,

Dostluk, paylaşma ve dayanışmanın zirvelerde yaşandığı asistanlık ortamımızda birlikte uyum içinde çalıştığım arkadaşlarım Dr. Sami Turan'a, Dr. Mustafa Emre Ercin'e, Dr. Fatma Benli Tanrıku'ya, Dr. Yeşim Yıldırım'a, Dr. Gülten Aydın'a, Dr. Ayşe Özbek'e ve Dr.Gülhan Özdemir'e,

Teknik konulardaki yardım ve destekleri için Uğur Esen'e, Selahattin Gönay'a, Muharrem Atlı'ya, Yasin Dilbaz'a ve Kübra Bozkurt'a

Bu uzun ve zorlu tıp hayatımız süresince her zaman yanımda olan, desteğini ve sevgisini hep üzerimde hissettiğim değerli hayat arkadaşım Selçuk Yıldız'a, çalışmalarımı değişik şekillerde sabote etmeyi başaran bitanecik kızımız Erva'mıza teşekkür ederim.

ÖZET

KOLONİK HİPERPLASTİK VE ADENOMATÖZ POLİPLER İLE KOLONİK KARSİNOMLARDA İMMÜNHİSTOKİMYASAL OLARAK CD44 VE LGR5 EKSPRESYONU VE KARSİNOGENEZİSDEKİ ROLÜ

Kolorektal karsinomalar dünyada 4.sıklıkta görülen, özellikle endüstriyel ülkelerde 40'lı yaşlardan sonra görülme sıklığı iki kat artan neoplazmlardır. İyi tanımlanmış olan familyal sendromlarda görülen kolorektal karsinomalar olabileceği gibi, çoğu sporadik olup mekanizması kesin olarak anlaşılamamış, ancak genetik değişikliklerin akümülyasyonu ile adenoma-karsinoma sekansı sonucu multistep bir süreci izleyerek gelişir; bu açıdan oluşumlarında sıklıkla prekürsör lezyon adenomatöz poliplerdir. Bu çalışmanın amacı kolonik hiperplastik ve adenomatöz polipler ile kolonik adenokarsinomda CD44 ve LGR5 ekspresyon paternlerinin ve aralarındaki ilişkinin incelenmesidir.

Çalışmamızda 15 hiperplastik polip, 15 tübüler adenoma, 15 villöz adenoma ve kalan 15 tanesinde kolon adenokarsinoma örneklerini dahil ettik; nükleer LGR5 ve membranöz CD44 immünhistokimyasal ekspresyonlarının hiperplastik polip, adenomatöz polipler ve kolon adenokarsinomunda ve karsinogenezis aşamalarındaki rollerini inceledik.

Çalışmamızda CD44 sitoplazmik membran, LGR5 nükleer boyamasınının hiperplastik polipten, adenomaya; adenomadan, adenokarsinomaya ilerledikçe olan değişik boyanma paternlerini istatistiksel olarak inceledik. Patoloji spesmenleri CD44 ve LGR5 immünboyamaları ile H-skoru (0-300) kullanılarak skorlandı. Villöz adenom LGR5 immün boyasıyla değerlendirildiğinde, hiperplastik polip ($p=0.038$), tübüler adenoma ($p=0.008$) ve kolon adenokarsinomasından ($p=0.034$) çok daha fazla eksprese edildiği görülmüştür. CD44 immün boyası hiperplastik polip'te tübüler adenoma ($p=0.001$), villöz adenoma ($p=0.001$) ve kolon adenokarsinomaya ($p=0,026$) oranla artmış ekspresyon göstermiştir.

Sonuçlarımız artmış CD44 ekspresyonlarının kolorektal karsinogenezle ilişkili olduğunu fakat LGR5 ekspresyonlarının adenomatöz değişikliğin erken evrelerinde etkili olduğuyönündedir. Bu çalışmada CD44 ekspresyonunun prognostik açıdan bize daha fazla bilgi verebileceği anlaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Kolorektal adenom, kolorektal adenokarsinom, CD44, LGR5

ABSTRACT

THE IMMUNOHISTOCHEMICAL EXPRESSION OF CD44 AND LGR5 IN COLONIC HYPERPLASTIC AND ADEMATOUS POLYPS AND COLON CARCINOMA AND ROLE OF THEM IN CARCINOGENESIS

Colorectal cancer is the fourth ranking cancer worldwide and exhibits two-fold increase in industrialized countries after the age of 40s. Although there are well defined colorectal carcinomas associated with familial syndromes, most of them are sporadic cancers occur with an unclear mechanism but supposed to develop by following a multistep process which is the result of an adenoma-carcinoma sequence consists of accumulation of genetical changes; so that mostly the precursor lesions are adenomatous polyps. The aim of this study is to examine the distribution and interrelation between the expression patterns of CD44 and LGR5 in hyperplastic polyp, adenomatous and carcinomatous areas of the colorectal tissue.

In our study, we have included 15 hyperplastic polyp, 15 tubular adenoma, 15 villous adenoma and 15 unit colonic adenocarcinoma samples. We analyzed the immunohistochemical expression of nuclear LGR5 and membranous CD44 in carcinogenesis with in colonic hyperplastic, adenomatous polyps and colonic adenocarcinoma.

In our study, we analyzed the progression from hyperplastic polyp to adenocarcinoma, which was statistically different staining pattern with membranous CD44 and nuclear LGR5. Pathology specimens were scored by using HSCORE with CD44 and LGR5 immunostaining. Villous adenomas have evaluated with the other specimens by LGR5 immune paint; hyperplastic polyps ($p = 0.038$), tubular adenoma ($p = 0.008$) and colon adenocarcinoma ($p = 0.034$), which were found to be much more express. Hyperplastic polyps compared with tubular adenoma ($P = 0.001$), villous adenoma ($P = 0.001$) and colon adenocarcinoma ($p = 0.026$), which showed rise expression with CD44 immune paint.

Our results associate with colorectal carcinogenesis of increased expression of CD44, but expressions of LGR5 effective in the early stages in adenomatous changes. In this study which may provide more information for us in terms of understanding the prognostic value of CD44 expression.

Key words: Colorectal adenoma, colorectal adenocarcinoma, CD44, LGR5

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
RESİMLER.....	viii
ŞEKİLLER.....	ix
TABLolar	x
GRAFİKLER.....	x
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.KOLONUN ANATOMİSİ VE HİSTOLOJİSİ	3
2.1.1.Anatomi:.....	3
2.1.2.Histoloji:	3
2.2.KOLON ADENOMA VE KARSİNOMALARI	5
2.3.ADENOMLARDA TANI VE KLİNİK ÖZELLİKLER	5
2.4.GROSS ÖZELLİKLERİ	6
2.5.HİSTOLOJİK ÖZELLİKLER.....	6
2.5.1.TÜBÜLER ADENOMA	6
2.5.2.VİLLÖZ ADENOMA	7
2.5.3.TÜBÜLOVİLLÖZ ADENOM	7
2.6.ADENOMALARDA HÜCRE TİPLERİ.....	7
2.6.1.'SERRATED' POLİPLER	8
2.7.GLANDLARIN PSÖDOKARSİNOMATÖZ HAPSOLMASI	8
2.8.DÜŞÜK DERECELİ DİSPLAZİ.....	8
2.9.YÜKSEK DERECELİ DİSPLAZİ.....	9
2.10.KARSİNOGENEZİS	9
2.11.KOLOREKTAL KARSİNOMADA MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLER.....	9
2.11.1.KROMOZOMAL İNSTABİLİTE YOLAĞI	10
2.11.2.MİKROSATELLİT İNSTABİLİTE YOLAĞI	13
2.12.KOLOREKTAL KARSİNOMALAR.....	15
2.13.GROS ÖZELLİKLERİ.....	16
2.14.HİSTOLOJİK DERECELEME VE HÜCRE TİPLERİ	16
2.15.SUBTİPLENDİRME	17
2.16.FLAT KARSİNOMA.....	17
2.17.KOLOREKTAL KARSİNOMALARDA HİSTOLOJİK TİPLER	17
2.17.1.MÜSİNÖZ KARSİNOMALAR	17
DİĞER KOLONİK KARSİNOMALAR	18
2.18.KOLOREKTAL KARSİNOMALARDA EVRE	18
2.19.PROGNOZ.....	20
2.20.TEDAVİ.....	22
2.21.KOLOREKTAL KARSİNOMALARDA TÜMÖR MARKIRLARI	22
2.21.4.LGR5:.....	23
2.21.5.CD44:.....	24
GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1.Etik Kurul Onayı	26

3.2.Çalışma Grubunun Seçimi	27
3.3.İmmünohistokimyasal Boyama	27
3.4.İSTATİSTİKSEL YÖNTEM.....	28
BULGULAR.....	28
ÇİZGİ GRAFİKLER	29
TARTIŞMA.....	37
SONUÇLAR:.....	43
RESİMLER.....	44
KAYNAKLAR	51



SİMGELER ve KISALTMALAR

- AJCC: American Joint Comitte on Cancer
APC: Adenomatozis Polipozis Koli
HNPCC: Herediter Non-Polipozis Kolorektal Kanser
B-Katenin: Beta katenin
CEA: Karsinoembriyonik Antijen
HGF: Hepatosit Growth Faktör
TGF- α : Transforming Growth Faktör-alfa
TGF- β : Transforming Growth Faktör-beta
BAX: Bcl-2-Associated X protein
İBH: İnflamatuvar Barsak Hastalığı
ASCO: American Society of Clinical Oncology
TNM: Tümör, Nod, Metastaz
WHO: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

RESİMLER

RESİM 1: Hiperplastik Polip' de LGR5 pozitifliği (x40).....	44
RESİM 2: Hiperplastik Polip' de LGR5 pozitifliği (x100).....	45
RESİM 3: Hiperplastik Polip' de LGR5 pozitifliği (X200).....	45
RESİM 4: Hiperplastik Polip' de CD44 pozitifliği (x40).....	46
RESİM 5: Hiperplastik Polip' de CD44 pozitifliği (x100).....	46
RESİM 6: Tübüler Adenom' da LGR5 pozitifliği (x100).....	47
RESİM 7: Tübüler Adenom' da LGR5 pozitifliği (x200).....	47
RESİM 8: Tübüler Adenom' da CD44 pozitifliği (x100).....	48
RESİM 9: Villöz Adenom' da LGR5 pozitifliği (x100).....	48
RESİM 10: Villöz Adenom' da CD44 pozitifliği (x100).....	49
RESİM 10: Villöz Adenom' da CD44 pozitifliği (x40).....	49
RESİM 11: Kolon Karsinomu'nda LGR5 pozitifliği (X100).....	50
RESİM 12: Kolon Karsinomu'nda CD44 pozitifliği (X100).....	50



ŞEKİLLER

Şekil 2.1. APC/Beta-katenin yolağı	11
Şekil 2.2. K-RAS onkogen yolağı	12
Şekil 2.3. P53'ün fizyolojik ve genotoksik etkenlerle aktive olması sonucu büyümenin engellenmesi ve apoptozun aktive olması.....	13
Şekil 2.4. Kolorektal karsinomun oluşumunda genetik değişikliklerin izlediği yolaklar.	14
Şekil 2.5. Kolorektal karsinogenezdeki aşamalar ve bu aşamaları etkileyen kromozomal ve mikrosatellite yolakları.....	15
Şekil 2.6.LGR5'in kök hücre ve reseptör olarak fonksiyonlarını gösteren bir şekil. ..	24
Şekil 2.7.CD44'ün transmembran adezyon molekülü olarak ihtiva ettiği yapısal elemanlar.....	26



TABLULAR

Tablo 2.1.Kolorektal Karsinomalarda TNM Evreleme Parametreleri.....	19
Tablo 2.2.Kolorektal Tümörlerin TNM Evrelemesi ve Gruplar	20
Tablo 4.2.Hiperplastik polip,tübüler adenom,villöz adenom ve kolon adenokarsinomu'nda CD44 ve LGR5 pearson korelasyon tablosu	31

GRAFİKLER

Grafik 2.1. Grupların CD44 ekspresyonlarındaki H-SKOR değerlendirilmesi.....	30
Grafik 2.2. Grupların LGR5 ekspresyonlarının HSKOR değerlendirmesi.....	31
Grafik 2.3. CD44 ekspresyonunun hiperplastik polip,tübüler adenom ,villöz adenom ve kolon karsinomundaki H-SKOR dağılımı	32
Grafik 2.4. CD44 ekspresyonunun hiperplastik polipteki H-SKOR dağılımı	33
Grafik 2.5. LGR5 ekspresyonunun hiperplastik polipteki H-SKOR dağılımı	33
Grafik 2.6. CD44 ekspresyonunun tübüler adenomdaki H-SKOR dağılımı	34
Grafik 2.7. LGR5 ekspresyonunun tübüler adenomdaki H-SKOR dağılımı.....	34
Grafik 2.8. CD44 ekspresyonunun villöz adenomdaki H-SKOR dağılımı	35
Grafik 2.9. LGR5 ekspresyonunun villöz adenomdaki H-SKOR dağılımı.....	35
Grafik 2.10. CD44 ekspresyonunun kolon adenokarsinomundaki H-SKOR dağılımı	36
Grafik 2.11. LGR5 ekspresyonunun kolon karsinomundaki H-SKOR dağılımı.....	37

GİRİŞ

Kolorektal karsinomalar dünyada 4.sıklıkta görülen, özellikle endüstriyel ülkelerde 40'lı yaşlardan sonra görülme sıklığı iki kat artan neoplazmlardır. İyi tanımlanmış olan familyal sendromlarda görülen kolorektal karsinomalar olabileceği gibi, çoğu sporadik olup mekanizması kesin olarak anlaşılamamış, ancak genetik değişikliklerin akümüülasyonu ile adenoma-karsinoma sekansı sonucu multistep bir süreci izleyerek gelişir; bu açıdan oluşumlarında sıklıkla prekürsör lezyon adenomatöz poliplerdir.

Adenoma veya adenomatöz polip en az düşük grade'li displazi içeren epitelyal proliferasyon olarak tanımlanmıştır. Bu polipoid veya 'flat' büyüme gösteren lezyonlarda displazi derecesi arttıkça invaziv karsinoma dönüşme riskinin arttığı bildirilmiştir. Özellikle yüksek grade 'li displazi ile en fazla birliktelik taşıdığı bilinen adenom tipi villöz büyüme patterni gösteren adenomlardır. Hatta adenomların bu subtipi içerisinde herhangi bir odakta invaziv karsinoma eşlik edebilir.

Familyal Adenomatöz Polipozis Koli (APC) sendromunun genetik temelini oluşturan APC/Wnt/ β -katenin sinyal yolağının hem sporadik hem de herediter kolorektal karsinomlarda tumorigenezisde majör role sahip olduğu bildirilmiş, APC tümör supresör gen mutasyonları sporadik adenomların ve karsinomların %30-%70' inde saptanmıştır. Ayrıca kolorektal karsinogenezis modellerinde k-ras, p53 tümör supresör gen mutasyonları ve TGF-beta/Smad gibi sinyal iletim arayollarında tanımlanmıştır.

Sağlıklı kolonik mukozada saptanmamış ancak kolorektal karsinoma spesifik, literatürde ilk keşfedilmiş immünohistokimyasal marker, bir onkofetal antijen olan karsino embriyonik antijen (CEA)' dir. Yanısıra kolonik tumorigenezisde yapısal değişikliğe uğradıkları bilinen ve bazılarının prognozu belirlemede rol aldığı düşünülen yüzey ilişkili müsinlerden; MUC1, MUC3, MUC5AC hem kolorektal karsinomlu olgularda, hem de adenomatöz poliplerde aberran eksprese oldukları anlaşılmıştır. İntestinal karsinomların diğer organ karsinomlarından ayırt edilmesinde etkinliği çalışılmış, özellikle kolonik kanserlerin çoğunda kullanılan bir başka immünohistokimyasal markerımız Sitokeratin-20 (CK20) dir.

CD44 hyaluronatın yeniden şekil almasında ve indirgenmesinde merkezi rol oynayan yanısıra hücrelerin migrasyonu, kanser invazyonu ve metastazında da görev alan bir transmembran adezyon reseptörüdür. CD44'ün bir ligand bağlayıcı olarak kondroidin sülfat, heparan sülfat, fibronektin, osteopontin gibi matriks

bileşenleri ile etkileştiği ortaya konulmuştur. Başka bir çalışmada CD44'ün tümör hücresi hareketi, hücrede büyüme faktörünün aktivasyonu, tümör anjiogenezisi ve yaşamsal mekanizmaların düzenlenmesine de katkı sağlamış olduğu görülmüştür.

Kimura ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada kolon epitel kök hücrelerinde CD44 ve varyantlarının eksprese edildiğini göstermiş, Du ve Wang ise lentiviral RNA entegrasyonu ile CD44 ve CD 133 ün ' knockdown' yapıldığı kanser dokularından alınan hücrelerde; CD44 (+) olanlarının invitro ortamda ve ksenograft modelde, primer tümöre benzer bir kütle oluşturabildiğini ancak CD44 (-) olan hücrelerde ise klonal formasyonun ve tumorojenitenin engellendiğini ortaya çıkarmışlardır.

Çalışmamızdaki diğer immunhistokimyasal marker LGR5; intestinal kök hücrelerde varlığı saptanmış, yapısal olarak lösin aminoasitinden zengin tekrarlar içeren, G protein kenetli bir reseptördür. Wnt/ β -katenin sinyal yolu hücre proliferasyonu ve farklılaşması, hücre siklusunun düzenlenmesi, hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri, anjiogenezis, apoptozis ve adipogenezis gibi çeşitli biyolojik olaylarda önemli rol oynar.

Chai N ve arkadaşlarının CD44 ve LGR5 ile yaptıkları, hiperplastik polip, tübüler adenom, villöz adenom ve kolorektal karsinomali olguları dahil ettikleri bir immunhistokimyasal çalışmada hem CD44'ün hem de LGR5'in displazi ve agresif biyolojik davranış artıkça daha kuvvetli eksprese olduklarını saptamışlardır.

Çalışmamızın amacı displazi içermeyen hiperplastik polipler ve adenomatöz polip subtipleri ile invaziv karsinomlar arasında CD44 ve LGR5 ekspresyonu arasındaki olası farklılıkları ve karsinogenezis basamaklarındaki rollerini saptamaktır.

GENEL BİLGİLER

2.1.KOLONUN ANATOMİSİ VE HİSTOLOJİSİ

2.1.1.Anatomi:

Gastrointestinal kanalın son 1-1,5 metrelik kısmını oluşturan kolon, ileoçekal valvden başlayıp çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektum olarak adlandırılan bölümlere ayrılır ve kolon anal kanal olarak sonlanır[1].

Çekum, appendiks, çıkan kolon ve transvers kolonun proksimal yarısı orta barsak kökenli olup sağ kolonu oluşturmaktadır. Sol kolon arka barsaktan köken almaktadır, bölümleri ise; transvers kolonun distal yarısı, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumdur[2]. Çekum yaklaşık 6-8 cm çapındadır. Çekumun sahip olduğu bir diğer özelliği appendiks gibi dışa doğru açılan kör bir kese içermesidir. Anal kanal 5 cm uzunluğunda olup internal ve eksternal sfinkteri içermektedir[3].

Kolonun kanlanması superior ve inferior mezenterik arterler ile yapılmaktadır. Superior mezenterik arter çekumdan splenik fleksuraya, inferior mezenterik arter ise splenik fleksuradan rektumun üst-orta bölümüne kadar beslemektedir. Rektumun alt kısmı ise internal iliak arterler ile beslenmektedir.

Kolonda superior mezenterik arterin beslediği kısmın parasempatik innervasyonunu nervus vagus, sempatik innervasyonunu superior mezenterik gangliyon, inferior mezenterik arterin beslediği kısmın parasempatik innervasyonunu nervi erigentis, sempatik innervasyonunu inferior mezenterik gangliyon, rektumun alt bölümünün ise parasempatik innervasyonu nervi erigentis, sempatik innervasyonunu hipogastrik pleksus ile gerçekleşmektedir[1].

Kolonun venöz drenajının büyük kısmı portal sistem ile sağlanır. Portal sistemde kan karaciğere ulaşır bundan dolayı kolon metastazlarını ilk olarak karaciğere yapmaktadır. Venöz sistemin diğer bir kısmı ise hemoroidal pleksus aracılığıyla kaval sisteme geçiş yapar[4].

2.1.2.Histoloji:

Kolon duvarı 4 tabakadan oluşur. Bunlar sırasıyla mukoza, submukoza, muskularis propria ve seroza olarak adlandırılır. Mukoza epitelyum, lamina propria ve muskularis mukozadan oluşur. Mukoza çok sayıda kriptin açıldığı ve goblet hücrelerinin bulunduğu tek katlı basit kolumnar epitel ve kübik epitel ile döşelidir[1, 5]. Goblet hücreleri müsin üretirler ve bu sayede kaygan bir yüzey oluşturarak gaytanın mekanik etkisinden korunmanın yanı sıra kolayca ilerlemesini sağlar[5]. Goblet hücrelerinin histopatolojik şarap kadehi görünümü diğer hücrelerden onu kolay bir şekilde ayırt etmemizi sağlar. Hemotoksilen-Eozin boyamasında goblet hücrelerinin

sitoplazması berrak görünümündedir. Yüzey epiteli goblet dışında bir de absorptif hücreler içerirler. Bu hücrelerin bazalde lokalize nükleusları, müsin negatif asidofilik sitoplazmaları vardır.

