

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Kırıkkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Kütüphanesi

KOLON ADENOMALARINDA VE
ADENOKARSİNOMALARINDA
GALECTİN-3 VE Ki-67
EKSPRESYONLARI VE ÖNEMİ

Dr. Ebru MUTLU

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Pınar ATASOY

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kütüphanesi
Demirbaş/Kayıt no: 777
Tasnif no: TNE/13/PM/37


KIRIKKALE

2008

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: 01/05/2008



Doç. Dr. Önder BOZDOĞAN
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji AD
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Pınar ATASOY
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji AD
Üye



Yrd. Doç. Dr. Şebnem KÜPANA AYVA
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji AD
Üye



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmalarım süresince her konuda yardımını yanımda hissettiğim, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli tez danışmanım Doç. Dr. Pınar Atasoy'a,

Bizimle mesleki bilgi ve tecrübelerini paylaşan, patolojinin temel inceliklerini gösteren, her türlü imkanı ve çalışma ortamını bize sağlamak için çalışan, meslek hayatına hazırlanmamda katkısını asla unutmayacağım Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Önder Bozdoğan'a,

Her zaman yanımda olan ve desteğini hiç esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini tükenmez sabır ve özenle aktaran değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Şebnem Ayva'ya teşekkürlerimi sunarım.

Arkadaşlık ve dostluğun ön planda olduğu ve uyum içinde çalıştığımız asistan arkadaşlarım Dr. Ayşenur Akatlı'ya, Dr. Sabahat Büyükturan'a ve Dr. Nurdan Tatar'a teşekkür ederim.

Teknik konulardaki yardım ve destekleri için Uğur Esen'e, Selahattin Gönaylı'ya ve Özlem Çakıroğlu'na teşekkür ederim.

Bugünlere ulaşmamda çok büyük emeği olan, her zaman yanımda olan ve beni destekleyen aileme teşekkür ederim.

Dr. Ebru MUTLU

ÖZET

Mutlu E., Kolon Adenomalarında ve Adenokarsinomalarında Galectin-3 ve Ki-67 Ekspresyonları, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, KIRIKKALE, 2008.

Amaç: Kolorektal karsinomaların büyük çoğunluğu adenokarsinomalardan gelişir. Adenokarsinom sekansı kolorektal karsinogenezi anlamamıza yardımcı olan tipik bir modeldir. Bu çalışmanın amacı normal kolon mukozasında, kolorektal adenoma ve adenokarsinomalarda nükleer ve sitoplazmik galectin-3 ve Ki-67 ekspresyon paternlerinin ve aralarındaki ilişkinin incelenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 13 adet normal kolon mukozasında, 33 adet kolorektal adenoma ve 25 adet kolorektal adenokarsinoma vakasında Ki-67 ve nükleer ve sitoplazmik galectin-3 ekspresyonları immünohistokimyasal olarak değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmamızda Ki-67 indeksinin normalden adenoma ($p=0,001$) ve adenomadan adenokarsinoma ($p=0,001$) ilerledikçe artış gösterdiğini izledik. Ayrıca Grade 2 adenokarsinomalarda grade 1 adenokarsinomalara oranla Ki-67 indeksinin belirgin artış ($p=0,013$) gösterdiğini gözledik. Sitoplazmik galectin-3 H-SKOR değeri normalden adenoma ($p=0,006$) ve adenomadan adenokarsinoma ($p=0,001$) ilerledikçe artış gösteriyordu. Nükleer galectin-3 H-SKOR değerinin ise yalnızca normalden adenoma geçişte ($p=0,04$) anlamlı fark gösterdiğini izledik. Grade 1 ve grade 2 adenokarsinoma arasında nükleer yada sitoplazmik galectin-3 H-SKOR değerleri açısından anlamlı fark saptamadık. Adenoma grubunda Ki-67 indeksi ile hem sitoplazmik ($p=0,033$) hem de nükleer ($p=0,01$) galectin-3 H-SKOR değerleri arasında korelasyon gözlerken, normal ve adenokarsinoma gruplarında ise Ki-67 indeksi ile nükleer veya sitoplazmik galectin-3 H-SKOR değerleri arasında korelasyon izlemedik.