Lamina propria birbirine sıkıca bağlanmış, paralel dizilmiş uzun tübüler bez yapılarından oluşur. Bu bezlere Lieberkühn kriptaları adı verilir[1]. Kriptlerin yüzeyindeki epiteli enterositler, goblet hücreleri, enteroendokrin hücreler, M hücreleri, intermediyer hücreler ve kök hücrelerini içerir[5]. İmmünohistokimyasal olarak normal kolon mukozasındaki epitel hücreleri Sitokeratin 8, 18, 19 ve 20 ekspres eder. Lamina propria bazal membrandan başlar ve kriptlerin çevresini dolaştıktan sonra muskularis mukozaya kadar uzanır. İçerisinde kollajen lifler, düz kas demetleri, damarlar, sinirler , az sayıda lenfosit, plazma hücreleri, histiyositler ve mast hücreleri yer alır. Plazma hücreleri lamina propria'da en fazla bulunan hücrelerdir. Lenfoglandüler kompleks, derindeki kript epitelini çevreleyen lenfoid folliküllerin yoğunlaşması olarak bilinir ve bu kompleks lamina propria'dan submukozaya kadar uzanabilir. Lamina propria'nın en fazla yüzeyel kısmında kriptlerin çevresinde bulunan fibroblast veya myofibroblast popülasyonları 'perikriptal fibroblast kılıf' olarak adlandırılır[1]. Lamina propria'da makrofajlar dağılmış halde bulunurlar. En sık görülen makrofaj tipi goblet hücrelerinden sızan müsin fagosite eden müsinofajlardır[6]. Taşlı yüzük hücreli kanser ve Whipple hastalığında bu makrofajları görmek normal bir bulgudur. Müsinofajlar grup oluşturduğunda 'kolonik histiyositozis' olarak adlandırılır[1].

Lamina propria'nın hemen altında bulunan düz kas liflerini içeren içerisinden lenfoglandüler kompleks, vasküler kanallar ve nöral yapıların geçtiği, kolonik glandlara sıkıca bağlı olan tabakaya muskularis mukoza tabakası denmektedir. Biyopsi alınırken bu tabaka alınmamış ise glandlarda yapısal bir torsiyon varmış gibi gözükülebilir.

Submukoza, muskularis mukoza ve muskularis propria arasında yerleşim gösteren düz kas demetleri, fibroelastik doku ve yağ dokudan oluşan gevşek bir tabakadır[6]. İçerisinde arterioller, venüller ve lenfatikler vardır. Meissner nöral pleksusu bu tabakada bulunmaktadır[1].

Muskularis propria içte sirküler, dışta longitudinal uzanım gösteren kas lifleri ve bu ikisi arasına yerleşmiş olarak bulunan Auerbach myenterik pleksusundan oluşmaktadır. Bu pleksusun içinde yoğun olarak Cajal interstisyel hücreleri bulunur. Seroza tabakası tek sıralı düzleşmiş veya kuboidal mezotelyal hücreler ile fibroelastik dokudan oluşmaktadır[1, 6].

2.2.KOLON ADENOMA VE KARSİNOMALARI

Adenomlar intestinal epitelden gelişmiş küçük genellikle pedinküllü lezyonlardan, büyük sesil neoplazilere kadar değişen özellikte olabilen benign natürde glandüler neoplazilerdir[7, 8]. Tüm adenomların yaklaşık %5'inde invaziv adenokarsinom gelişir[9]. Kolorektal adenomaların insidansını (%0-%69 oranında) ,hangi ülkeden orjin aldığı ve kolonda nasıl fark edildiğine göre (fleksible sigmoidoskopi veya kolonoskopi) çeşitli değişkenlik göstermektedir[10-12].

Adenomların insidansında etkili birkaç faktör daha saymak mümkündür. Bunlar endoskopik görüntülemeledeki verilere karşı otopsi data çalışmaları; hasta yaşı ve hastada herediter kolon kanser sendrom öyküsünün olup olmamasıdır. Özenle yapılmış çalışmalarda ortalama %46.9 ile %69 vakada en az bir adenomaya rastlandığı bildirilmiştir[13, 14]. Adenomaların gelişimi yaş ve erkek cinsiyeti ile korele olduğu anlaşılmıştır[11, 15, 16]. Adenomaların erkeklerde (%61.6), kadınlara (%38.4) oranla daha sık görüldüğü ve 40 yaşın üstünde her iki cinsiyette de görülme sıklığında artış olduğu ayrıca 60-70 yaşlarında pik yaptığı saptanmıştır[15].

Sporadik gelişen adenomaların en sık görüldüğü lokalizasyon rektosigmoid bölge olarak izlenmiştir[17]. Adenomalar hastanın yaşıyla ilişkili olarak proksimalden distale olan yerleşimlerinde değişiklik gösterirler[11, 12]. Kolonun sol lokalizasyonunda genç ve familial adenomatozis (FAP)'li, sağ lokalizasyonunda ise yaşlı ve herediter nonpolipozis koli (HNPCC)'li hastalarda oluşan adenomalara daha sık rastlanır.

Aynı zamanda tespit edilen adenomlara senkron, farklı zamanlarda saptanan adenomlara metakron adı verilir. Senkron adenomlarda karsinoma riski soliter adenomalara göre iki kat artmaktadır[18]. Multipl adenomların ilerlemiş yaş ile görülme sıklığı artmakla birlikte HNPCC ve FAP'lı hastalarda daha sık görülür[19]. Bu hastaların %30'unda tek bir adenoma, %20'sinde ise multipl adenom izlenir. Multipl adenomlu hastalarda yüksek dereceli displazi bulunma olasılığı soliter adenomlulara göre daha fazladır[8].

2.3.ADENOMLARDA TANI VE KLİNİK ÖZELLİKLER

Adenomlar gros, klinik ve histolojik özellikleri açısından üç farklı ama aynı zamanda birbirleri ile korele kategorilerde incelenirler. Adenomalar sporadik oluştuğu gibi HNPCC ve FAP gibi altta yatan faktörlere bağlı da meydana

gelebilirler. Klinik olarak en sık şikayet kanamadır ve bu semptomun sol kolondaki lezyonlarda görülme sıklığı daha fazladır. Kanama lezyonun büyüklüğüne, pedinküllü olmasına ve villöz büyüme paternine bağlıdır (33) Villöz adenomalar daha büyük olma eğiliminde oldukları ve karsinomayla birlikte olma olasılıklarının daha fazla olması nedeniyle bu belirtileri tübüler adenomalardan daha fazla gösterirler. Villöz adenomalarda en fazla görülen semptom kanama, mukuslu diare, konstipasyon ve tenesmustur[20].

2.4.GROSS ÖZELLİKLERİ

Pedinküle, sesil ve düz/deprese olarak adenomlar üç farklı makroskopik görüntüye sahiptirler. Pedinküle ve sesil adenomalar çok farklı büyüklüklerde olabilirler. Sporadik adenomlar daha çok bu büyüme paternine sahiptirler.

Tübüler adenomlar yüzeyi, birbirine bağlı yarıklara sahip belirgin olmayan bir lobülasyon gösteren genellikle küçük lezyonlardır. Büyük lezyonlar lobüle, villöz ve ahududuna benzeyen, yüzeyleri frajil bir yapıya sahiptirler.

Tübülovillöz adenomlar tübüler adenomlara göre daha büyük olup, ortalama 1,9 cm çapındadır [13].

Villöz adenomlar sesil, lobüle, düz, kadifemsi ve pedinküle olarak görülebilirler. Sesil olanları daha büyük olabilir ve parmak benzeri çıkıntılar gösterebilirler.

Adenomaların boyutu arttıkça kanserleşme sıklığı da o kadar artmaktadır[21]. Gros özellikleri açısından malignitenin en sık görüldüğü bir grup olan flat adenomaların diğer adlandırmaları superfisyel ve deprese olarak yapılmaktadır. Flat adenomalar daha sık sağ kolonda ve küçük olma eğiliminde olan ayrıca yüksek dereceli displazi ve invaziv kolorektal karsinomaya dönüşme riski en yüksek olan gruptur[22, 23].

2.5.HISTOLOJİK ÖZELLİKLER

Adenomalar tübüler, tübülovillöz, villöz ve flat olarak 4 farklı histopatolojiye sahiptirler.

2.5.1.TÜBÜLER ADENOMA

Birçok çalışmada %68-%87,1 oranıyla en yaygın görülen adenoma türüdür. Bu adenomalar %25 villöz komponente sahip olabilirler [15, 24, 25]. Adenomatöz epitel ile normal kolonik epitel, tübüler adenomada yan yana bulunabilirler. Genelde yüzeyinde adenomatöz değişiklik izlenirken, kript bazali

normal epitel ile döşelidir. Pedinküle adenomalarda polibin başında displastik değişiklikler izlenirken sap kısmı genelde normal mukoza içerir. Lamina propria'da lenfositler, eozinofiller ve plazma hücreleri bulunurlar[8]. Tübüler adenomun diğer bir varyantı flat adenomlar çok sıkışık ve tübüler adenomdan daha küçük boyutta glandlara sahiptir[23]. Deprese adenomalar horizontal olarak normal kriptlerin arasına doğru büyürler, polipoid adenomlara oranla yüksek dereceli displazi %41-%42 olarak hesaplanmış olup, invaziv karsinom bulundurma oranı da diğerlerinden çok daha yüksektir [22, 26, 27]

2.5.2.VİLLÖZ ADENOMA

Displastik bir kolumnar epitelin mukozanın parmak benzeri villiform uzantılarının yüzeyini örtmesi ile oluşan, tüm adenomlar içerisinde %20'lik bir orana sahip olan ve hem yüksek dereceli hem de düşük dereceli displaziyi içinde barındırabilen, boyutu ile kanser gelişme olasılığı birbiriyle korele olan bir neoplastik lezyondur[28].

2.5.3.TÜBÜLOVİLLÖZ ADENOM

Her iki komponenti de bir arada bulundurabilirler. Bazı çalışmalarda villöz komponentin %20 ile %79 olabileceği eğer adenom 1 cm'den büyük ise %35 ile %75 arasında bildirilmiştir[29] [24],

2.6.ADENOMALARDA HÜCRE TİPLERİ

Adenomalarda epitel hücreleri hiperkromatik nükleuslu, kolumnar, prizmatik ve stratifikasyon gösteren hücrelerdir[9].

Yanısıra absorbtif, goblet, intermediate, endokrin ve paneth hücreleri gibi çok çeşitli hücreler de içerebilirler. Nonneoplastik epitel hücrelerinden(nonneoplastik) displastik hücrelere sahip epitele geçiş bir 'snowplow' paterni gösterir. Oligomukus hücreleri immatür müsin üreten ve pek çok adenomada görülebilen hücrelerdir [30, 31]. Adenomalarda bulunan ekzantrik nükleuslu sitoplazmaları müsin ile dolu goblet hücrelerine distrofik goblet hücreleri denmektedir. Endokrin hücreler %59-%85, paneth hücreleri %10 ve skuamoz diferansiyasyon %4 oranında adenomlarda bulunabilirler. Adenomalar gastrik mukoza, osseöz metaplazi ve melanositleri de içerebilirler ama bu çeşitliliğin klinik olarak anlamı yoktur[32].

Muskularis mukoza, adenomlarda baş ve sap ayrılmasında bir belirteç gibidir fakat invaziv kanserlerde bu hat gözükmez[33]. Adenomalarda kapiller ve venül çapları artar ve distorsiyone görünürler[34]. Önemi halen tartışılabilir da

adenomalarda bazen bazal nükleuslu, köpüksü sitoplazmalı, berrak hücre değişiklikleri görülebilir[8].

2.6.1.‘SERRATED’ POLİPLER

Adenomaların %1-2'sini oluştururlar[35, 36]. Histopatolojik varyantları; Hiperplastik, sesil serrated adenoma, konvansiyonel serrated adenoma, mikst serrated polipler olmak üzere klasifiye edilmiştir. Psödostratifikasyon, müsin azalması, polarite kaybı ve arkitektürel olarak glandlarda kalabalıklaşma, lümende tomurcuklanma serrated adenomalar için önemli özelliklerdir[35]. Bu adenomalar karsinoma için prekürsör lezyonlardır[9].

Hiperplastik varyant üç subtipe ayrılır. Bunlar; mikroveziküler, goblet hücreli ve müsin fakir tip olarak tanımlanmıştır. En geniş subtipi ‘mikroveziküler tip’ oluşturmaktadır. Histopatolojik olarak apikal kısımda normale göre daha az müsin bulunduran, nükleuslarda uzama, glandlarda kalabalıklaşma gösteren displazi içermeyen poliplerdir. Gros da görünümü küçük ve mukozayla aynı renk'tedir [9].

2.7.GLANDLARIN PSÖDOKARSİNOMATÖZ HAPSOLMASI

Yorumlanması açısından zorlayabilen bir mikroskopik antitedir. İnvaziv karsinoma benzerliğinden dolayı tanıda yanılmak pek de nadir değildir. Tekrarlayan torsiyonlar, forseps biyopsiler ve polip rezeksiyonundan sonra displastik hücrelerin gömülmesi gibi durumlarda gelişebilir. Lamina propria'da neoplastik gland ile nonneoplastik glandların bir arada bulunması, submukozada normal kolonik epitel ile adenomatöz glandların birlikte saptanması, hemosiderin varlığı, stromanın desmoplastik olmaması gibi özellikler bize ayırıcı tanıda oldukça yardımcı olmaktadır[37].

2.8.DÜŞÜK DERECELİ DİSPLAZİ

Adenomalar içerdikleri epiteldeki displaziye göre ‘düşük dereceli’ ve ‘yüksek dereceli’ olarak ikiye ayrılır. Tüm adenomalar az da olsa düşük dereceli displastik değişiklikler bulundururlar. Stratifiye displastik epitel içerisinde oval ya da içsi, minimal hiperkromatizm gösteren pleomorfik nükleus histopatolojik özelliklerindedir. Hücrenin apikal kısmında müsin üretimi halen yapılmaktadır ve

bu değişiklikler adenomatöz epitel ile döşeli glandların daha derin kısımlarında yer almaktadır[38]

2.9.YÜKSEK DERECELİ DİSPLAZİ

Histopatolojik olarak hücrelerdeki kolumnar şekil kaybolmuş onun yerini nispeten yuvarlak hücreler almıştır. Kriptlerde irregüler dallanma ve tomurcuklanma izlenir[2]. Nükleo/sitoplazma oranı artmış, polarite kaybı olan düzensiz nükleuslar, pleomorfik ve yığınlaşmış şekilde görülürler. Nükleuslar hücrelerin luminal yüzeyine ulaşırlar. Müsin üretimi azalmış veya yoktur. Yüksek dereceli displazi mukozayı geçtiği an artık karsinoma dönüşmüş demektir(64). Yüksek dereceli displazi invaziv karsinoma geçişin kuvvetli bir habercisidir. Adenomaların %5'i yüksek dereceli displazi veya karsinoma in situ içerirler[15].

2.10.KARSİNOGENEZİS

Adenomadan karsinoma gelişimine adenom-karsinom sekansı denmektedir. Aşağıda ki sonuçlar adenomların karsinom öncüsü olduğuna dair destekleyici pek çok gözlem ve deneysel çalışmalar ile ortaya konmuştur.

Bunlardan bazıları;

- Kolorektal karsinom ve adenoma sıklıkla aynı lezyonda birlikte bulunabilir.
- Adenom ve karsinomlar benzer anatomik dağılım gösterir.
- Kanserli olgularda rezidüel adenoma bulunabilir.
- Denova karsinoma görülme ihtimali nadirdir.
- Adenomların ve karsinomların ülkeler arasındaki prevalans oranları benzerlik içerir.
- Bazı olgularda adenomdan karsinoma direk geçiş gözlenebilir.
- Adenomların endoskopik olarak çıkarılması ile karsinoma insidansına %85 azalma bildirilmiştir.
- Kromozomal yapı, antijenik benzerlikler, DNA'ların içeriği, enzim paterni ve onkogenler hem adenom hemde karsinomda benzer özelliklere sahiptir.

Yapılan çalışma ve araştırmalar kolon kanseri gelişiminde patogenetik olarak iki farklı yolak olduğunu ortaya koymuştur[28].

2.11.KOLOREKTAL KARSİNOMADA MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLER

Kolorektal karsinomların genetik temelini incelemeye yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. Herediter olgularda kolon kanserine yatkınlık bu gözlemler sayesinde saptanabilmektedir.

Daha önce söz edildiği gibi hastalığın progresyonunda bir takım anahtar genler ve protein ürünleri ki bunlar değişime uğramış onkogenler, tümör supresör genler, DNA yanlış eşleşme onarım genleri (MMR) ve pek çok genin promotör bölgelerinde epigenetik değişiklikleri içerir.

Neoplastik progresyon süresince spesifik genler spesifik zaman dilimlerinde mutasyona uğrarlar. Bu mutasyonların spesifik bir aşamasından ziyade genetik değişikliklerin kritik bir sayıda akümüle olması önemlidir.

Kolorektal karsinomların gelişiminde 3 esansiyel yolak tanımlanmıştır;

- ✓ FAP'lı hastaları etkileyen kromozomal instabilite yolağı,
- ✓ HNPCC ile ilişkili olan ve buna benzer mikrosatellit instabilite yolağı,
- ✓ Epigenetik veya metilatör yolağı.

Tanımlanan bu üç yol 'overlap' gösterebilir bu nedenle tümör bir tolağın özelliğinden çok birden fazla yolu kullanabilir[8].

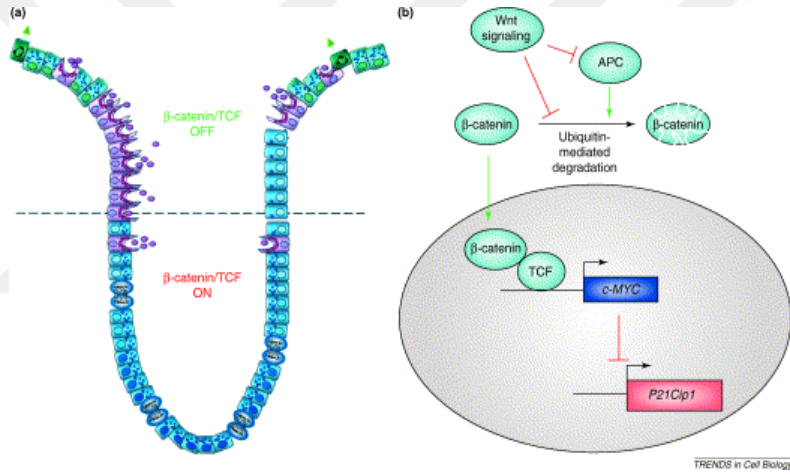
2.11.1.KROMOZOMAL İNSTABİLİTE YOLAĞI

Mutasyonların birikimi sonucunda oluşan kromozomal instabilite ile karakterizedir. Adenomadan karsinomaya geçişte birçok moleküler ve morfolojik değişiklikler meydana gelir. Bu süreçteki genetik değişiklikler;

2.11.1.1.APC (Adenomatöz Polipozis Koli) gen kaybı: APC geni 5q21 yerleşimlidir. Bu gen mutasyonu adenom oluşumundaki ilk genetik değişiklik olarak bilinmektedir. APC geni hem mikrotübül demetlerine bağlayan ve hücre migrasyon ve adezyonunu sağlayan, hem de normal kolonik epitelyum oluşumunda görevli Wnt/beta-katenin sinyal yolağında beta-katenin miktarını kontrol eden bir gendir[28, 39]. Beta-katenin hücreler arası adezyonu sağlayan bir protein olan E-cadherin ile bağlı bulunabilir bağlı olmadığı durumlarda sitoplazmik kompleksler (ki bunlardan en iyi bilinen APC'dir) beta-katenini fosforile ederler. APC mutasyona uğradığı zaman bu fosforilasyon işlemi gerçekleşemez ve beta-katenin nükleusa geçer. Nükleusta transkripsiyon kompleksine (T hücre faktörü) bağlanır ve c-myc gibi hücre proliferasyonunu düzenleyen genleri aktive eder[28].

Bu genetik değişiklikler FAP sendromunda genetik temelini oluşturmaktadır. Sporadik karsinomalarda %80 APC mutasyonu olmaktadır APC mutasyonu olmazsa %50 beta-katenin mutasyonları bulunmaktadır[28, 40].

şekil 2.11.1. APC/Beta-katenin yolağı

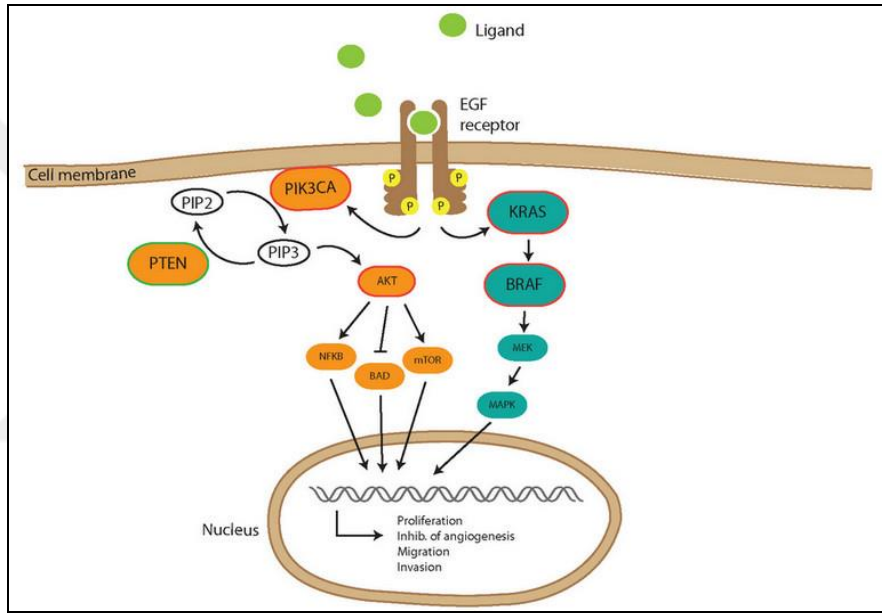


- Bu şekil Science Direct adlı internet sitesinden alıntı yapılmıştır.