Sonuç: Sonuçlarımız artmış Ki-67 ekspresyonunun kolorektal karsinogenezle ilişkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca prognostik bir parametre olan histolojik diferansiasyon ile ilişkili bulduğumuz Ki-67 indeksinin prognoz hakkında bilgi verebileceğini düşünmekteyiz. Nükleer galectin-3'ün yalnızca adenomatöz değişikliğin erken evrelerinde etkili olduğu gözlenirken, sitoplazmik galectin-3'ün ise hem adenomatöz transformasyon hem de malignite gelişiminde etkili olduğu izlendi. Bundan başka galectin-3'ün adenomatöz değişimde proliferatif aktiviteyi artırarak etki ettiğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Kolorektal adenoma, kolorektal adenokarsinoma, karsinogenez, galectin-3, Ki-67

ABSTRACT

Mutlu E, Galectin-3 and Ki-67 Expression in Colon Adenomas and Adenocarcinomas. University of KIRIKKALE, Faculty of Medicine, Department of Pathology, Specialization Thesis, KIRIKKALE, 2008.

Aim: The large majority of colorectal carcinomas develop from adenomas. The adenoma-carcinoma sequence is a typical model that helps us to understand the human carcinogenesis. The aim of this study is to examine the distribution and interrelation between the expression patterns of galectin-3 and Ki-67 in normal, adenomatous and carcinomatous areas of the colorectal tissue.

Materials and Methods: We analyzed the immunohistochemical expression of Ki-67 and both nuclear and cytoplasmic expression of galectin-3 in 13 samples of normal mucosae, 33 colorectal adenomas and 25 adenocarcinomas.

Results : Ki-67 index increased significantly from normal to adenoma ($p=0,001$) and from adenoma to adenocarcinoma ($p=0,001$). Grade 2 adenocarcinomas showed increased Ki-67 index compared with grade 1 adenocarcinomas ($p=0,013$). Cytoplasmic galectin-3 H-SCOREs increased as the neoplastic progression occurred; cytoplasmic expression increased significantly from normal to adenoma ($p=0,006$) and from adenoma to adenocarcinoma ($p=0,001$). Adenomas had significantly higher nuclear galectin-3 H-SCOREs than the normal mucosae ($p=0,04$), but we did not observe any significant differences between adenomas and adenocarcinomas. We did not find any significant difference in nuclear and cytoplasmic galectin-3 H-SCORE between grade 1 and grade 2 adenocarcinomas. Though Ki-67 index correlated with nuclear ($p=0,01$) and cytoplasmic ($p=0,033$) galectin-3 H-SCOREs in adenomas, but there was no correlation between Ki-67 and galectin-3 (neither nuclear nor cytoplasmic) in normal mucosae and adenocarcinomas.

Conclusion: These results suggest that up-regulated expression of Ki-67 is involved in colorectal carcinogenesis. Furthermore Ki-67 index can provide us useful prognostic information by its association with histological differentiation. While nuclear galectin-3 is important only in the early stages of adenomatous transformation, cytoplasmic galectin-3 is related with the adenomatous transformation and malignant progression. In addition we think that galectin-3 plays an important role in adenomatous transformation by stimulating proliferative activity.

Key words: Colorectal adenoma, colorectal adenocarcinoma, carcinogenesis, galectin-3, Ki-

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xii
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1.Kolonun Anatomi ve Histolojisi	3
2.2.Kolorektal Adenoma	6
2.3.Kolorektal Karsinogenez	8
2.3.1.APC/β Katenin Yolu	9
2.3.2.Mikrosatellit Dengesizliği	11
2.4.Kolorektal Karsinomalar	12
2.4.1.Genel Özellikleri	12
2.4.2.Lokalizasyon	14
2.4.3. Makroskopik Bulgular	14
2.4.4. Histopatolojik Bulgular	15
2.4.5. Diğer Histopatolojik Tipler	18
2.4.6 Kolorektal Adenokarsinomalarda Derecelendirme	19
2.4.7 Kolorektal Adenokarsinomlarda Evreleme	19
2.4.8 Yayılım ve Metastaz	22
2.4.9 Tedavi	23
2.4.10 Prognoz	23
2.5 Ki-67	26
2.6 Galectin-3	26
GEREÇ ve YÖNTEM	
3.1.Olgü Seçimi	29
3.2.İmmunohistokimya	29

SİMGELER ve KISALTMALAR

AJCC	: American Joint Committe on Cancer
APC	: Adenomatosis Poliposis Koli
β -Katenin	: β eta Katenin
CEA	: Karsinoembriyonik Antijen
CRD	: Carboydrate recognition domain
DAB	: Diaminobenzidin
DCC	: Deleted in colon carcinoma
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPC4	: Deleted in pankreatic carcinoma
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
H-E	: Hematoksilen-Eozin
IL-5	: İnterlökin-5
LSIL	: Düşük Gradeli Skuamöz İntraepitelyal Lezyon
mRNA	: "messenger" ribonükleik asit
PBS	: Fosfat tampon solüsyonu
PCNA	: Proliferating cell nuclear antigen
RB	: Retinoblastoma
RCF	: Replikasyon faktör C
TCF	: T hücre faktörü
TGF β	: Transforming growth faktör beta
TNM	: Tümör, Nod, Metastaz
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

RESİMLER

Resim No:	Sayfa No
Resim 3.1: Normal kolon mukozasında nükleer Ki-67 pozitifliği (x200)	32
Resim 3.2: Normal kolon mukozasında nükleer Ki-67 pozitifliği (x200)	32
Resim 3.3: Tübüler Adenomada Ki-67 pozitifliği (x200)	33
Resim 3.4: Villöz adenomada Ki-67 pozitifliği (x100)	33
Resim 3.5: Grade 1 adenokarsinomada Ki-67 pozitifliği (x400)	34
Resim 3.6: Grade 2 Adenokarsinomada Ki-67 pozitifliği (x400)	34
Resim 3.7: Normal kolon mukozasında nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x200)	37
Resim 3.8: Normal kolon mukozasında nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x200)	37
Resim 3.9: Tübüler adenomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x100)	38
Resim 3.10: Tübüler adenomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x100)	38
Resim 3.11: Tübülovillöz adenomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x100)	39
Resim 3.12: Villöz adenomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x200)	39

Resim No:	Sayfa No
Resim 3.13: Grade 1 adenokarsinomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x200)	40
Resim 3.14: Grade 1 adenokarsinomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x400)	40
Resim 3.15: Grade 2 adenokarsinomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x200)	41
Resim 3.16: Grade 2 adenokarsinomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x200)	41

TABLOLAR

Tablo No:	Sayfa No
Tablo 2.1: Kolorektal Karsinomlarda Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Sınıflandırması	16
Tablo 2.2: Dukes Evreleme Sistemi	20
Tablo 2.3: Astler-Coller Evreleme Sistemi	20
Tablo 2.4: Kolorektal Tümörlerin TNM Evreleme Parametreleri	21
Tablo 2.5: Kolorektal Tümörlerin TNM Evrelemesi ve Gruplar	22
Tablo 4.1: Tüm gruplarda Ki-67 indeksi, Galectin-3 nükleer, Galectin-3 sitoplazmik H-SKOR değerleri ortalamaları	43
Tablo 4.2: Normal, adenoma ve adenokarsinoma grupları ile parametrelerin ortalamaları,	43
Tablo 4.3: Tübüler ve villöz adenoma grupları ile parametrelerin ortalamaları	44
Tablo 4.4: Grade 1 adenokarsinoma ve grade 2 adenokarsinoma grupları ile parametrelerin ortalamaları	45