2.11.1.2.K-ras mutasyonu:

K-ras geni normal hücreselerde G proteini aracılığıyla büyüme faktörü reseptörlerine sinyal ulaştırarak hücrenin adezyonunda ve proliferasyonunda primer rol oynamaktadır. Bu gen mutasyona uğradığında protoonkogen'den onkogen haline dönüşür ve apoptozu engeller[41, 42]. K-ras geni kolon adenoma ve karsinomalarında en sık rastlanan onkogendir[28].

Şekil 2.11.1.2. K-RAS onkogen yolağı



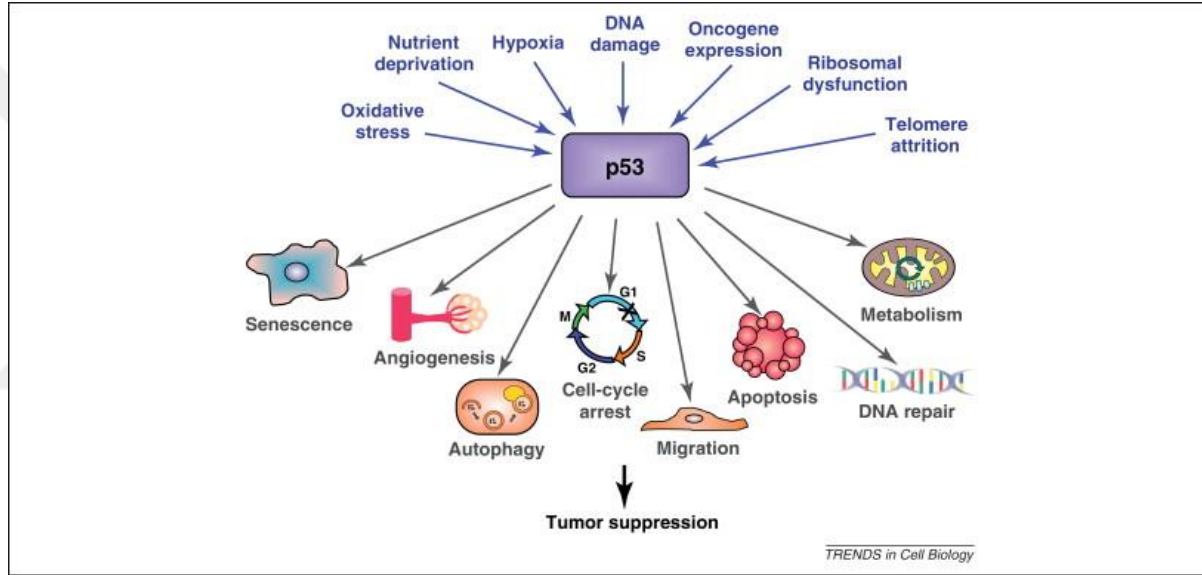
• Bu şekil discovery medicine adlı internet sitesinden alıntı yapılmıştır.

2.11.1.3.18q21 delesyonu(SMAD'ların kaybı): SMAD2 ve SMAD 4 18q21'de bulunurlar. Tümör baskılayıcı genler olarak bilinirler ve TGF-beta sinyal yolağında görev alan molekülleri kodlarlar. Delesyona uğramaları hücre büyümesinin kontrolden çıkmasına yol açar[28]

2.11.1.4.P53 mutasyonu: P53 geni 17. kromozomda bulunan tümör baskılayıcı gen olarak bilinir[43]. İnsan karsinomalarında en sık rastlanan genetik değişiklik p53 mutasyonudur. DNA 'ya bağlanır ve DNA hasarına (hipoksi vb.) cevap olarak hücre siklusunu durdurur, onarım genlerinin transkripsiyonunu artırır ve programlı hücre ölümünü başlatır[44-47]. DNA hasarı onarılamaz ise p53 BAX geninin uyarılmasını

sağlar ve apoptozu başlatır. P53 mutasyona uğradığında DNA hasarı olsa da hücre siklusu durmaz, DNA tamiri yapılamaz ve genetik bir hasarı olan hücre çoğalmaya devam eder, bu da malignite oluşumuna neden olur[28]. Adenomalarda bu mutasyona nadiren rastlanır[28].

Şekil 2.11.1.4. P53'ün fizyolojik ve genotoksik etkenlerle aktive olması sonucu büyümenin engellenmesi ve apoptozun aktive olması.



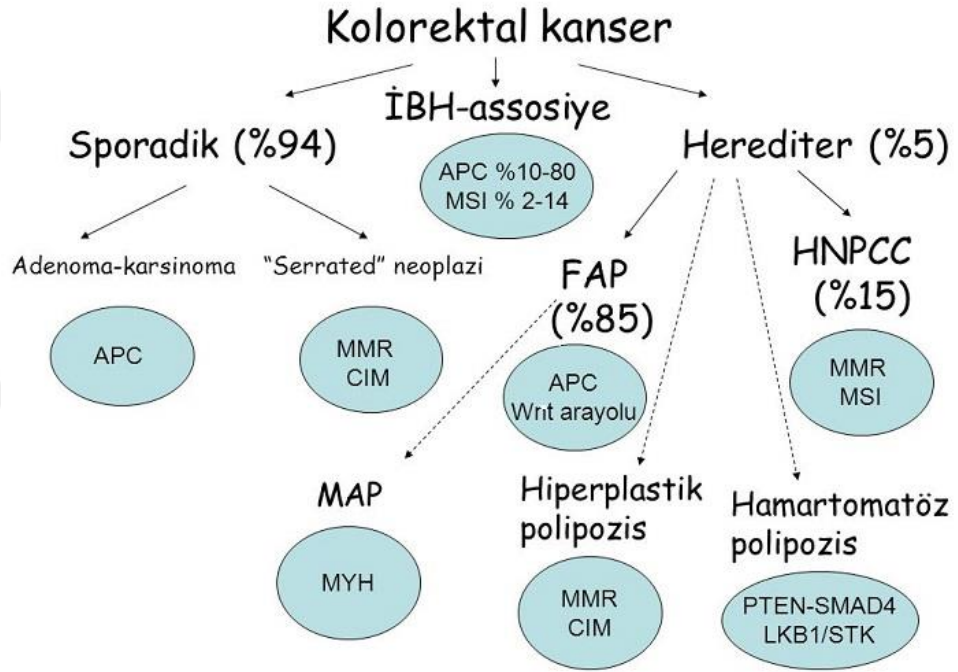
- Bu şekil Science Direct adlı internet sitesinden alınmıştır.

2.11.2. MİKROSATELLİT İNSTABİLİTE YOLAĞI

İkinci yolağımız DNA yanlış eşleme onarım genlerindeki bozukluk sonucu meydana gelir. Mikrosatellitler genin kodlama yapmayan bölgesinde bulunurlar. DNA replikasyonu sırasında hata olduğunda 'mismatch' genleri bu hatayı onarır fakat onların mutasyonları sonucunda, mikrosatellit tekrarlanmalarını düzeltemeyeceğinden dolayı dengesizlik meydana gelir. Mismatch onarım genlerinden en sık mutasyona uğrayanlar MSH2 (MutSHomolog2) ve MLH1 (MutLHomolog1) 'dir[2, 28, 39]. Mikrosatellitlerin bazıları hücre büyümesini düzenleyen genlerin (TGF-beta ve BAX) bölgelerindedir. TGF -beta; proliferasyonda, BAX da apoptozda görev alır. Mutasyonlar hücresel büyümeye ve

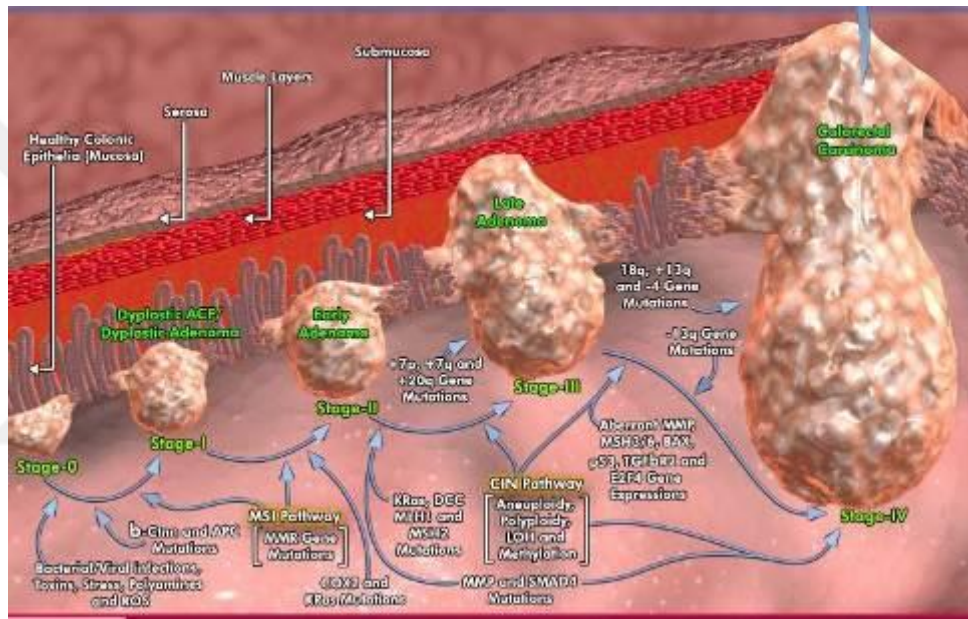
apoptoza engel olurlar[28]. Bu yolak sonucunda oluşan karsinomalar APC/beta-katenin yolağındaki karsinomalara göre daha iyi prognozluurlar[2].

Şekil 2.11.2. Kolorektal karsinomun oluşumunda genetik değişikliklerin izlediği yolaklar.



• Bu şekil Slide Player adlı internet sitesinden alıntı yapılmıştır.

Şekil 2.11. Kolorektal karsinogenezdeki aşamalar ve bu aşamaları etkileyen kromozomal ve mikrosatellite yolları.



- Bu şekil qiagen adlı internet sitesinden alıntı yapılmıştır.

2.12.KOLOREKTAL KARSİNOMALAR

Endüstriyel ülkelerde en yaygın görülen neoplazilerden biridir[48]. Tüm kanserler içerisinde yaklaşık %9 oran ile akciğer, meme/prostat kanserleri sıralamasında dördüncü olarak bildirilmiştir[48]. Kolorektal kanser riski 40 yaşından sonra önemli oranda artış göstermekle birlikte, 40-75 arası yaş grubunda iki kat risk artışı izlenmiştir[49]. Karsinomalar büyük oranda sporadik ve/veya polipozis sendromların dan oluşan adenomalardan gelişirler[8]. Gelişiminde adenomun boyutu, büyüme paterni, displazi derecesi ve hasta yaşı gibi pek çok faktör etkilidir. Sosyoekonomik faktörler, diet, genetik faktörler ve medikal bakımın düzgün yapılması gibi etkenler kolon karsinomunda yaşam süresini belirler[18].

Kolorektal karsinomlar tüm dünyada coğrafik varyasyon gösterirler[48, 50]. Afrika ve asya kıtalarında görülme insidansı düşükken, Batı-doğu Avrupa, kuzey Amerika, Yeni Zelanda ve Avustralyada insidansı oldukça yüksektir[48, 51]. Kolorektal karsinomaların genetik veya çevresel faktörlerden mi yoksa kültürel veya sosyoekonomik farklılıklardan mı kıtalarda insidansının değiştiğini saptamak oldukça zordur.

Genetik faktörlerin kolorektal karsinoma gelişiminde yaklaşık %20'lik payları vardır. FAP (Familyal adenomatozis koli) daha sık olarak sol kolonda ve yaklaşık %1 oranda karsinoma dönüşürken, HNPCC (Hereditör nonpolipozis koli)'li hastalarda sıklıkla sağ kolon tutulumu görülür ve %5 oranda kanser gelişimi izlenmiştir, diğer familyal hastalıklar %15 oranında kolon karsinomu oluştururlar[52]. Kadınlarda sağ kolon karsinomaları erkeklerden daha erken yaşta ve daha sık görülürken; sigmoid ve rektal lezyonlarda kadınlar açısından bir azalma izlenmektedir[53, 54].

Kolon multipl malign neoplazilerin sık görüldüğü bir organdır ve kolon karsinomaları da senkron ve metakron olarak gelişebilirler. Senkron kanserler metakronlara göre 2 kat daha sık gözlenmektedir[55-57]. Genç hastalarda kolon karsinomu %1'den daha az sıklıkla ve genellikle genetik yatkınlık sonucu oluşurlar. Prognoz oldukça kötüdür[8].

2.13.GROS ÖZELLİKLERİ

Büyüme paternlerine bakıldığında polipoid, ekzofitik, ülser ve diffüz infiltratif olarak görülebilir. Ekzofitik lezyonlar yüzeysel ülser, kenarları normal mukozadan daha kabarık, genelde çekum ve çıkan kolonda sık görülen lezyonlardır. Ülseratif lezyonlar kolonik duvarı tamamıyla infiltre eden, kenarları hafif kalkık veya düz olabilen, nodül oluşturmayan tümörlerdir.

Adenokarsinomalar genelde ülseratif ve infiltratif şekilde; en sık transvers ve inen kolonda saptanırlar. Bu makroskopik özelliğe sahip tümörler düzensiz, sınırları belirsiz, kolonik duvarı konstrüktif ve çepeçevre sararak lümeni daraltırlar. Tümör desmoplastik stromaya sahip olduğundan sert hissedilir. Diffüz infiltratif yaygın olmayan bir patern olup midenin linitis plastikasına benzer. Flat karsinomalar da flat adenomalardan gelişir ve plak şeklinde görülür.

2.14.HİSTOLOJİK DERECELEME VE HÜCRE TİPLERİ

Histolojik gradeleme glandların arkitektürel özelliklerine göre yapılır. Nükleer polaritesini koruyan hücrelerden oluşan ve adenomu andıran glandüler farklılaşma

gösteren tümör iyi diferansiye olarak değerlendirilir ve %25 oranında görülür. Nükleer pleomorfizm gösteren, polarite kaybına sahip solid adalar oluşturan tümörler ise kötü diferansiye tümörlerdir ve %15 oranında saptanır. %60 görülme oranı olan ve hem kötü, hem de iyi diferansiasyonu birlikte sunan grup orta derece diferansiye'dir[58, 59]. Kötü diferansiye alanlar anaplastik hücreler ve taşlı yüzük hücreleri içerebilir (96).

2.15.SUBTİPLENDİRME

Kolonik adenokarsinomalarda birçok hücre tipi vardır. Bunlar; Goblet, paneth, endokrin, diferansiye enterositler, skuamoz hücreler, melanositler ve trofoblastik hücrelerdir. Papiller ve müsinöz karsinomalarda Paneth hücreleri çok sık gözlenir[60, 61]. Nöroendokrin hücreler de %8 ile %51 arasında görülebilir[62, 63].

Stroma oldukça az olmasına rağmen aktive fibroblastların yaptığı desmoplastik reaksiyon ve peritümöral lenfositik infiltrasyon görülür[64, 65]. Bu infiltrasyonda mast hücreleri, eozinofil, makrofaj, lenfosit, plazma hücreleri ve S-100 pozitif dentritik hücreler vardır. Major grubu sitotoksik T lenfositler oluşturmaktadır. Kolonik duvarda ve perikolik adipöz dokuda stellat fibrozis gibi crohn benzeri reaksiyon görülebilmektedir. Bu reaksiyonun iyi prognostik bir belirteç olduğu düşünülmektedir[66]. Karsinomalarda damarlanma da artış izlenmektedir, bazı damarlar trombus içerirler bundan dolayı iskemilerde sıklıkla görülebilir.

2.16.FLAT KARSİNOMA

Yüzeyden hafif elevasyon gösteren, düz veya deprese tümörlerdir. En sık proksimal da yerleşim gösterir ve genellikle kötü-orta derece diferansiye tümörlerdir. Submukozaya invaze olan bir tümör sıklıkla lenfatik ve vasküler boşluklarda da invazyon göstermiştir. Küçük tümörlerde bile düzgün kesit alındığında submukozal invazyona rastlanır[67].

2.17.KOLOREKTAL KARSİNOMALARDA HİSTOLOJİK TİPLER

2.17.1.MÜSİNÖZ KARSİNOMALAR

Kolon adenokarsinomaları içinde %10-%15 oranında, daha çok gençler de ve kötü prognozlu olarak görülürler[68, 69]. Müsinöz karsinoma denmesi için müsinöz komponentin %50'den fazla olması gerekir[69]. Kolloid ve taşlı yüzük hücreli karsinoma, müsinöz karsinomanın iki farklı histolojik tipini oluşturur. Kolloid karsinomada müsin ekstrasellüler, taşlı yüzük hücrelide ise intrasellüler yerleşimlidir[68].

Kolloid karsinoma; geniş müsin gölcükleri içerisinde atipik gland veya gland epitelinin görülmesi ile karakterizedir. Taşlı yüzük hücreli karsinoma; hücrenin içinde abondan bulunan müsin nükleusu periferite iterek taşlı yüzük hücre görünümü oluşturur. Diffüz infiltratif yayılım gösteren tümör, sert ve kalın bir kolonik segment oluşturur ve bu görüntüye linitis plastica adı verilir. Nispeten agresif seyirli bir tümördür.

DİĞER KOLONİK KARSİNOMALAR

- ✓ Skuamoz hücreli karsinomalar
- ✓ Adenoskuamoz karsinoma ve adenoakantoma
- ✓ Skuamoz karsinoma
- ✓ Bazaloid karsinoma
- ✓ Karsinosarkoma
- ✓ Germ hücreli karsinomalar
- ✓ Koryokarsinoma
- ✓ Mikst koryokarsinoma-endodermal sinüs tümörü
- ✓ Teratoma
- ✓ Endodermal sinüs tümörü
- ✓ Ekstrauterin müllerian tümörler
- ✓ Osseöz metaplazi içeren adenokarsinoma
- ✓ Kök hücre karsinomaları
- ✓ Pleomorfik(Dev hücre) Karsinoma
- ✓ Diğer karsinoma tipleri

2.18.KOLOREKTAL KARSİNOMALARDA EVRE

1932 tarihinde 'Dukes' tarafından rektal karsinomalarda kullanılmak üzere önerilen bu evreleme sistemi kolon karsinomlarında da kullanılmaktadır. Tümörün penetrasyon derinliği ile lenf nodu metastazının baz alındığı bir evreleme sistemidir. 1954 tarihinde 'Denoix' [70] TMN sınıflamasını önermiş 'Beahrs ve Myers'

[71] onu uyarlamıştır. Bu evreleme sistemi 'Union International Contre Cancer'(UICC) ve 'American Joint Commission On Cancer'(AJCC) komiteleri tarafından kabul görmektedir(Tablo 2. 1. ve Tablo 2. 2.)

Tablo 2.1.Kolorektal Karsinomalarda TNM Evreleme Parametreleri

TX	Primer tümör saptanmadı
T0	Primer tümör kanıtı yok
Tis	İn situ karsinom(intraepitelyal ya da lamin propria invazyonu)
T1	Tümör submukozaya invaze
T2	Tümör muskularis propriaya invaze
T3	Tümör subseroza ya da nonperitonealize/perirektal dokuya inv.
T4	Tümör komşu organ ve yapılara direkt invazyon göstermekte ve/veya visseral peritonu perforasyon etmektedir
NX	Bölgesel lenf nodları değerlendirilememekte
N1	Lenf nodu metastazı yok
N2	1-3 lenf nodu metastazı
N3	4 veya daha fazla lenf nodu metastazı
MX	Uzak metastaz değerlendirilemedi
M0	Uzak metastaz yok

M1	Uzak metastaz mevcut
----	----------------------

Bu tablonun hazırlanmasında Hamilton SR, Aatonen LA(eds) World Health Organization Classification of Tumours Pathology and Genetics of Tumours of Digestive System adlı kaynaktan yararlanmışıştır.

Tablo 2.2.Kolorektal Tümörlerin TNM Evrelemesi ve Gruplar

EVRE	GRUPLAMA
Evre 0	TisN0M0
Evre 1	T1N0M0
Evre 1	T2N0M0
Evre 2	T3N0M0
Evre 2	T4N0M0
Evre 3	Herhangi bir T,N1M0
Evre 3	Herhangi bir T,N2M0
Evre 4	Herhangi bir T,herhangi bir N,M1

Bu tablonun hazırlanmasında Hamilton SR.,Aatonen LA(eds) World Health Organization Classification of Tumours Pathology and Genetics of Tumours of Digestive System adlı kaynaktan yararlanmışıştır.

2.19.PROGNOZ

Küratif rezeksiyon sonrası 5 yıllık sağ kalım oranı %40 ile %60 arasında değişir[1]. Kolorektal karsinomalarda en önemli prognostik belirleyici tümörün evresidir[1, 72].

Prognozu etkileyen diğer faktörler;

1. Yaş: Çok genç ve yaşlılarda prognoz kötüdür[1].
2. Cinsiyet: Kadınlarda prognoz daha iyidir[1].
3. CEA kan düzeyi: Kanda seviyesinin artması kötü prognoz ile ilişkilidir(156).

4. Tümör lokalizasyonu: Sigmoid kolon ve rektum lokalizasyonunda bulunan tümörler tanı anında bile daha geniş yayılım gösterdiklerinden genellikle daha kötü prognozludurlar[7].
5. Birden fazla tümör varlığı: Senkron veya metakron tümör varlığındaki sağ kalım, soliter tümör varlığındaki sağ kalım ile eşdeğerdir[1]
6. Lokal yayılım: Polipte saptanmış mukoza ve submukozaya sınırlı olan mikroskopik karsinomalarda prognoz oldukça iyi iken, barsak dışına metastaz yapmış tümörlerde prognoz daha kötüdür[1].
7. Tümör büyüklüğü: Tümör büyüklüğü güvenilir bir prognostik faktör değildir[1].
8. Tümör kenarları: Kenarı düz veya deprese olan tümörler ,polipoid olanlara göre daha kötü prognozludur[1].
9. Obstrüksiyon ve perforasyon: Dukes evrelemesinden bağımsız kötü prognoz göstergesidir[1].
10. Tümör sınırı ve inflamatuvar reaksiyon: Tümörlerin ekspansif olanı infiltratif olanından daha iyi prognozludur. Tümör dokusuna karşı gelişen inflamatuvar yanıt iyi prognoz göstergesidir[1].
11. Vasküler invazyon: Ven invazyonu varlığında 5 yıllık sağ kalım süresi azalmaktadır. Lenfatik yayılım özellikle evre 3 hastalarda kötü prognostik bir faktördür[1].
12. Perinöral invazyon: Evresi ilerlemiş hastalığa işaret eder. Kötü prognostik faktördür[1].
13. Cerrahi sınırlar: Radial cerrahi sınır lokal rekürrensler açısından çok önemlidir. Tümör cerrahi sınıra 2 mm'den daha yakın ise lokal rekürrens olasılığı artar[1].
14. Tümör kalınlığı: Santral deprese alan'da tümörün kalınlığının lenf nodu ve karaciğer metastazı insidansı ile doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir[1].
15. Mikroskopik tümör tipi: Müsinöz adenokarsinoma, taşlı yüzük hücreli karsinoma ve anaplastik karsinoma klasik adenokarsinomalardan daha kötü prognozludurlar[1].
16. Histolojik grade: Tümör diferansiasyonu prognoz açısından çok önemlidir. Kötü diferansiye adenokarsinomalarda tümör invazyon derinliği ne boyutta olursa olsun lenf nodu metastazı %50'den fazla olarak saptanmıştır[1].
17. Asiner morfoloji: Mikroasiner büyüme paterni kötü prognozla ilişkilidir[1].

18. Anjiogenez: Nüks gelişimine yardımcı olduğundan sağ kalımda azalma sebep olmaktadır[1]
19. Evre: Kolorektal karsinomlarda prognozu belirleyen en önemli faktördür[1]
20. Lenf nodu reaksiyonu: Lenf nodlarında tümöre karşı verilen immün yanıt sağ kalımı arttırmaktadır[1].
21. Lenf nodu tutulumu: Metastatik lenf nodunun sayısı arttıkça prognoz kötüleşmektedir[1].
23. Nöroendokrin hücrelerin varlığı: Kromogranin pozitifliği gösteren hücrelerin varlığı kötü prognozla ilişkili bulunmuştur.
24. Müsin ile ilişkili antijenler: MUC-1 (Müsin 1)'in bağımsız prognostik faktör olduğu saptanmıştır[1].
25. HLA-DR ekspresyonu: HLA-DR ekspresyonu gösteren kolorektal tümörlerin sağ kalımının çok iyi olduğu saptanmıştır[1].
26. DNA ploidi: Anöploidi ve özellikle rektal karsinomalarda rekürrens arasında ilişki olduğu görülmüştür[1].
27. Kromozom 18 q allelik kaybı: Bu değişikliğin negatif prognostik önemi vardır[1].
28. Onkogen ekspresyonu: Rekürren hastalığı olanlarda K-RAS mutasyonu çok daha sık olduğu gösterilmiştir. P53 artmış ekspresyonu kötü prognoz ile ilişkilidir. Kötü prognoz ile ilgili bir diğer faktör de p27 ekspresyon kaybıdır. Mikrosatellit instabilitesinin bulunması iyi prognostik bir faktör olarak tanımlanmıştır[1].

2.20.TEDAVİ

Kolonik rezeksiyon, laparoskopik kolektomi, metastatik lezyonların rezeksiyonu, kemoterapi, hepatik arterial infüzyon, radyoterapi, preoperatif kemoradyasyon, adjuvan radyoterapi gibi tedavi yöntemleri vardır[8]

2.21.KOLOREKTAL KARSİNOMALARDA TÜMÖR MARKIRLARI

Tümör markırları tanı koyma ve tedavi sürecinde yardımcı olabilen proteinlerdir. Bu proteinlerden bazıları tümörlerde eksprese edilirken bazılarının ise ekspresyon kayıpları görülür. Bu markırlardan bazıları;

2.21.1.Karsinoembriyonik antijen(CEA): Kolon karsinomunda ilk bulunan antijen olup onkofetal antijenlerin prototipi olarak tanımlanır. Çoğu kolorektal

karsinomlar CEA sentezler. Tümörlerin yalnızca %3'den azında negatif olarak görülür. CEA mukus sekrete eden hücrelerin apikal kısımlarında ve intrasitoplazmik olarak eksprese edilir. Kolorektal karsinomlu hastaların tarama programında karsinom relapsının tetkikinde çok önemli bir role sahiptir. ASCO, American Society of Clinical Oncology, klavuzu gereğince evre II ve III olan hastalara her üç ayda bir olmak üzere CEA seviyelerinin ölçümü önerilmektedir[8].

2.21.2.Keratinler: Kolon kanserleri tüm keratinleri eksprese etmemektedir. Kolorektal karsinomları diğer kanser kanserlerden ayırd etmek üzere en kullanışlı keratin molekülleri sitokeratin 20 ve 7'dir. Sitokeratin 20 pozitifitesi ve sitokeratin 7 negatifliği kolorektal karsinomları özellikle pulmoner adenokarsinomlarda ayırd etmede kullanılır [8].

2.21.3.Karbohidrat hücreli yüzey antijeni(CA-19):Kolonik karsinomların %80'inde saptanan, yanı sıra benign lezyonlarda ve displazilerde eksprese edilen karbonhidrat hücre yüzey antijenidir.Kanserli hastaların %50'sinde artmış serum seviyeleri mevcuttur. Ancak günümüz verileri kolorektal karsinomlu hastaların monitörizasyonunda klinik yararının çok fazla olmadığını göstermiştir[8].

Ayrıca büyüme faktörleri ve reseptörlerinden TGF-alfa (Tümör büyüme faktörü-alfa) , bazı kolorektal karsinomlu hastalarda artış gösterir. HGF (Hepatosit büyüme faktörü) tümör invazyonunda ve metastazında ekspresyon artışı gösterdiği bildirilmiştir. Adezyon moleküllerinden E-cadherin normal kolonik mukozada mevcuttur ancak karsinomlarında baskılanır. Bazı çalışmalarda bir başka hücre zarı adezyon molekülü olan CD44 üzerinde durulmuştur[8].

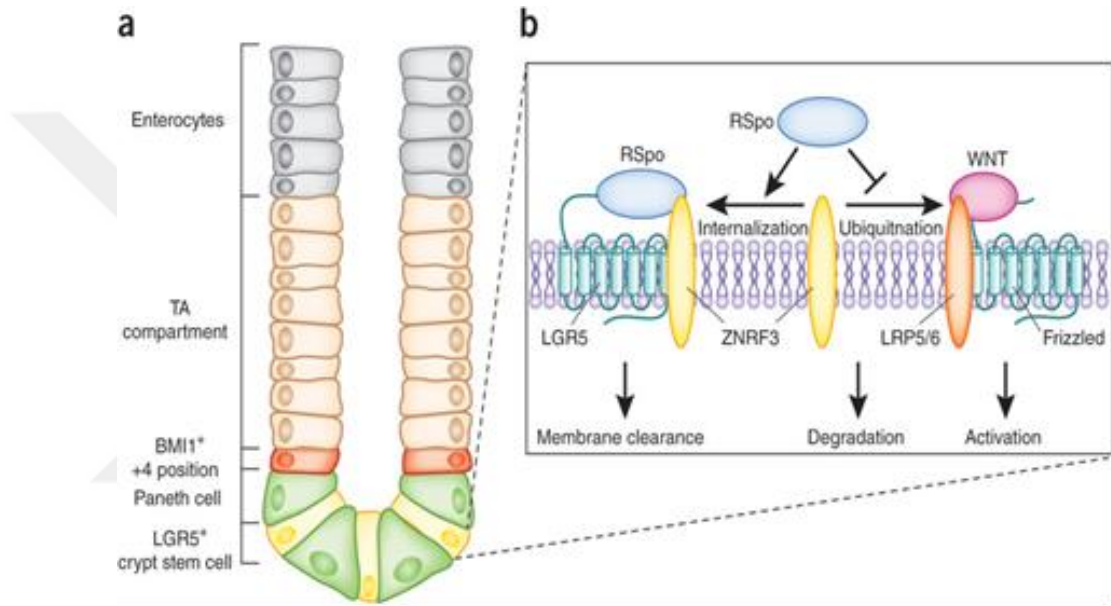
Biz çalışmamızda G protein bağlı reseptörlerden LGR5 (Lösinden zengin tekrarlar içeren G protein bağlı reseptör 5) ve bir transmembran adezyon reseptörü olan CD44'ün kolorektal karsinogenezis de rolünü araştırdık.

2.21.4.LGR5:

G protein bağlı reseptörler birtakım hassas moleküller (hormonlar ve nörotransmitterler) aracılığıyla ekstrasellüler sinyallerin hücre içine iletilmesinde görev alan önemli bir membran protein ailesi içerisindedirler. Birçok hastalığın oluşumundan GPCR (G protein bağlı reseptör) disfonksiyonu sorumlu tutulmaktadır. Bu membran protein ailesinin bir üyesi olan barsak kriptlerinde ve meme glandlarında bulunan LGR5 17 tane lösün aminoasitinden zengin tekrarlar ve 7 tane büyük ekstrasellüler alandan oluşması tipiktir ve hücre içine sinyal iletiminde önemli bir yer tutar[73]. Ligandin R spondin (RSPO) LGR5 'in ekstrasellüler

bölgesini aktive eder, birbirini takip eden lösinden zengin tekrarları ' at nalı ' şeklinde bir yapı ortaya koyarak düzenler ve sinyal geçişine olanak sağlar ama bu kompleksin halen hücre içi sinyal iletim mekanizması anlaşılammıştır[74].

LGR5 ekspresyonu hepatosellüler karsinoma, kolorektal karsinoma, ovaryen ve bazal hücreli karsinomada görülür. Kolorektal karsinogenezde primer rol oynar ve ekspresyonundaki artışının kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir[73].



Şekil 2.21.4.LGR5'in kök hücre ve reseptör olarak fonksiyonlarını gösteren bir şekil.

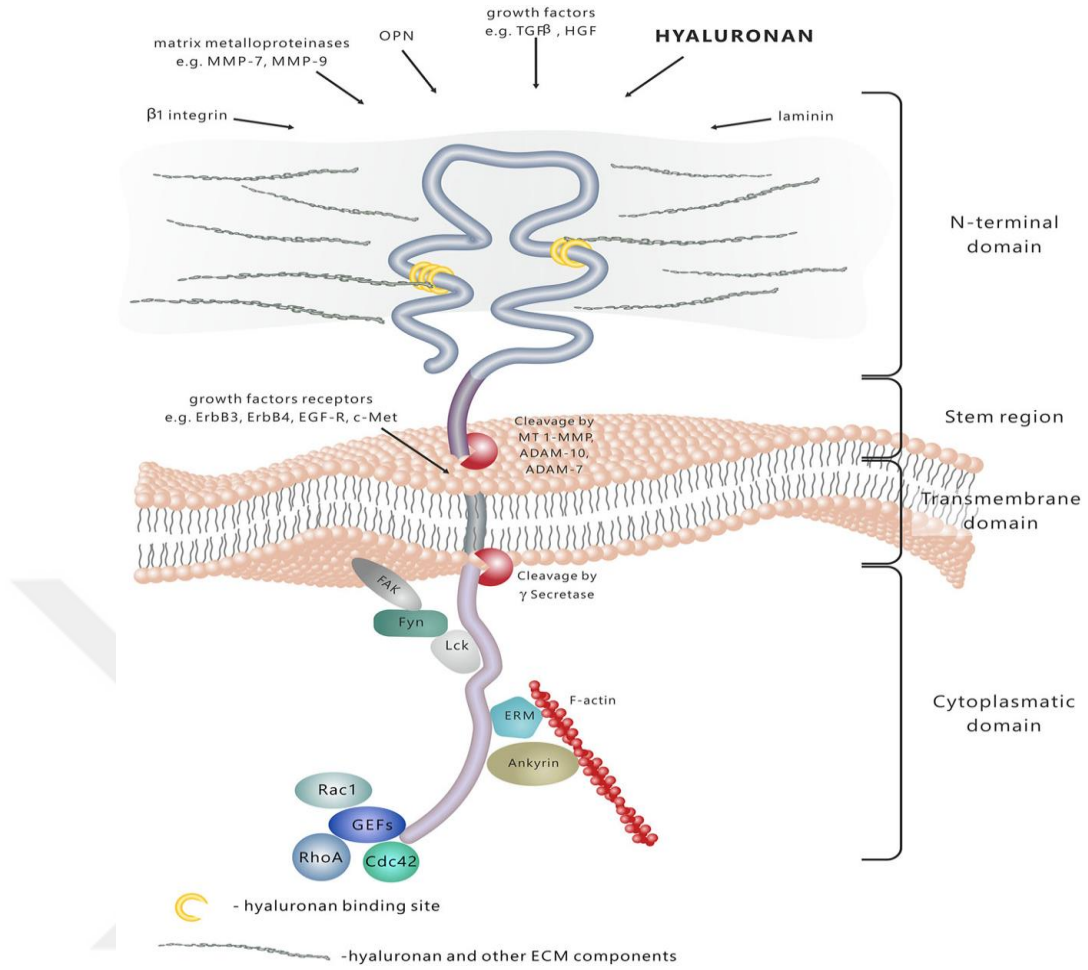
- Bu şekil Nature Biotechnology adlı internet sitesinden alıntı yapılmıştır.

2.21.5.CD44:

CD44 bir transmembran adezyon molekülüdür. CD44'ün genomik düzenlenimi ile ilişkili 20 ekson tanımlanmıştır. İlk beş ve son beş ekson sabitken,

aradaki 10 ekson değişken bölgedir. İzofromlar, membran proksimal parçaya alternatif eksonların (v1-v10) eklenmesiyle oluşan CD44 [75],hyaluronatın yeniden şekil almasında ve indirgenmesinde merkezi rol oynayan yanısıra normal hücrelerin birbirine adezyonu, hücreler arası ve hücrelerin ekstrasellüler matriks ile arasındaki iletişimi sağlayan ve kemokinlerin, büyüme faktörlerinin iletilmesine yardımcı olan, hücrelerin migrasyonu ve kanser invazyonu, metastazında da görev alan çok fonksiyonlu bir transmembran adezyon reseptörüdür[76].

Sitoplazmik CD44, ankirin ve ezrin-moesin-radixin ailesine ait proteinler aracılığıyla hücre iskeleti ile iletişim kurar [77]. CD44 kolorektal karsinomlu hastalarda çok önemli bir markır olup çeşitli subtipler içermektedir. Bu subtipler içerisinde en değerli olanı ve tümorogenezisde en çok kullanılanı CD44v2 olarak bilinmektedir, kolonun normal kök hücrelerinde CD44v9 varlığı gözlemlenmiştir[75]. Bazı kanser türlerinde ki bunların içinde kolorektal karsinomlar da dahil neoplastik hücrelerin eksprese ettiği CD44 histolojik derece, evre, metastaz ve yaşam süresini belirleme açısından korelasyon göstermektedir. Erken evre karsinomlarda ve tümör davranışlarını belirlemek amacıyla CD44 kullanışlı bir prognostik faktör gibi gözükmetedir[77].



Şekil 2.21.5. CD44'ün transmembran adezyon molekülü olarak ihtiva ettiği yapısal elemanlar.

- Bu şekil Frontiers adlı internet sitesinden alıntı yapılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Bu tez çalışması, 04.06.2014 tarihinde, 16/01 karar numarası ile Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi (KÜTF) Girişimsel Olmayan Klinik Araştırma Etik Danışma Kurulu Başkanlığı tarafından değerlendirmeye alınarak yazılı olarak onaylanmış, 25.07.2014 tarihinde 094 proje numarası ile Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmesi uygun bulunmuştur. Çalışma, Helsinki Deklarasyonu'na (200) ve İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu'na (201) uygun şekilde yürütülmüştür.

3.2.Çalışma Grubunun Seçimi

Çalışma gerekli onay ve izinlerin alınmasını takiben Temmuz 2014-Haziran 2015 tarihleri arasında KÜTF Patoloji Anabilim Dalı tarafından yürütülmüştür. Çalışmada 2010-2014 tarihleri arasında KÜTF Patoloji Anabilim Dalı'na gönderilen ve tanı almış materyallerden, 15 adet hiperplastik polip, 15 adet tübüler adenoma, 15 adet villöz adenoma ve 15 adet kolon adenokarsinoması çalışma kapsamına alındı.

Olgulara ait H&E boyalı preparatları tekrar değerlendirilerek immünohistokimya için en uygun bloklar seçildi.

3.3.İmmünohistokimyasal Boyama

İmmünohistokimya için primer antikor LGR5 antikor (MyBioSource,GPR49) ve CD44 (Labvision Ltd.HCAM Ab-4) kullanıldı. Yapılan ön çalışmalarda CD44 1/200 ve LGR5 1/75 konsantrasyonlar olarak saptandı ve bu dilüsyonlarda primer antikorlar uygulandı.

İmmünohistokimyasal çalışma için ilgili parafin doku bloklarından pozitif şarjlı lamlara 0,4 µm kalınlığında kesitler alındı. Deparafinizasyon amacıyla etüvde 70°C'de 1 saat bekletildi. Lamlar Ventana X Benchmark immünohistokimya cihazına yerleştirildi. 1 saat 45 dakika sonra belirli oranlarda dilüye edilen antikorlar lam sayısına göre hazırlanıp her lama 150 µm antikor damlatıldı. Boyama bittikten sonra dokular cihazdan alınarak bir kez su ve %96'lık alkole batırılıp cıkartıldı. Kuruduktan sonra ksilende bekletilip entellan ile kapatıldı.

Boyanmanın mikroskoptaki değerlendirmesinde modifiye immünohistokimyasal skor (H-SKOR) kullanıldı. CD44 standart antikor için hücre membran boyanması, LGR5 antikor için ise nükleer boyanma pozitif olarak değerlendirildi. Büyük büyütme ile yaklaşık 500 hücre sayıldı. Hiperplastik polip, tübüler ve villöz adenomda yüzey epiteli ve kriptler, kolon adenokarsinomunda invaziv tümör adaları değerlendirildi, tübüler ve villöz adenomlarda düşük/yüksek dereceli displazi alanları içeren vakalar seçilmedi. HSKOR değerleri aşağıda belirtilen şekilde hesaplandı.

Negatif boyanan hücrelerin %'si(skor 0)X0

Zayıf pozitif boyanan hücrelerin %'si(skor 1)X1

Orta derecede pozitif boyanan hücrelerin %2si(skor 2)X2

Güçlü pozitif boyanan hücrelerin %'si (skor 3)X3

HSKOR'u 0-300 arasında değişebilen değerlere sahiptir.

3.4.İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

İstatistiksel analiz için SPSS for Windows 20.0 programı kullanıldı. Gruplar arasındaki niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki kare testi kullanıldı, veriler sayı ve yüzde olarak sunuldu. Verilerin normal dağılım uygunlukları görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemlerle (Kolmogorov-smirnov/ shapiro-wilk testleri) kullanılarak incelendi. Parametrik koşulları taşıyan iki gruptaki karşılaştırmalar student t testi, üç ve daha fazla sayıdaki gruplardaki karşılaştırmalar ise One Way Anova testi ile yapıldı. Veriler aritmetik ortalama \pm standart sapma olarak sunuldu Parametrik koşulları taşımayan iki gruptaki karşılaştırmalar Mann Withney-U testi ile; üç ve daha fazla sayıdaki gruplardaki karşılaştırmalar ise Kruskal -Wallis testi ile yapıldı. Sayısal veriler ortanca olarak sunuldu. Her iki değişkende normal dağıldığında korelasyon analizleri için Pearson korelasyon analizi, parametrik koşulları taşımayan gruplardaki korelasyon analizleri için Spearman korelasyon analiz testi kullanıldı. Tüm testlerde $p \leq 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Bu çalışmaya 15 adet hiperplastik polip,30 adet adenoma ve 15 adet kolon adenokarsinoma vakası dahil edilmiştir. Öncelikle normal-adenom-adenokarsinom sekansındaki değişiklikleri saptamak amacıyla vakalar gruplara ayrılmış ve istatistik incelemeler yapılmıştır. Patoloji spesmenleri CD44 ve LGR5 immün boyamaları ile H-skoru(0-300) kullanılarak Tablo ...'de semi-kantitatif olarak skorlandı. Sonuçta hem CD4 ve LGR5 verilerinin tamamı hem de grup grup bakıldığında tüm veri setinin normal dağılıma uyduğu görüldü. Parametrik testlerin

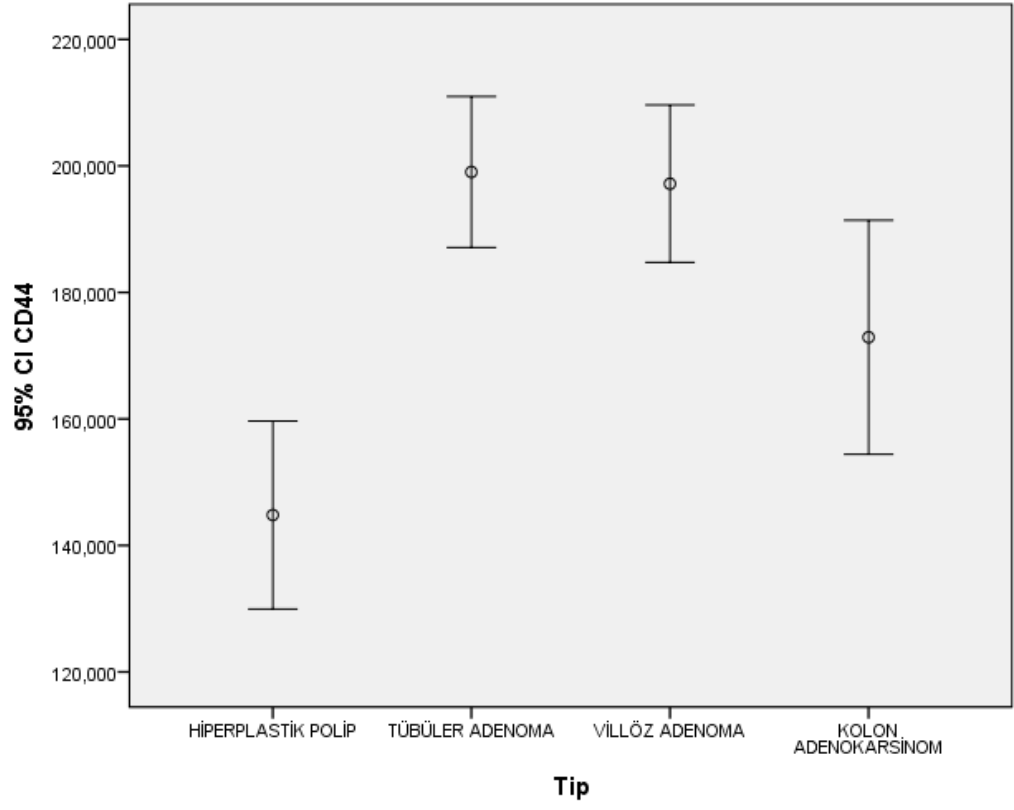
yapılmasına karar verildi. Gruplara tek tek CD44 ve LGR5 ekspresyonlarının normal dağılımı açısından Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk parametrik testleri uygulandı ve p değeri $\leq 0,05$ olarak baz alındığında verilerimizin normal dağılımdan farklı olmadığı sonucuna ulaşıldı.

Tablo 4. 1. Tüm gruplarda CD44'ün membranöz ve LGR5'in nükleer boyanma H-SKOR değerleri

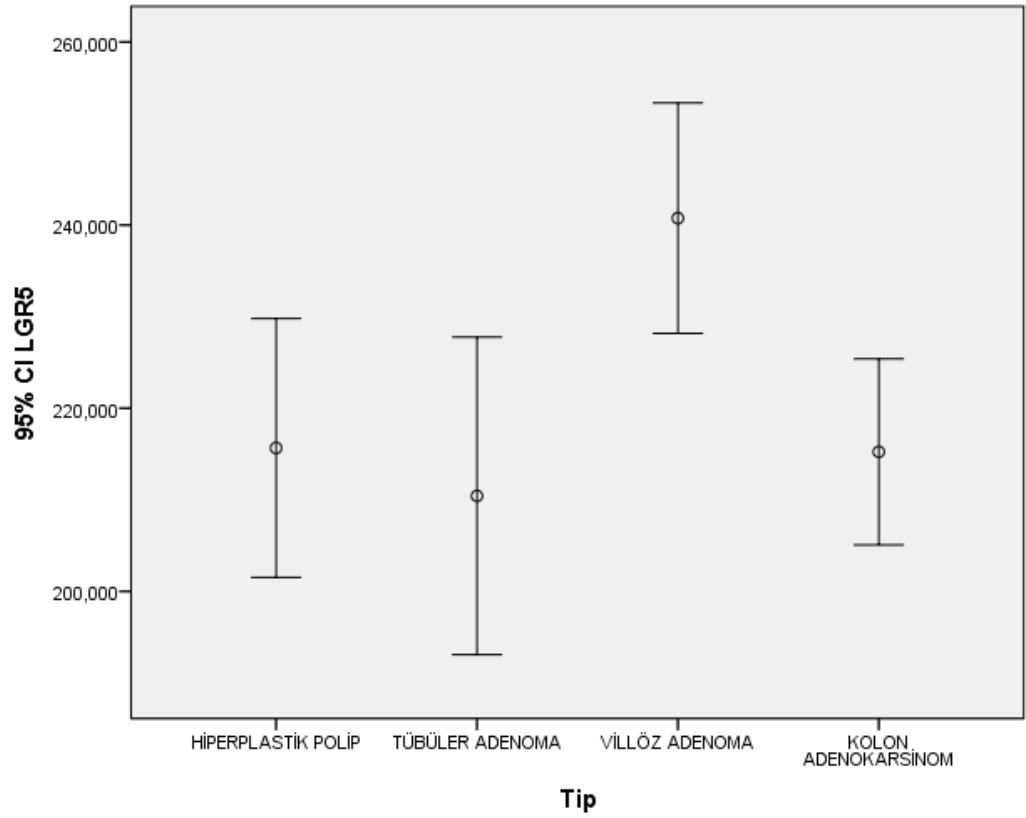
Antikor	Hiperplastik p.	Tübüler a.	Villöz a.	Kolon ak.
Poz(%)HSKOR	Poz(%)HSKOR	Poz(%)HSKOR	Poz(%)HSKOR	Poz(%)HSKOR
n=15	n=15	n=15	n=15	n=15
CD44	15(%100) 145	15(%100) 199	15(%100) 197	15(%100) 173
(membran)	92 ± 183	164 ± 234	162 ± 239	116 ± 228
LGR5	15(%100) 215	15(%100) 210	15(%100) 240	15(%100) 215
(nükleer)	160 ± 257	126 ± 252	206 ± 271	173 ± 241

İmmünohistokimyasal sonuçlara göre 15 hiperplastik polip, 15 tübüler adenom, 15 villöz adenom ve 15 kolon adenokarsinomu vakalarından tamamı CD44 ile membranöz, LGR5 ile nükleer boyanma göstermiş olmasına rağmen vakalara tek tek bakıldığında zayıf, orta ve güçlü boyanma göstermelerine göre HSKOR değeri tablo 4. 1'de verildi.

ÇİZGİ GRAFİKLER



Grifik 2.1. Grupların CD44 ekspresyonlarındaki H-SKOR değerlendirilmesi.



Grafik 2.2. Grupların LGR5 ekspresyonlarının HSKOR değerlendirmesi.

CD44 ve LGR5 immün boyalarının hiperplastik polip,tübüler adenom,villöz adenom ve kolon adenokarsinomu grupları arasında total HSKOR değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı sonuç olduğu gösterilmiştir(**ANOVA, P<0,001 ve p=0,07**).Bu sonuca göre grupların arasındaki farklılığı bulmak için Post Hoc Tukey yapıldı.

CD44 immün boyasının total HSKOR değerlerinde hiperplastik polip; tübüler adenom (**p<0,001**), villöz adenom (**p<0,001**) ve kolon adenokarsinomu'ndan (**p=0,026**) daha hafif ve seyrek boyanma göstermiştir. Tübüler adenom ve villöz adenom yaklaşık olarak aynı oranda (orta derecede ve yaygın) eksprese edilirken kolon adenokarsinomu onlardan daha hafif derecede ve seyrek boyanma göstermiştir. Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

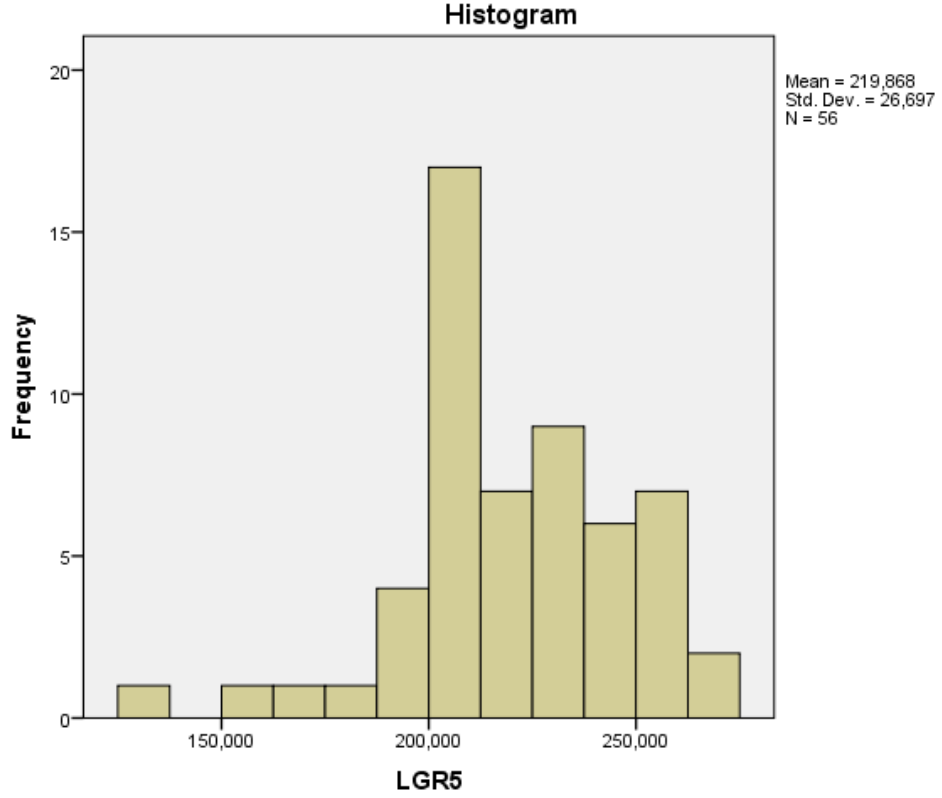
LGR5 immün boyasının total HSKOR değerlerinde villöz adenom; hiperplastik polip (**p=0,038**), tübüler adenom (**p=0,008**) ve kolon adenokarsinomu'ndan (**p=0,034**) daha güçlü ve yaygın boyanma göstermiştir. Hiperplastik polip (orta şiddette ve yaygın) gösterirken, tübüler adenom ve kolon adenokarsinomu'nda daha hafif şiddette ve yaygın ekspresyon dikkati çekmiştir. Bu sonuçlar da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Tablo 4.2.Hiperplastik polip,tübüler adenom,villöz adenom ve kolon adenokarsinomu'nda CD44 ve LGR5 pearson korelasyon tablosu.

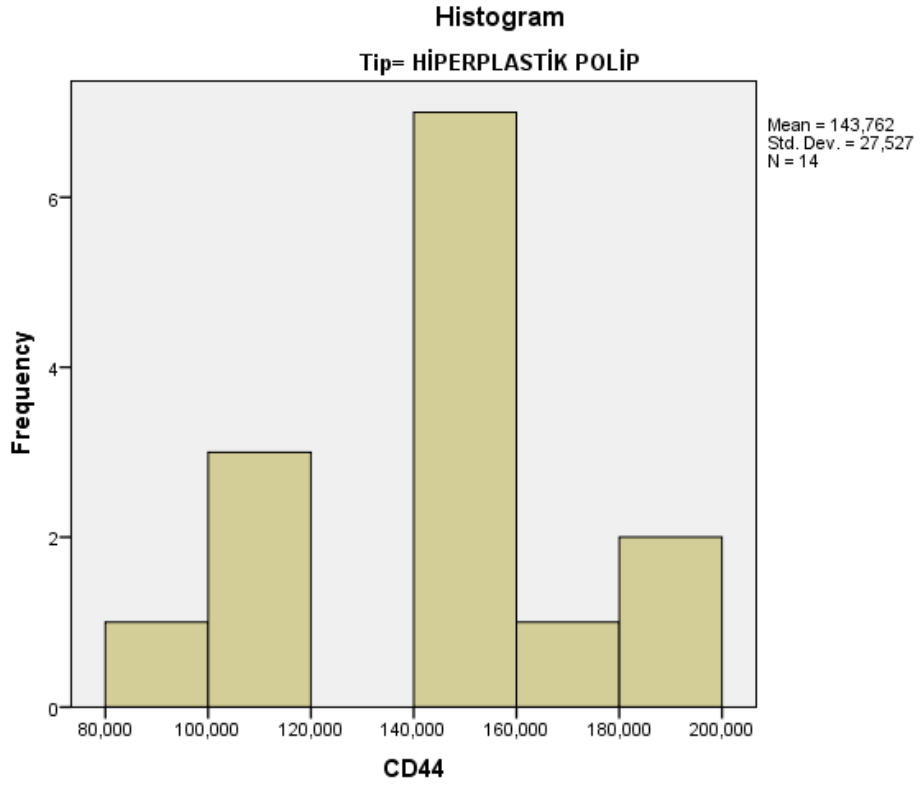
Gruplar ▼	CD44	◀ antikorlar ▼
Hiperplastik polip	r=0,160 , p=0,585	LGR5
Tübüler adenom	r=-0,370, p=191	LGR5
Villöz adenom	r=0,036, p=0,902	LGR5
Kolon adenokarsinomu	r=-0,007, p=0,981	LGR5

Tablo 4.2 'de verilen değerlerde Hiperplastik polip'de, CD44 ile LGR5 arasında düşük derecede pozitif ilişki olup istatistiksel olarak anlamlı sonuç yoktur (r= 0, 160 p= 0,585).Tübüler adenomda, CD44 ile LGR5 arasında düşük/orta

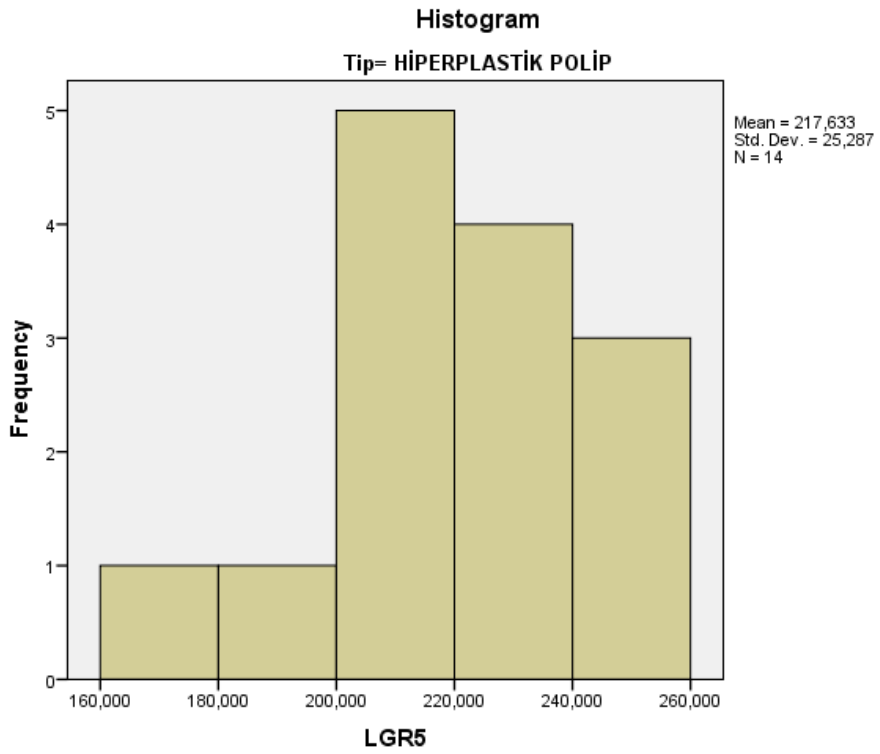
derecede negatif ilişki olup istatistiksel olarak anlamlı sonuç yoktur ($r = -0,370$ $p = 192$). Villöz adenomda CD44 ile LGR5 arasında düşük veya önemsiz derecede pozitif ilişki olup istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmamıştır ($r = 0,036$ $p = 0,902$). Kolon adenokarsinomda, CD44 ile LGR5 arasında düşük veya önemsiz derecede negatif ilişki olup istatistiksel olarak anlamlı değildir ($r = -0,007$ $p = 0,981$).



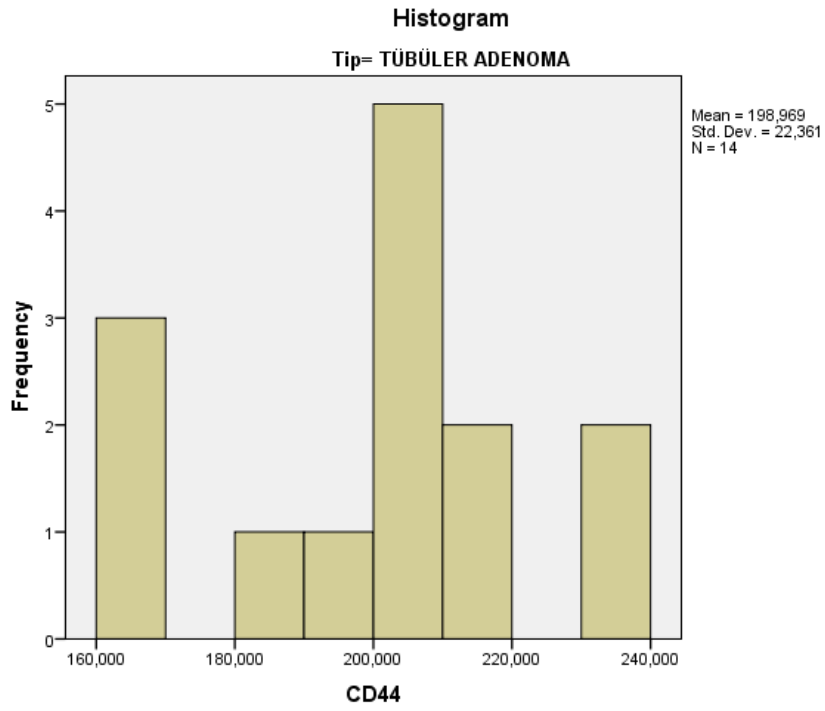
Grafik 2.3. CD44 ekspresyonunun hiperplastik polip,tübüler adenom ,villöz adenom ve kolon karsinomundaki H-SKOR dağılımı.



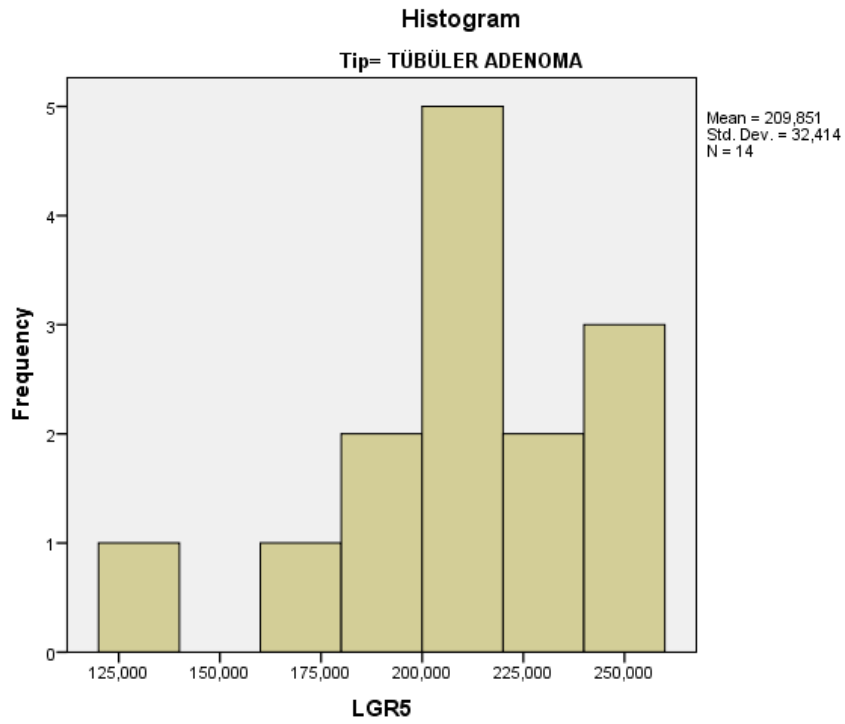
Grifik 2.4. CD44 ekspresyonunun hiperplastik polipteki H-SKOR dağılımı.



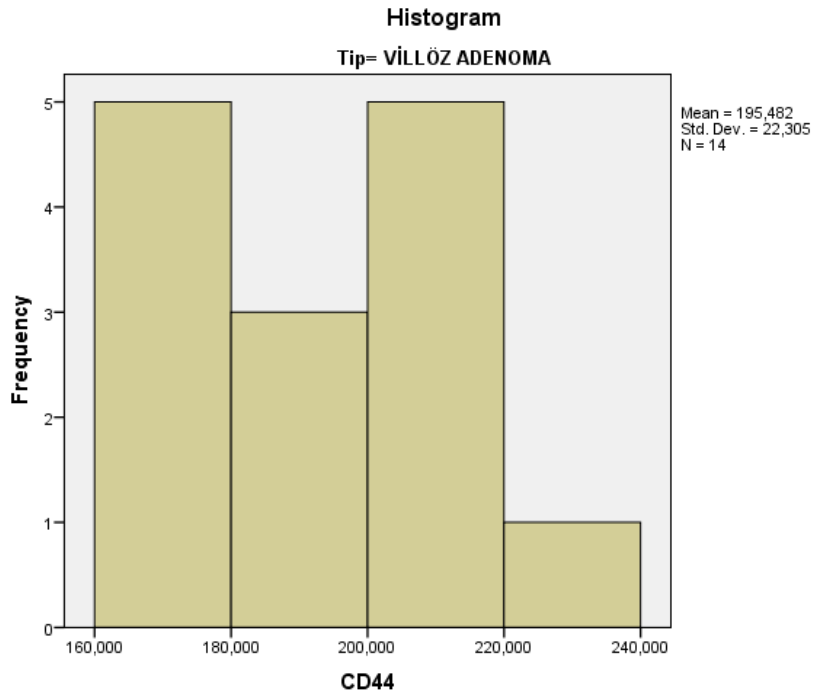
Grifik 2.5. LGR5 ekspresyonunun hiperplastik polipteki H-SKOR dağılımı.



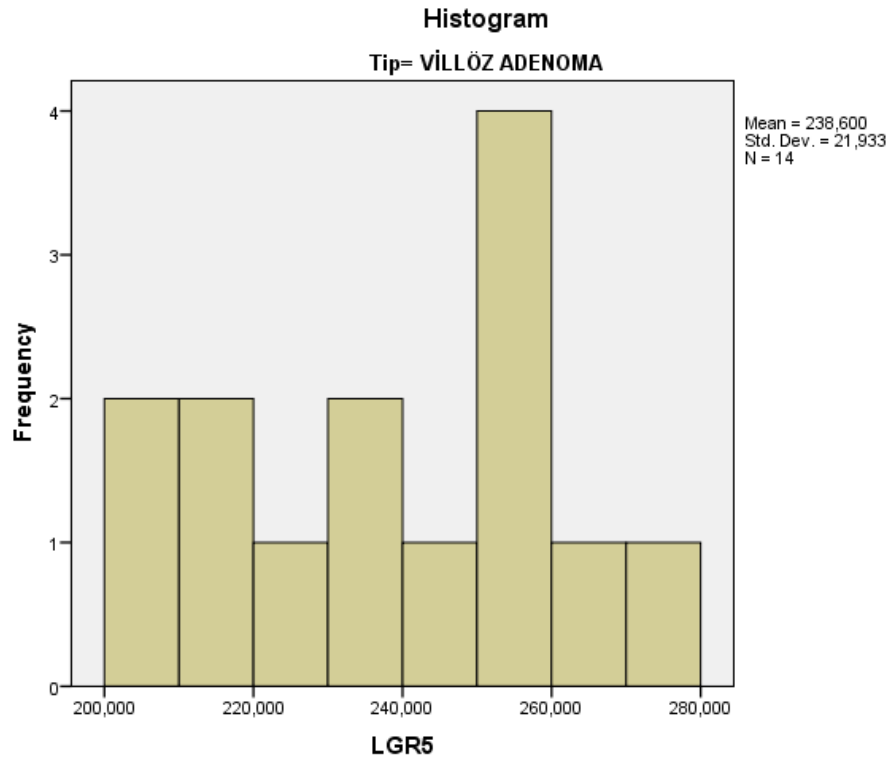
Grafik 2.6. CD44 ekspresyonunun tübüler adenomdaki H-SKOR dağılımı.



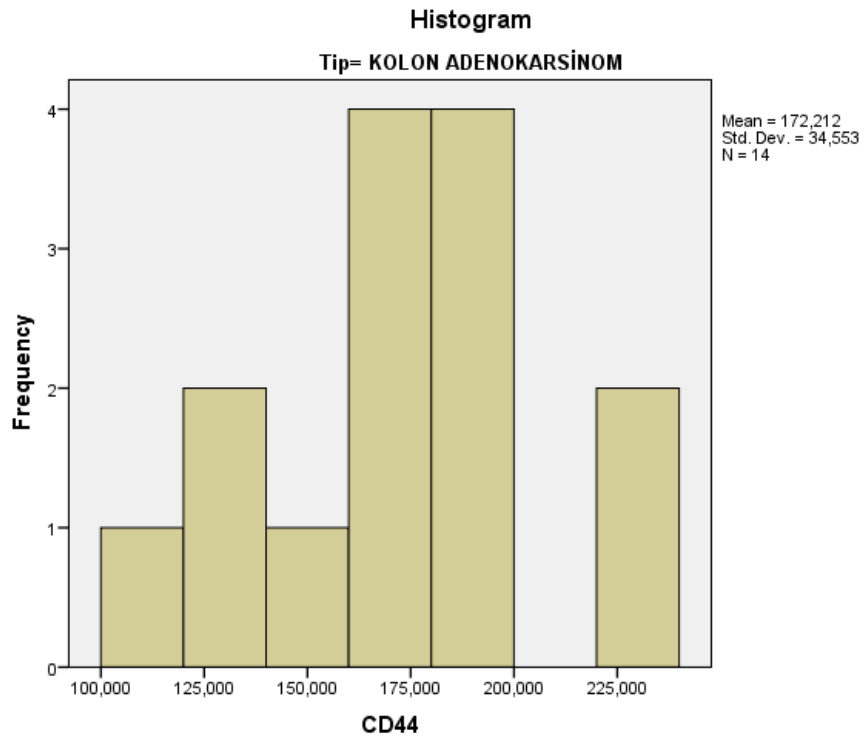
Grafik 2.7. LGR5 ekspresyonunun tübüler adenomdaki H-SKOR dağılımı.



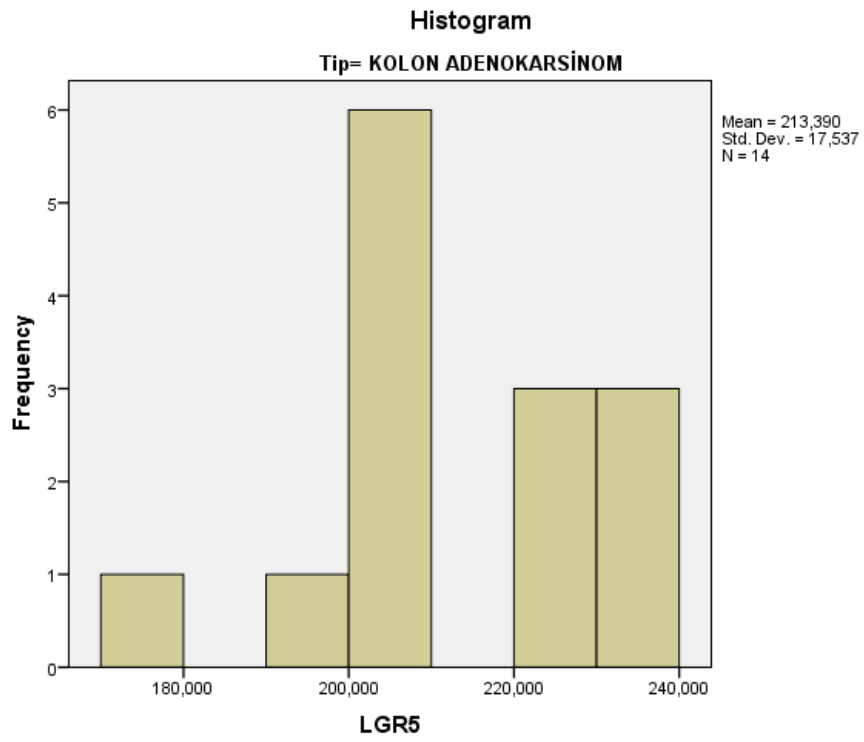
Grafik 2.8. CD44 ekspresyonunun villöz adenomdaki H-SKOR dağılımı.



Grafik 2.9. LGR5 ekspresyonunun villöz adenomdaki H-SKOR dağılımı.



Grafik 2.10.CD44 ekspresyonunun kolon adenokarsinomundaki H-SKOR dağılımı.



Grafik 2.11. LGR5 ekspresyonunun kolon karsinomundaki H-SKOR dağılımı.

TARTIŞMA

Kolorektal karsinomalar dünyada 4. sıklıkta görülen, özellikle endüstriyel ülkelerde 40'lı yaşlardan sonra görülme sıklığı iki kat artan neoplazmlardır. İyi tanımlanmış olan familyal sendromlar da görülen kolorektal karsinomalar olabileceği gibi, çoğu sporadik olup mekanizması kesin olarak anlaşılamamış, ancak genetik değişikliklerin akümüasyonu ile adenoma-karsinoma sekansı sonucu multistep bir süreci izleyerek gelişir; bu açıdan oluşumlarında sıklıkla prekürsör lezyon adenomatöz poliplerdir [1, 8, 78].

Kolorektal tümörler insanda neoplastik gelişimi incelemek için çok iyi bir model oluşturmaktadır. Çok küçük adenomalardan çok büyük metastatik karsinomalara kadar ilerleyen bir yolda gelişimin değişik evrelerinde tümöral oluşumlar üzerinde çalışma imkanı vardır. Kolorektal adenoma-karsinoma sekansı insan karsinogenezi için tipik bir modeldir çünkü kolorektal karsinomaların çok büyük bir kısmının daha öncesinde varolan adenoma zemininden geliştiğini gösteren çok sayıda klinikopatolojik bulgu mevcuttur [79]. CD44 ve LGR5'in fonksiyonları birçok çalışmada tartışılmıştır. Biz çalışmamızda hiperplastik polip, tübüler adenom, villöz adenom ve kolon karsinomu olgularında karsinogenezis açısından CD44 ve LGR5 antikorlarının adım adım ekspresyon düzeylerini inceledik.

CD44 içerisinde hyaluronat bulduran 85-200 kda ağırlığında bir transmembran proteindir. Bu protein hücre içi ve hücre dışı sinyal iletiminde, göç ve adezyon gibi görevlerde yer almaktadır. CD44 fibroblast, lökosit epitelial, mezodermal ve nöroektodermal gibi hücrelerde bulunabildiği gibi integrin ve aktin moleküllerinin hücre içi ve dışına bağlanabilmesine de yardımcı olmaktadır. Bu hücrelerde bulunması birçok kanser kök hücrelerinin araştırılmasına yardımcı olmaktadır. CD44 birçok farklı izoforma sahiptir. Bunlardan en basiti ve en yaygın görüleni CD44H izoformudur, kan hücrelerinde görülür. Kolorektal karsinomalarda en sık görüleni CD44V6 varyantidir. Meme kanserlerinde de CD44V4 varyanti tespit edilmiştir [80].

Çalışmamızda CD44 (standart varyantı) immün boyasında hiperplastik polip ile karşılaştırıldığında tübüler adenom ($p < 0.001$) ve villöz adenoma'da ($p < 0.001$) birbirine yakın bir oranda ve alınan tüm vakalarda (%100) pozitif membranöz

boyanma, kolon adenokarsinomu'nda ($p=0,026$) ise tübüler adenom ve villöz adenom'dan daha az oranda bir ekspresyon izlenmiştir. Hiperplastik polip ise en az boyanma gösteren grup olarak dikkati çekmiştir. Bu fark istatikselsel olarak da anlamlı bulunmuştur. Bizim yaptığımız çalışmanın bir benzerini Norman ve arkadaşları da yapmışlar ve benzer sonuçlara ulaşmışlardır. Bu alışmada CD44' n farklı bir varyantı kullanılmış olup hem sağlam mukozada hem de neoplastik dokularda yaygın bir şekilde g r ld ğu saptanmıştır. Bu çalışmada apendiks ve kolonun hem adenom hem de adenokarsinomalarında CD44s, p53 ve bcl-2 ekspresyonları incelenmiştir. CD44s ekspresyonlarının karsinomalarda adenomalardan daha d şuk eksprese edildiği izlenmiştir [81].

İn vitro western blot yontemi kullanılarak yapılan calismada CD44'un ekspresyonu sadece kanser hucrelerinde degil inflamatuvar, inflamasyon ve fibrozis ile sonuclanan akciğer ve böbrek hastaliklarında da artış g sterdigi anlaşılmıştır. CD44 yapısında bulundurduğu hyaluronattan dolayi hem hucreyel g , hem invazyon, hem de metastaz acisinden önemli bir rol oynamaktadır. EMT (epitelyal-mezenkimal gecis) normal koşullarda cok korunakli bir yapıya sahip iken inflamatuvar olaylarda ve kanserlerde reaktif hale gelirler. Kolon kanseri gibi epitelyal kanserlerde aktin gibi iskelet proteinlerinin destegiyle hucreyel membran kadherinlerinin farklı sekildeki dağilimleri ile olusan bir mekanizmadir. CD44 yüksek eksprese olduğu kolon kanseri hucrelerinde oldukça fazla bulunan EMT (epitelyal-mezenkimal gecis) CD44' un bu artisiyla birlikte induklenir ve E-cadherin'in down regule olmasına sebep olur; adenomalarda, kolon kanserinde ve kolon kanserinin metastazları ve invazyonunda çok önemli rol oynarlar [76].

Yapılan başka bir çalışmada prostat iğne biyosilerinde ve radikal prostatektomide CD44 kök hucre markeri ekspresyonlarına bakılmış, her ikisinde de CD44 ekspresyonlarının g r ld ğu ve boyanan kanser hucrelerinin düzeylerinin %30'u aşmadığı saptanmıştır. Bulgulara bakıldığında prostat iğne biyopsi ve radikal prostatektomi gruplarında Gleason skor ve CD44 boyanmış kanser hucreleri arasında negatif bir ilişki saptanmış, fakat CD44 boyanan kanser hucreleri ile iğne biyopsi ve prostatektomi karşılaştırıldığında pozitif bir ilişki olduğu görülmüştür. Sonuç olarak CD44 bir kök hucre markiridir, klinisyenler açısından tedavi-cevap sürecinde yardımcı olabilecek önemli bir role sahip olabileceği düşünülmüştür[82].

Jing F ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PCR ve immunhistokimya birlikte kullanılıp, analiz edilmiştir. CD44 ekspresyonu hepatik metastaz yapmış kolorektal karsinomalarda cok yuksek, kolorektal karsinomalarda ve normal

mukozalarda daha az eksprese edildiği görülmüştür. Beş yıllık sağkalım CD44'ü diffüz eksprese eden hepatik metastazlı grupla metastaz yapmamış kolorektal karsinomlu vakalara oranla daha düşük bulunmuştur. Bu çalışmaya göre CD44'un metastaz ve beş yıllık sağ kalım açısından iyi bir gösterge olabileceği düşünülmüştür [83]. Bizim çalışmamızda metastaz ve sağ kalım değerlendirilmemiştir ama CD44 immün boyasının tübüler ve villöz adenomlarda hiperplastik polipten yüksek oranda eksprese edilmesi kolon karsinogenezisi açısından önemlidir. Kolon karsinomu erken tanı ve tedavisinde yardımcı olabileceği düşünülmüştür.

Neumayer ve arkadaşlarının yaptığı restrospektif çalışmada kolorektal adenom, içinde gelişen erken invaziv kanserler ve daha agresif biyolojik potansiyeli olan kolorektal poliplerin olası belirteç olarak CD44 standart protein ve CD44v5 ve CD44v6 izoformlarının immunohistokimyasal ifadesini değerlendirmişlerdir. Sonuçlar incelendiğinde kolorektal poliplerin %63'ünde CD44s, %59'unda CD44v5, %27'sinde CD44v6 pozitif ekspresyon gösterdiği izlenmiştir. Düşük grade'li adenomaların %93'ünde, yüksek grade'li adenomaların %50'sinde ve adenoma içerisinde karsinoma gelişmiş vakaların da %42'sinde CD44s ekspresyonu görülmüştür. Bu bulgular eşliğinde CD44 ve izoformları karsinogenezis basamaklarını izlemede yardımcı olabilecek bir markır olarak düşünülmüştür [84].

Chai N ve arkadaşlarının CD44 ile yaptıkları immunhistokimyasal çalışmada kolon kanserinde CD44 ekspresyonu normal mukozadan daha yüksek olmak üzere vakaların %95.65'inde saptanırken, inflamatuvar hiperplastik polipli olgularda %22.58, tübüler adenomatöz poliplerde %55.26, villöz poliplerde ise %75.76 ve kolon adenokarsinomu'nda 95.65% olarak bulunmuştur [85]. Bu çalışmada CD44 kolon karsinogenezisinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Erken tanı ve tedavi açısından çok önemli klinik bir markır gibi gözükmektedir.

GPRC'ler (G protein bağlı reseptör) büyük bir membran protein ailesinin en büyük üyelerinden bir tanesidir. Bu büyük protein 800 gen tarafından kodlanmakta ve önemli bir sinyal dönüştürücüsü olarak görev almaktadır. İmmun cevaplarda, hormon, enzim ve nörotransmitterlerin salınışında, kas kontraksiyonlarında ve kan basıncının düzenlenmesinde rol oynarlar. GPCR'ler Tip A ve Tip B olmak üzere 2 tip farklı reseptör grubu olarak kategorize edilir. LGR'nin tip A grubunun farklı bir alt grubunda yer aldığı tespit edilmiştir. LGR hidrofobik 11 aminoasitten zengin bir yapıya sahiptir. Lösin aminoasiti farklı pozisyonlarda yer alarak bu büyük proteininin

değişik varyantlarını oluşturmaktadır. LGR5 LGR'nin tip b reseptör grubunda bulunmakta ve hücre içi-dışı sinyal iletiminde rol oynamaktadır. LGR5 wnt hedef geni olarak bilinir ve intestinal kök hücre markırı olduğu anlaşılmıştır. Bu kök hücreler intestinal epitelin tabanında yenileyici hücreler olarak görev alırlar. Wnt sinyal yolağının aktive olması ile intestinal epitelde proliferasyon ve ardından adenomatöz transformasyon gerçekleşir. LGR5 paneth hücreler arasında bulunan küçük kolumnar hücrelerde eksprese edilmektedir. Kolon kanseri hücre hatlarında LGR5 aşırı eksprese olurken Wnt yolağı inhibe olmakta, aksine LGR5 reseptörleri bloklandığında Wnt yolağı asiri eksprese olup anjioenez, invazyon gibi tümörögenesis aşamalarında büyük roller oynamaktadır. Bulgular sonucunda LGR5'in birçok dokuda kök hücre olarak saptandığı, fakat intestinal epitelde normal mukoza-adenoma-karsinoma aşamalarında primer rol oynadığı gözlemlenmiştir [74].

Karsinögenesis kolonik mukozada çok adımlı bir süreçtir. Kript bazalindeki kök hücreler hızlı bir dönüşümle apekse doğru enterosit, goblet ve endokrin hücrelere farklılaşırlar. Genetik ve çevresel etkenler bu büyüme ve dönüşüme verilen normal cevabı değiştirebilirler. Bu değişiklik ve anormalleşme ilk olarak anormal kriptler oluşturmakla başlamaktadır. Zamanla bu kriptler normal kriptlere göre daha hızlı adenomatoz transformasyona uğrarlar. Bu çalışmada in vitro olarak LGR5'i normal mukozadaki olası kök hücrelerde ve anormal kriptlerde tespit etmek için kullanılmış ve yapılan immun boyamalarda kript bazalinde birkaç hücrenin eksprese olduğu dikkati çekmiştir [86].

Bizim LGR5 immün boyama çalışmamızda total HSKOR değerlerinde villöz adenom; hiperplastik polip ($p=0,038$), tübüler adenom ($p=0,008$) ve kolon adenokarsinomu'ndan ($p=0,034$) daha güçlü ve yaygın boyanma göstermiştir. Hiperplastik polip ve kolon adenokarsinomu benzer bir boyanma oranı (orta şiddette ve yaygın) gösterirken, tübüler adenomda daha hafif şiddette ve yaygın ekspresyon dikkati çekmiştir. Bu sonuçlar da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. LGR5 hem bir reseptör hem de bir kök hücre olarak görev aldığı bilinmektedir. Bizim çalışmamızda da hiperplastik polip'te boyanma (%100) saptanmış, karsinögenesis yolunda ki villöz adenomda da güçlü ve yaygın boyanma izlenmiştir.

Ann marie baker ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada LGR5'in wnt yolağındaki reseptörlerin kodlayıcılığın da görev alan G protein bağlı bir reseptör olduğunu saptamışlardır. Normal kolon ve hiperplastik polip kriptinin bazalinde yer alan küçük kök hücrelerde eksprese edildiğini ve bu ekspresyonun klasik adenoma

ve serrated lezyonlarda arttığını görmüşlerdir. Hiperplastik polip'te ekspresyonu artmıştır; serrated adenomda sağlam mukozaya ve hiperplastik polip'e göre artış göstermiştir, iyi diferansiye adenokarsinoma'dan invaziv adenokarsinomaya ilerledikçe LGR5 ekspresyonunun artış gösterdiği izlenmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda LGR5'in gastrik kanserlerin MMP2 (Matriksmetalloproteinaz 2) 'ye bağlı olarak metastaz ve invazyonların regülasyonlarında görev aldığı rapor edilmiştir[87]. Biz kolon adenokarsinomlarının diferansiyasyon derecelerini çalışmaya dahil etmedik. Bu çalışmanın aksine villöz adenom da artış gösteren ekspresyon kolon adenokarsinomu'nda daha düşük bir ekspresyon paterni sergilemiştir.

Baska bir calismada kolon karsinomalarında kök hücre markırlarının içerdiği

glikoproteinlerin içerisinde LGR5'in olduğu da varsayılmaktadır. LGR5 wnt hedef geni olarak tanımlanmış ve APC mutasyonlarında wnt'nin stimüle olduğu ve ardından LGR5'in upregülasyon gösterdiği saptanmıştır. Beta katenin mutasyonlarında LGR5'in kolorektal hücrelerde ekspresyonunun arttığı izlenmiştir. Yapılan son çalışmalar wnt/beta katenin yolunun kök hücreleri büyütüp geliştirdiğini ortaya koymuştur[88].

Bir başka çalışmada LGR5'in wnt/beta katenin yolunun hedef geni olduğundan bahsedilmiş ve hayvan deneylerinde intestinal epitelde uzun ömürlü olduğu düşünülen kriptom bazalindeki kolumnar kök hücrelerinin birçoğunun LGR5 olduğu tespit edilmiştir. Wnt sinyalinin intestinal epitelde kök hücrelerin aktivasyonu açısından çok önemli bir yolak olduğu anlaşılmıştır. Wnt sinyallerinin LGR5 reseptörlerinin de içerisinde bulunduğu R spondin kompleksinden taşındığı dikkati çekmiştir. R spondin kompleksi içerisinde Lrp (low-density lipoprotein receptor-related proteins), Lgr, and Fzd (Frizzled); Bu kompleks Wnt yolunun işini kolaylaştırmaktadır [89]

Chai N ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada normal mukozada LGR5 ekspresyonu yokken, inflamatuvar hiperplastik poliplerde %16.12, tübüler adenomalarda %86.84, villöz adenomalar ve kolon kanserinde %93.94 oranlarında eksprese edildiği dikkati çekmiştir [85] . Sonuca bakıldığında bu çalışma LGR5'in karsinogenezis yolunda pozitif bir ilişkisi olduğunu göstermektedir.

Feigao ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada LGR5 küçük hücreli dışı akciğer adenokarsinoma hücre hatlarında kök hücre benzeri kanser hücresi gibi immunhistokimyasal olarak eksprese edildiği saptanmıştır. Kolorektal karsinoma tümörögenезisinde Lgr5-pozitif hücrelerinin tespit edilmeleri kolorektal karsinoma

tanı ve tedavi süreci için umut verici bir çalışma olmuştur. Bu çalışmada LGR5 tümör invazyonu ve anjiogenezis açısından değerlendirilmiş ve prognozu etkilediği anlaşılmıştır [90].

Başka bir çalışmada LGR5 kök hücrelerinin wnt yolağının aktivasyonu ile prostaik gland, over, meme glandı, kolonik gland ve saç folliküllerinin rejenerasyonunda rol oynadıkları gösterilmiştir. [91]

Saigusa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada CD44 ve LGR5 in kanser hücrelerinin % 50'den fazlasında eksprese olduğunu saptamışlardır. LGR5 ve CD44 arasında immunhistokimyasal açıdan pozitif bir korelasyon olduğu görülmüş olup, LGR5 iyi diferansiye tümörlerde, CD44 lenf nodu metastazi olmayan ve postoperatif evresi düşük olan tümörlerde ekspresyonları açısından istatistiksel açıdan daha anlamlı sonuçlar ve korelasyonlar ortaya çıkmıştır. Çalışma sonucunda CD44 ve LGR5 arasında anlamlı bir pozitif ilişki olduğu ve ekspresyon düzeylerinin kötü prognoz ile doğru orantılı olduğu izlenmiştir. Bu markırların tümör relapsını takip etmek için gerekli ve yararlı olabileceği görüşüne varılmıştır [92]. Bizim çalışmamızda da CD44 ve LGR5 gruplarında korele edildiğinde; hiperplastik polip de ($p=0.585, r=0,160$) düşük derecede pozitif ilişki, tubuler adenoma da ($p=0.192, r=-0,370$) düşük/orta derecede negatif ilişki, villoz adenoma da ($p=0.902, r=0,036$) düşük veya önemsiz derecede pozitif ilişki ve kolon adenokarsinomasında ($p=0.981, r=-0,007$) düşük veya önemsiz derecede negatif bir ilişki bulunmuş, fakat bu ilişkiler istatistiksel açıdan anlamlı görülmemiştir.

Çalışmamız sonucunda membranöz CD44 ekspresyonunun hiperplastik epitelde adenoma geçişte artış fakat kolon karsinomu'nda daha az boyanma gösterdiğini izledik, bu boyanma paterni CD44'ün adenomatöz değişimde erken tanı ve tedavi açısından önemli bir markır olabileceğini fakat karsinoma dönüşümde yararının pek olmayacağını akla getirmiştir. Nükleer LGR5 ekspresyonunu için aynı şeyi söylemek pek mümkün olmasa da hiperplastik epitelde, adenomda ve hatta karsinomda da benzer bir ekspresyon göstermiştir.

Yapılan birçok çalışma ve bizim çalışmamızda dahil olmak üzere CD44 ve LGR5'in kolorektal karsinogenezisteki rollerini araştırmak üzere yapılmış ve birçok farklı sonuca ulaşılmıştır. Kolorektal karsinogenezisteki rollerini ve erken tanı ve tedaviye kolaylık sağlayabilmesi açısından önemli birer markır olarak görebilmek için daha birçok farklı çalışmaya ihtiyacımız vardır.

SONUÇLAR:

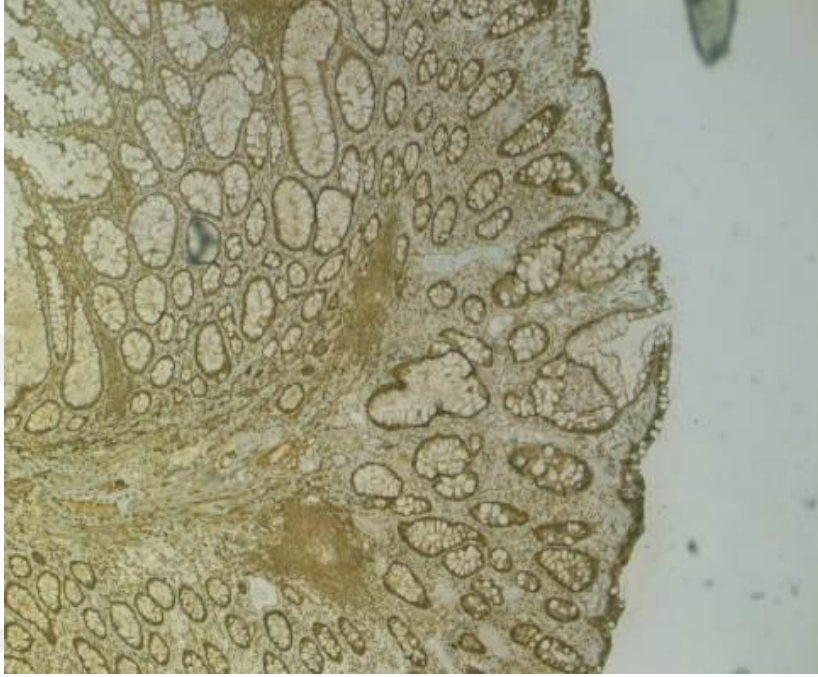
CD44 (standart varyantı) immün boyasında total HSKOR değerlerinde hiperplastik polip ile karşılaştırıldığında tübüler adenom ve villöz adenoma'da birbirine yakın bir oranda ve alınan tüm vakalarda pozitif membranöz boyanma, kolon adenokarsinomu'nda ise tübüler adenom ve villöz adenom'dan daha az oranda bir ekspresyon izlenmiştir. Hiperplastik polip ise en az boyanma gösteren grup olarak dikkati çekmiştir. Bu fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur.

LGR5 immün boyama çalışmamızda total HSKOR değerlerinde villöz adenom; hiperplastik polip ($p=0,038$), tübüler adenom ($p=0,008$) ve kolon adenokarsinomu'ndan ($p=0,034$) daha güçlü ve yaygın boyanma göstermiştir. Hiperplastik polip ve kolon adenokarsinomu benzer bir boyanma oranı (orta şiddette ve yaygın) gösterirken, tübüler adenomda daha hafif şiddette ve yaygın ekspresyon dikkati çekmiştir. Bu sonuçlar da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

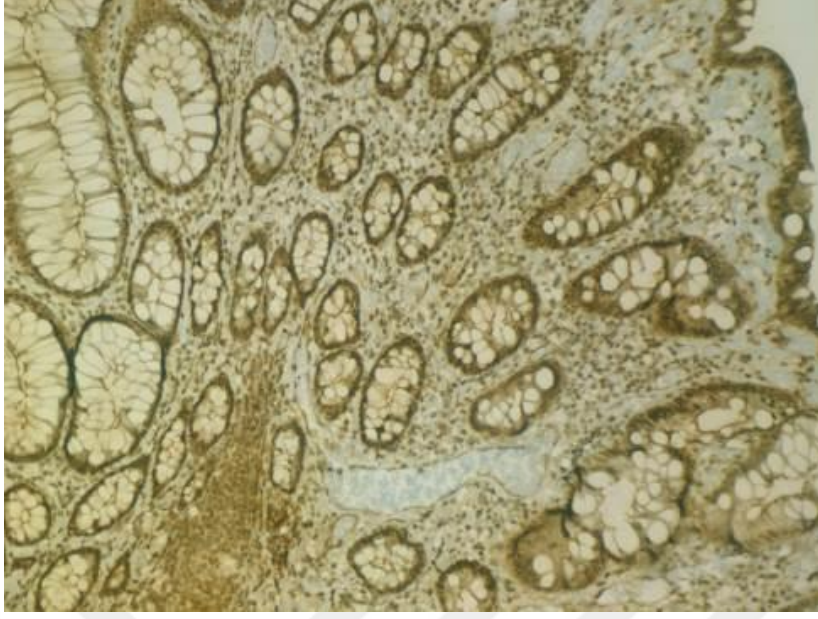
CD44 ve LGR5; gruplarda korele edildiğinde, hiperplastik polip de ($p=0.585$ $r=0,160$) düşük derecede pozitif ilişki, tubuler adenoma da ($p=0.192$ $r=-0,370$) düşük/orta derecede negatif ilişki, villoz adenoma da ($p=0.902$, $r=0,036$) düşük veya önemsiz derecede pozitif ilişki ve kolon adenokarsinomasında ($p=0.981$, $r=-0,007$) düşük veya önemsiz derecede negatif bir ilişki bulunmuş, fakat bu ilişkiler istatistiksel açıdan anlamlı görülmemiştir.

Bizim çalışmamızda ki bu sonuçlar CD44 ve LGR5 antikorlarının daha birçok farklı ileri çalışmada kullanılıp erken tanı ve tedavi sürecine katkılarının kesinleşmesi, klinik açıdan gerçekten etkili birer markır olup olamayacaklarının gösterilmesi gerekmektedir.

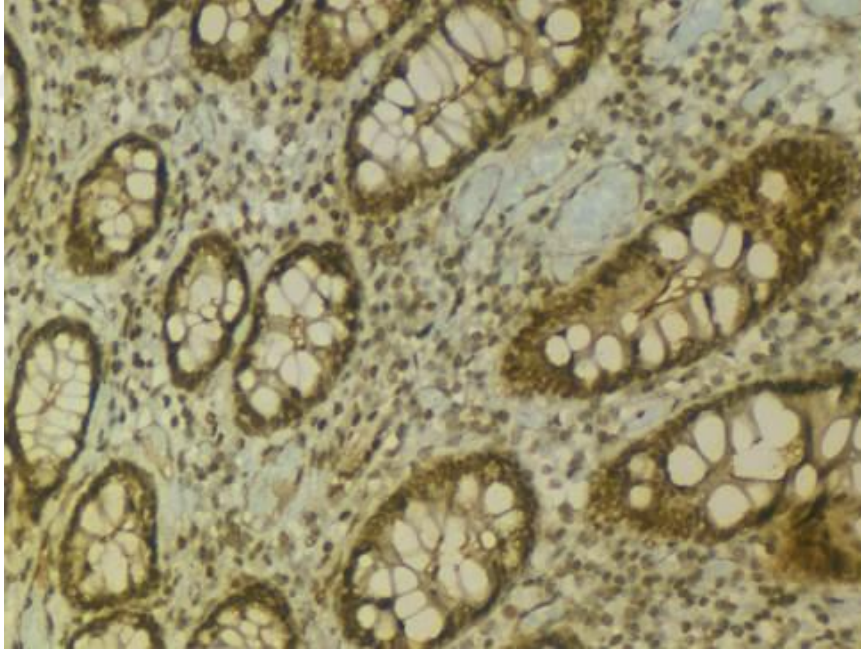
RESİMLER



RESİM 1. Hiperplastik Polip' de LGR5 pozitifliği (x40)



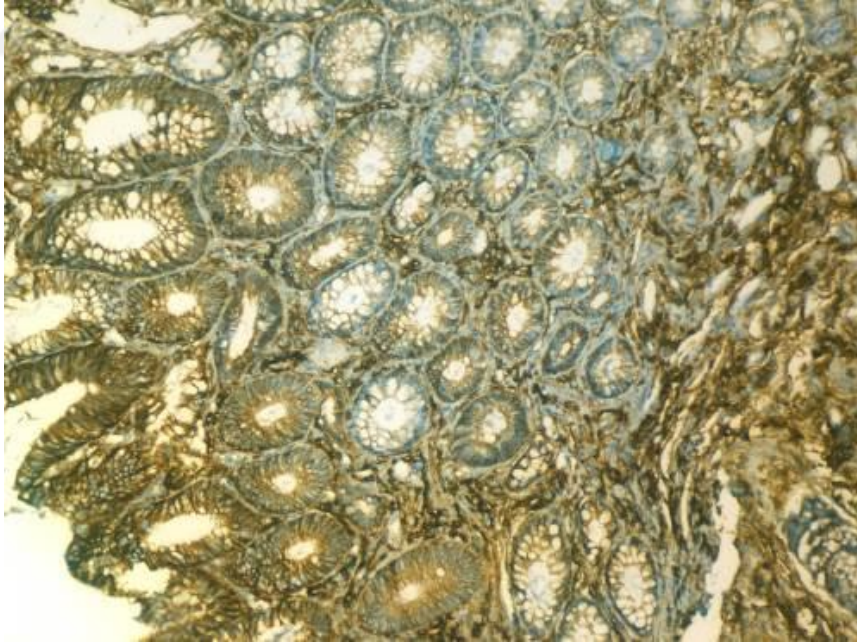
RESİM 2: Hiperplastik Polip' de LGR5 pozitifliği (x100)



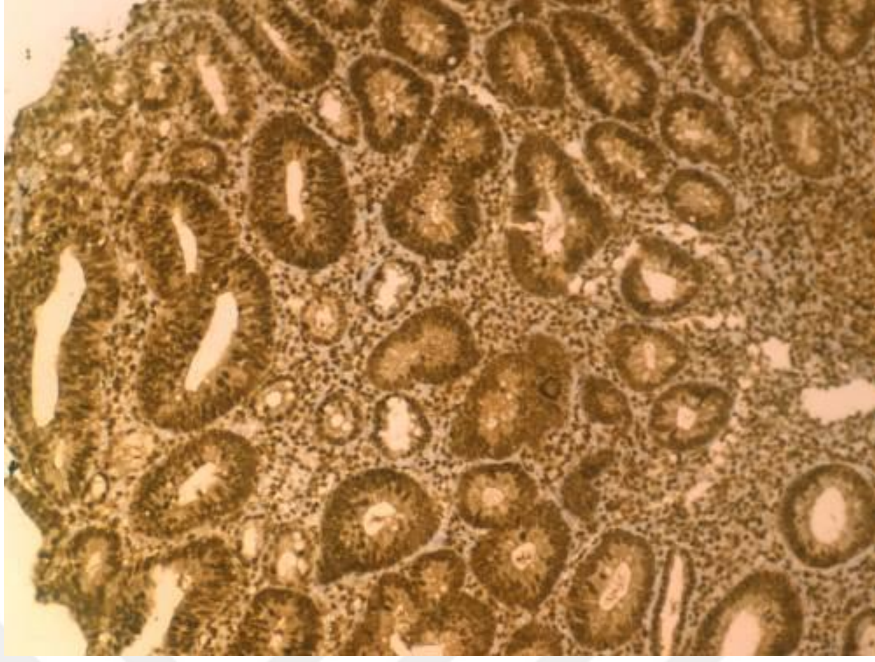
RESİM 3: Hiperplastik Polip' de LGR5 pozitifliği (X200)



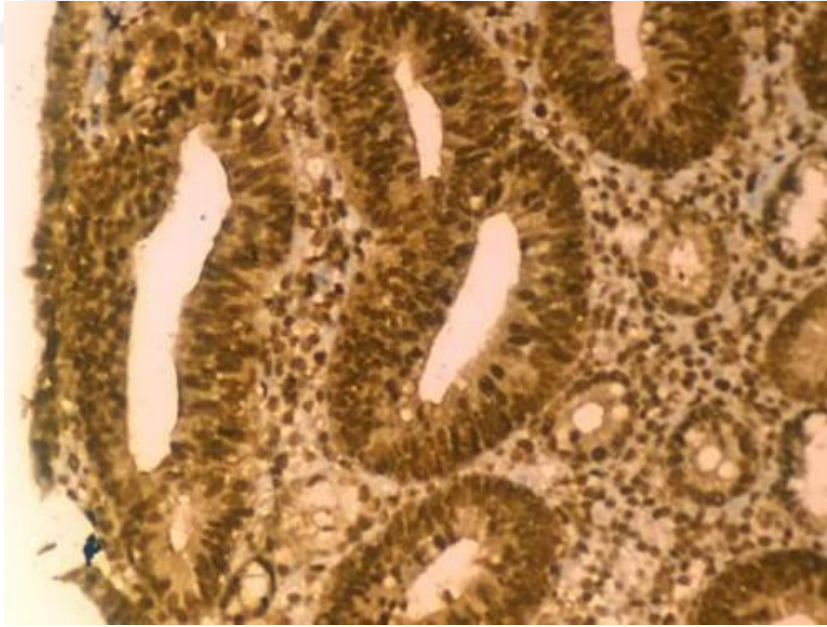
RESİM 4: Hiperplastik Polip' de CD44 pozitifliği (x40)



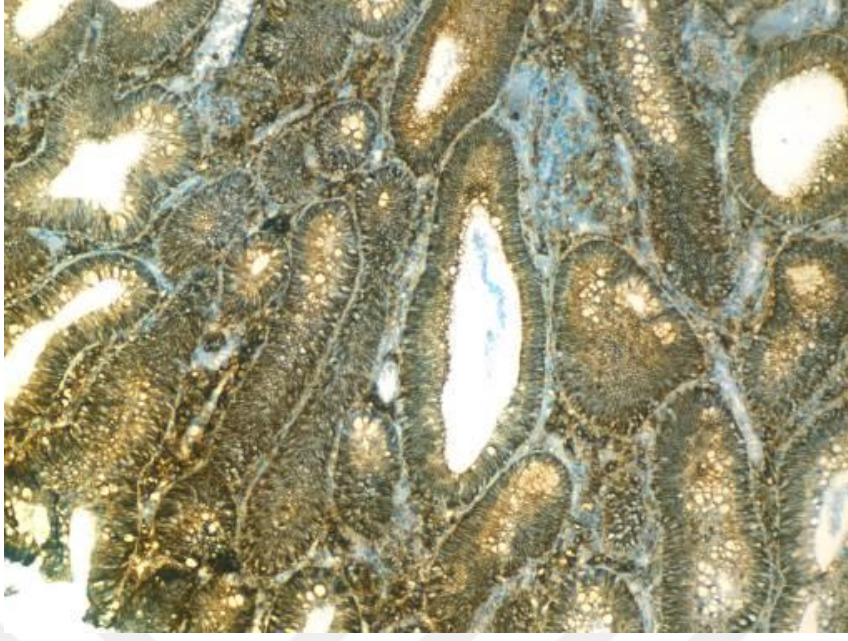
RESİM 5: Hiperplastik Polip' de CD44 pozitifliği (x100)



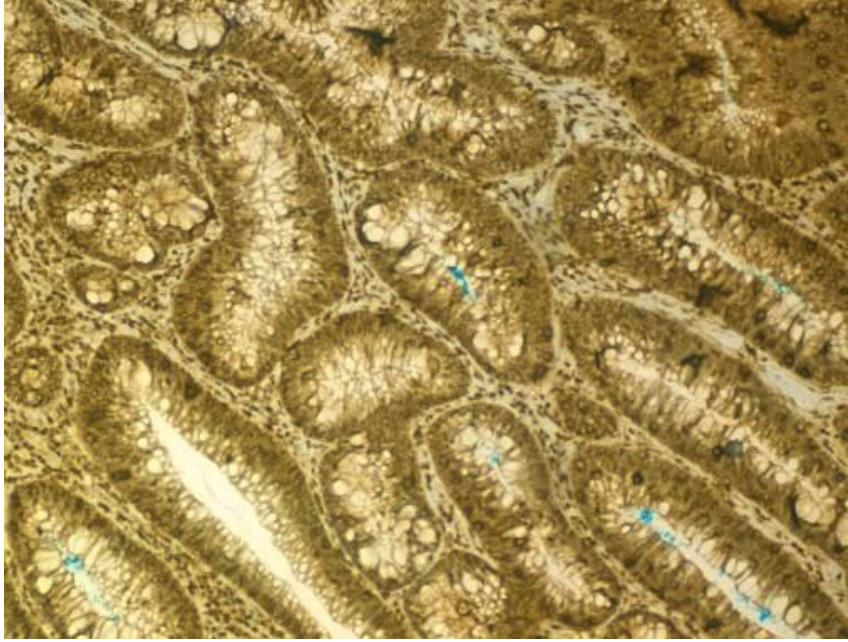
RESİM 6: Tübüler Adenom' da LGR5 pozitifliği (x100)



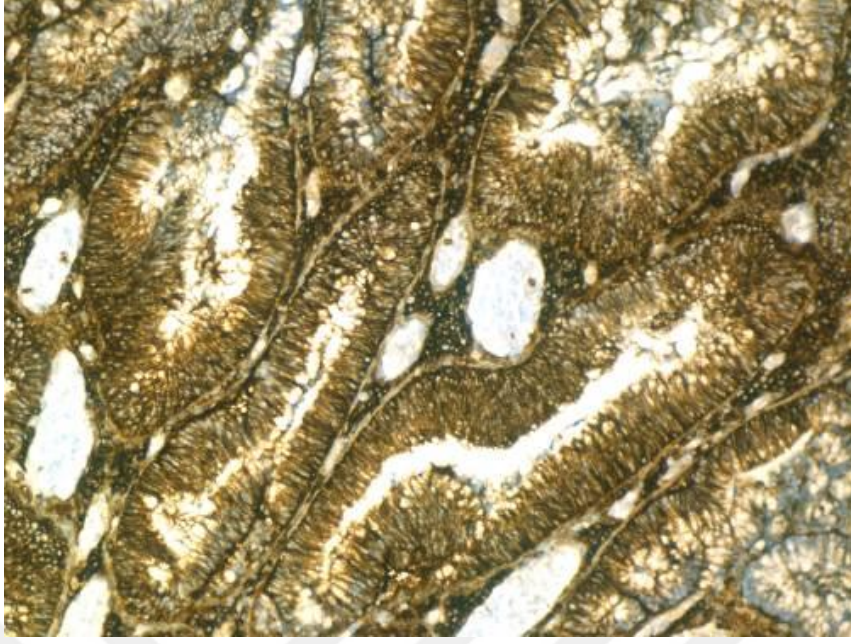
RESİM 7: Tübüler Adenom' da LGR5 pozitifliği (x200)



RESİM 8: Tübüler Adenom' da CD44 pozitifliği (x100)



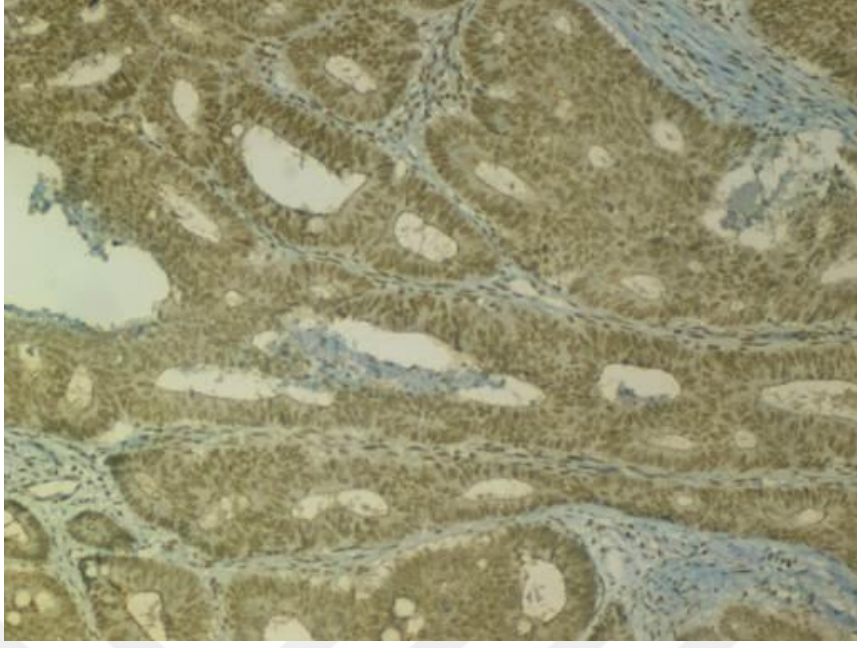
RESİM 9: Villöz Adenom' da LGR5 pozitifliği (x100)



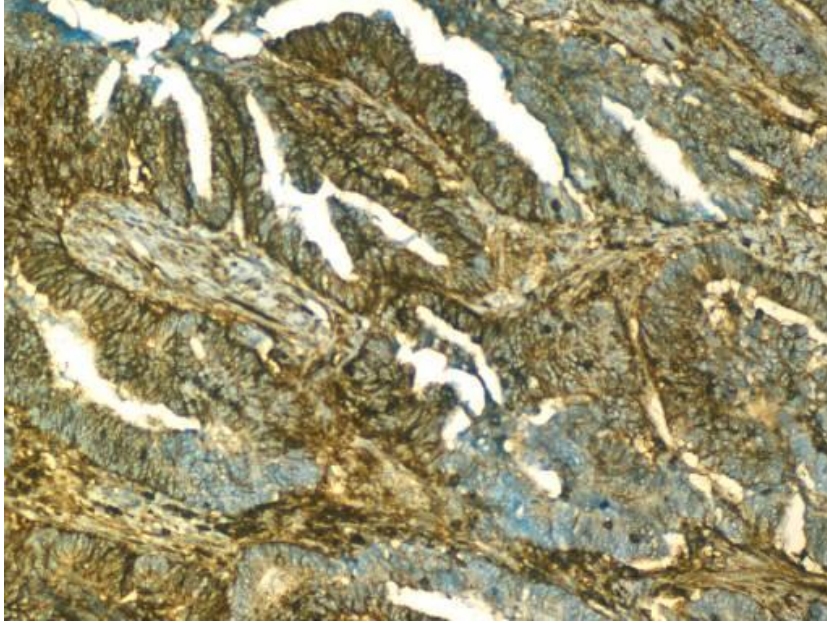
RESİM 10: Villöz Adenom' da CD44 pozitifliği (x100)



RESİM 10: Villöz Adenom' da CD44 pozitifliği (x40)



RESİM 11: Kolon Karsinomu'nda LGR5 pozitifliği (X100)



RESİM 12: Kolon Karsinomu'nda CD44 pozitifliği (X100)

KAYNAKLAR

1. ROSAI, J., *ROSAI AND ACKERMAN'S SURGICAL PATHOLOGY*. 10 ed. Gastrointestinal Trakt, Large Bowel, ed. J. ROSAI. 2011. 731-803.
2. Cooper HS. *Intestinal neoplasms*, in: Mills SE., Carter D., Reuter VE., Greenson JK., Oberman HA., Reuter V., Stoler MH.(eds). *Stenberg's Diagnostic Surgical Pathology*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 4th ed. 2004: vol 2, p34;1543-1601.
3. Feldman, M., *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. 8 ed. 2006. 57-67.
4. Ponz De Leon M. Di Gregorio C. *Pathology of Colorectal Cancer Digestive and Liver Disease 2001*; 33: 372-388.
5. EŞREFOĞLU, M., *GENEL HİSTOLOJİ*. 2 ed. 2009. 103.
6. Dahl J., Greenson JK. *Colon* In: Mills SE. (eds) *Histology for Pathologists*. Lippincott Williams & Wilkins, 3 rd ed. 2007: p627-648.
7. Liu C., Crawford JM. *The Gastrointestinal Tract*. in: Kumar V, Abbas AK, Fausto N (eds). *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. Elsevier Saunders, Philadelphia, 7th ed. 2005 : p856-870.
8. FENEGOLİO, C.M., *GASTROINTESTINAL PATHOLOGY*. 3 ed. 2007. 899-1020.
9. Stenberg, S.S., *Diagnostic Surgical Pathology*. 5 ed, ed. S.E. Mills. Vol. 2. 2009. 1543-1603.
10. Neugut, A.I., et al., *Coronary artery disease and colorectal neoplasia*. *Diseases of the colon & rectum*, 1995. **38**(8): p. 873-877.
11. Clark, J.C., et al., *Prevalence of polyps in an autopsy series from areas with varying incidence of large-bowel cancer*. *International journal of cancer*, 1985. **36**(2): p. 179-186.
12. Johannsen, L., O. Momsen, and N. Jacobsen, *Polyps of the large intestine in Aarhus, Denmark*. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 1989. **24**(7): p. 799-806.
13. Arminski, T. and D. McLean, *Incidence and distribution of adenomatous polyps of the colon and rectum based on 1,000 autopsy examinations*. *Diseases of the Colon & Rectum*, 1964. **7**(4): p. 249-261.
14. Rickert, R.R., et al., *Adenomatous lesions of the large bowel: an autopsy survey*. *Cancer*, 1979. **43**(5): p. 1847-1857.
15. Winawer, S., et al., *The National Polyp Study: overview of program and preliminary report of patient and polyp characteristics*. *Progress in clinical and biological research*, 1987. **279**: p. 35-49.
16. Neugut, A.I., J.S. Jacobson, and I. De Vivo, *Epidemiology of colorectal adenomatous polyps*. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 1993. **2**(2): p. 159-176.
17. Winawer, S., et al., *Risk and surveillance of individuals with colorectal polyps*. *Who Collaborating Centre for the Prevention of Colorectal Cancer*. *Bulletin of the World Health Organization*, 1990. **68**(6): p. 789.
18. O'Brien, M.J., et al., *The national polyp study*. *Gastroenterology*, 1990. **98**(2): p. 371-379.
19. Tripp, M.R., et al., *Synchronous neoplasms in patients with diminutive colorectal adenomas*. *Cancer*, 1987. **60**(7): p. 1599-1603.
20. Stulc, J.P., et al., *Colorectal villous and tubulovillous adenomas equal to or greater than four centimeters*. *Annals of surgery*, 1988. **207**(1): p. 65.

21. Lescher, T.C., et al., *Histopathology of the larger colonic polyp*. Diseases of the Colon & Rectum, 1967. **10**(2): p. 118-124.
22. Wolber, R.A. and D.A. Owen, *Flat adenomas of the colon*. Human pathology, 1991. **22**(1): p. 70-74.
23. Hamilton, S., *Flat adenomas: what you can't see can hurt you*. Radiology, 1993. **187**(2): p. 309-310.
24. Konishi, F. and B. Morson, *Pathology of colorectal adenomas: a colonoscopic survey*. Journal of clinical pathology, 1982. **35**(8): p. 830-841.
25. Konishi, F., et al., *Histopathologic comparison of colorectal adenomas in English and Japanese patients*. Diseases of the colon & rectum, 1984. **27**(8): p. 515-518.
26. Kubota, O., I. Kino, and S.i. Nakamura, *A morphometrical analysis of minute depressed adenomas in familial polyposis coli*. Pathology international, 1994. **44**(3): p. 200-204.
27. Richter, H., et al., *Distinct chromosomal imbalances in nonpolypoid and polypoid colorectal adenomas indicate different genetic pathways in the development of colorectal neoplasms*. The American journal of pathology, 2003. **163**(1): p. 287-294.
28. Kumar, V., *Robbins Basic Pathology*. 9 ed. Gastrointestinal Tract. 2012. 570-603.
29. Fung, C. and H. Goldman, *The incidence and significance of villous change in adenomatous polyps*. American journal of clinical pathology, 1970. **53**(1): p. 21-25.
30. Balázs, M., *Electron-microscopic study of the villous adenoma of the colon*. Virchows Archiv A, 1980. **387**(2): p. 193-205.
31. Ioachim, N.J., W.E. Delaney, and A. Madrazo, *Villous adenoma of the colon and rectum: an ultrastructural study*. Cancer, 1974. **34**(3): p. 586-596.
32. Bansal, M., et al., *Are metaplasias in colorectal adenomas truly metaplasias?* The American journal of pathology, 1984. **115**(2): p. 253.
33. Fulcheri, E., et al., *Distribution and significance of the smooth muscle component in polyps of the large intestine*. Human pathology, 1988. **19**(8): p. 922-927.
34. Skinner, S.A., G.M. Frydman, and P.E. O'Brien, *Microvascular structure of benign and malignant tumors of the colon in humans*. Digestive diseases and sciences, 1995. **40**(2): p. 373-384.
35. Longacre, T.A. and C.M. Fenoglio-Preiser, *Mixed Hyperplastic Adenomatous Polyps/Serrated Adenomas: A Distinct Form of Colorectal Neoplasia*. The American journal of surgical pathology, 1990. **14**(6): p. 524-537.
36. Higuchi, T., K. Sugihara, and J. Jass, *Demographic and pathological characteristics of serrated polyps of colorectum*. Histopathology, 2005. **47**(1): p. 32-40.
37. Dirschmid, K., et al., *Epithelial misplacement after biopsy of colorectal adenomas*. The American journal of surgical pathology, 1993. **17**(12): p. 1262-1265.
38. Hawes, R.H., *New staging techniques. Endoscopic ultrasound*. Cancer, 1993. **71**(S12): p. 4207-4213.
39. Leslie, A., et al., *The colorectal adenoma–carcinoma sequence*. British Journal of Surgery, 2002. **89**(7): p. 845-860.
40. Fodde, R., *The APC gene in colorectal cancer*. European journal of cancer, 2002. **38**(7): p. 867-871.
41. Barbacid, M., *Ras genes*. Annual review of biochemistry, 1987. **56**(1): p. 779-827.
42. Bos, J.L., *Ras oncogenes in human cancer: a review*. Cancer research, 1989. **49**(17): p. 4682-4689.
43. Reich, N.C. and A.J. Levine, *Growth regulation of a cellular tumour antigen, p53, in nontransformed cells*. 1984.
44. Clarke, A., et al., *Thymocyte apoptosis induced by p53-dependent and independent pathways*. Nature, 1993. **362**(6423): p. 849-852.
45. Levine, A.J., *The tumor suppressor genes*. Annual review of biochemistry, 1993. **62**(1): p. 623-651.

46. Lowe, S.W., et al., *p53 is required for radiation-induced apoptosis in mouse thymocytes*. *Nature*, 1993. **362**(6423): p. 847-849.
47. Shaw, P., et al., *Induction of apoptosis by wild-type p53 in a human colon tumor-derived cell line*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1992. **89**(10): p. 4495-4499.
48. Parkin, D.M., et al., *Global cancer statistics, 2002*. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2005. **55**(2): p. 74-108.
49. Parkin, D., et al., *Cancer incidence in five continents*. Vol. 1. 2005: Diamond Pocket Books (P) Ltd.
50. Shibuya, K., et al., *Global and regional estimates of cancer mortality and incidence by site: II. Results for the global burden of disease 2000*. *BMC cancer*, 2002. **2**(1): p. 37.
51. Parkin, D.M., *International variation*. *Oncogene*, 2004. **23**(38): p. 6329-6340.
52. Fenoglio-Preiser CM, Perzin K, Pascal RR: *Tumors of The Large and Small Intestine. AFIP Fascicle, 2nd Series. Washington, DC: AFIP, 1990*.
53. McMICHAEL, A.J. and J.D. POTTER, *Do intrinsic sex differences in lower alimentary tract physiology influence the sex-specific risks of bowel cancer and other biliary and intestinal diseases?* *American journal of epidemiology*, 1983. **118**(5): p. 620-627.
54. Vobecky, J., C. Leduc, and G. Devroede, *Sex differences in the changing anatomic distribution of colorectal carcinoma*. *Cancer*, 1984. **54**(12): p. 3065-3069.
55. Andryjowicz, E., et al., *Adenocarcinoma in a cecal neovagina—Complication of irradiation: Report of a case and review of literature*. *Gynecologic oncology*, 1985. **21**(2): p. 235-239.
56. Lee, T.-K., et al., *Multiple primary carcinomas of the colon and associated extracolonic primary malignant tumors*. *Annals of surgery*, 1982. **195**(4): p. 501.
57. Lasser, A., *Synchronous primary adenocarcinomas of the colon and rectum*. *Diseases of the Colon & Rectum*, 1978. **21**(1): p. 20-22.
58. Qizilbash, A., *Pathologic studies in colorectal cancer. A guide to the surgical pathology examination of colorectal specimens and review of features of prognostic significance*. *Pathology annual*, 1981. **17**: p. 1-46.
59. Thomas, G., et al., *Observer variation in the histological grading of rectal carcinoma*. *Journal of clinical pathology*, 1983. **36**(4): p. 385-391.
60. Shousha, S., *Paneth cell-rich papillary adenocarcinoma and a mucoid adenocarcinoma occurring synchronously in colon: a light and electron microscopic study*. *Histopathology*, 1979. **3**(6): p. 489-501.
61. Gibbs, N., *Incidence and significance of argentaffin and Paneth cells in some tumours of the large intestine*. *Journal of clinical pathology*, 1967. **20**(6): p. 826-831.
62. Smith Jr, D.M. and R.C. Haggitt, *The prevalence and prognostic significance of argyrophil cells in colorectal carcinomas*. *The American journal of surgical pathology*, 1984. **8**(2): p. 123-128.
63. Pagani, A., et al., *Chromogranin gene expressions in colorectal adenocarcinomas*. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 1995. **8**(6): p. 626-632.
64. Jass, J., *Lymphocytic infiltration and survival in rectal cancer*. *Journal of clinical pathology*, 1986. **39**(6): p. 585-589.
65. Jass, J., et al., *The grading of rectal cancer: historical perspectives and a multivariate analysis of 447 cases*. *Histopathology*, 1986. **10**(5): p. 437-459.
66. Graham, D. and H. Appelman, *Crohn's-like lymphoid reaction and colorectal carcinoma: a potential histologic prognosticator*. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 1990. **3**(3): p. 332-335.

67. Minamoto, T., et al., *Superficial-type adenomas and adenocarcinomas of the colon and rectum: a comparative morphological study*. GASTROENTEROLOGY-BALTIMORE THEN PHILADELPHIA-, 1994. **106**: p. 1436-1436.
68. Symonds, D.A. and A.L. Vickery, *Mucinous carcinoma of the colon and rectum*. Cancer, 1976. **37**(4): p. 1891-1900.
69. Mills, S.E. and M.S. Allen, *Colorectal carcinoma in the first three decades of life*. The American journal of surgical pathology, 1979. **3**(5): p. 443-448.
70. Denoix, P., *French Ministry of Public Health National Institute of Hygiene*. 1954, Monograph.
71. Beahrs, O.H., et al., *Manual for staging of cancer*. American Journal of Clinical Oncology, 1988. **11**(6): p. 686.
72. Kang, H., et al., *A 10-year outcomes evaluation of mucinous and signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum*. Diseases of the colon & rectum, 2005. **48**(6): p. 1161-1168.
73. Chen, Q., et al., *Prognostic value of LGR5 in colorectal cancer: a meta-analysis*. 2014.
74. Kumar, K.K., A.W. Burgess, and J.M. Gulbis, *Structure and function of LGR5: An enigmatic G-protein coupled receptor marking stem cells*. Protein Science, 2014. **23**(5): p. 551-565.
75. Kimura, Y., et al., *CD44variant exon 9 plays an important role in colon cancer initiating cells*. Oncotarget, 2013. **4**(5): p. 785.
76. Cho, S.H., et al., *CD44 enhances the epithelial-mesenchymal transition in association with colon cancer invasion*. International journal of oncology, 2012. **41**(1): p. 211-218.
77. Rudzki, Z. and S. Jothy, *CD44 and the adhesion of neoplastic cells*. Molecular Pathology, 1997. **50**(2): p. 57.
78. Vogelstein, B., et al., *Genetic alterations during colorectal-tumor development*. New England Journal of Medicine, 1988. **319**(9): p. 525-532.
79. Li, J.-Q., et al., *Loss of p57KIP2 is associated with colorectal carcinogenesis*. International journal of oncology, 2003. **23**(6): p. 1537-1543.
80. Basakran, N.S., *CD44 as a potential diagnostic tumor marker*. Saudi medical journal, 2015. **36**(3): p. 273.
81. Carr, N.J., T.S. Emory, and L.H. Sobin, *Epithelial neoplasms of the appendix and colorectum: An analysis of cell proliferation, apoptosis, and expression of p53, CD44, and bcl-2*. Archives of pathology & laboratory medicine, 2002. **126**(7): p. 837.
82. Korski, K., A. Malicka-Durczak, and J. Breborowicz, *Expression of stem cell marker CD44 in prostate cancer biopsies predicts cancer grade in radical prostatectomy specimens*. Pol J Pathol, 2014. **65**(4): p. 291-5.
83. Jing, F., et al., *Colon cancer stem cell markers CD44 and CD133 in patients with colorectal cancer and synchronous hepatic metastases*. International journal of oncology, 2015. **46**(4): p. 1582-1588.
84. Neumayer, R., et al., *CD44 expression in benign and malignant colorectal polyps*. Diseases of the colon & rectum, 1999. **42**(1): p. 50-55.
85. Chai, N., et al., *[Lgr5 and CD44 expressions in different types of intestinal polyps and colorectal cancer]*. Nan fang yi ke da xue xue bao= Journal of Southern Medical University, 2013. **33**(7): p. 972-976.
86. Dame, M.K., et al., *Human colonic crypts in culture: segregation of immunochemical markers in normal versus adenoma-derived*. Laboratory Investigation, 2014. **94**(2): p. 222-234.
87. Baker, A.-M., et al., *Characterization of LGR5 stem cells in colorectal adenomas and carcinomas*. Scientific reports, 2015. **5**.

88. Kasdagly, M., et al., *Colon carcinogenesis: Influence of Western diet-induced obesity and targeting stem cells using dietary bioactive compounds*. Nutrition, 2014. **30**(11): p. 1242-1256.
89. Flanagan, D.J., et al., *Frizzled7 Functions as a Wnt Receptor in Intestinal Epithelial Lgr5+ Stem Cells*. Stem cell reports, 2015. **4**(5): p. 759-767.
90. Gao, F., et al., *The role of LGR5 and ALDH1A1 in non-small cell lung cancer: Cancer progression and prognosis*. Biochemical and biophysical research communications, 2015. **462**(2): p. 91-98.
91. Ogonuki, N., et al., *Stem Cell Reports*.
92. Saigusa, S., et al., *Clinical significance of LGR5 and CD44 expression in locally advanced rectal cancer after preoperative chemoradiotherapy*. International journal of oncology, 2012. **41**(5): p. 1643-1652.