GİRİŞ

Kolorektal adenomalar, küçük, genellikle sapsız lezyonlardan büyük, sesil neoplazilere dek değişen özelliklerde intraepitelyal neoplazilerdir (1,2,3). Tüm adenomatöz lezyonlar, düşük dereceden yüksek dereceye değişen epitelyal proliferatif displaziler sonucunda meydana gelir. Kansere dönüşebilme potansiyelleri olduğu için klinik olarak önemlidirler. Tüm adenomaların yaklaşık % 5'inde invaziv adenokarsinoma bulunur, fakat bu ilişki daha çok büyüklükle bağlantılıdır (4). Maksimum çap, bir adenomun karsinoma içerme riskini belirleyen ana faktör olmakla birlikte büyüklük, histolojik yapısı ve içerdiği epitel displazisinin derecesi malignite riskini belirlemede birbirine bağlı olan üç özelliktir (2).

Kolorektal karsinomaların çok büyük kısmının öncül lezyon olan adenomalardan geliştiği kabul edilmektedir. Adenomadan karsinoma gelişimine eşlik eden çok sayıda genetik değişiklik vardır (5). Günümüzde kolon kanseri gelişiminde birbirinden farklı iki yol olduğu bilinmektedir. Her iki yolda da birden fazla mutasyon aşamalı olarak birikmektedir. Birinci yol APC/ β -katenin yolu olarak adlandırılır ve tümör baskılayıcı genlerde mutasyonların aşamalı olarak birikimi ile sonuçlanan kromozomal dengesizlik ile karakterizedir. İkinci yol "mikrosatellit dengesizliği yolu" olarak da adlandırılır; "DNA mismatch onarım gen" lerinde genetik lezyonların varlığı ile karakterizedir (2,3).

Kolon ve rektumda görülen kanserlerin % 98'ini adenokarsinomalar oluşturur (2). Kolorektal adenokarsinomalar malign hastalıkların en sık gözlenen formlarından birisidir (5). Gastrointestinal kanalın en sık gözlenen ve en iyi kür sağlanabilen tümörüdür. Bu tümörlerde mikroskopik tip, grade, invazyon derinliği ve metastaz prognozu belirleyen önemli parametreler olarak kabul edilmektedir (1).

Beta galaktozid bağlayıcı protein ailesinin bir üyesi olan galectin-3 intrasellüler glikoproteinler, hücre yüzey molekülleri ve ekstrasellüler matriks proteinleri ile etkileşime giren intrasellüler ve ekstrasellüler bir lektindir (6). Galectinler sitozolde sentezlenir fakat nükleusta veya hücre dışında da bulunabilirler. Galectin-3'ün kanser oluşumundaki etkisi hücre-hücre adezyonu, hücre-matriks etkileşimi, apoptoz, anjiogenez ve "mRNA splicing" olmak üzere çeşitli mekanizmalarla açıklanabilir. Ekstrasellüler galectin-3'ün adezyon ve metastazdan sorumlu olduğu düşünülmektedir. İntrasellüler galectin-3 antiapoptotik etkilidir. Galectinlerin karsinogenezdeki etkilerinden birisi de Ras proteinleri ile ilişkisidir. Galectin-3'ün K-ras'a bağlanması ve aktivasyonu onkojenik etkiye neden olur. Kanserdeki fonksiyonlarından birisi de anjiogenez etkisidir. Tümörün yaşamına devam edebilmesi için gerekli olan vasküler desteğin gelişimini sağlar (7). Galectin-3 ekspresyonu farklı tümör

tiplerinde incelenmiştir ve tümör tipine bağlı olarak değişen ekspresyonlar izlenmiştir. Pankreas kanserinde ve hepatosellüler kanserde galectin-3 ekspresyonu izlenirken normal pankreas hücrelerinde ve normal hepatositlerde galectin-3 eksprese edilmediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (8). Normal, hiperplastik ve neoplastik endometrium dokularında yapılan bir çalışmada normalden hiperplaziye, hiperplaziden kansere ilerledikçe galectin-3 ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (9). Tiroid karsinomlarında galectin-3 ekspresyonu tespit edilirken benign tümörlerde ve normal tiroid dokusunda saptanmamıştır (10). Kolon karsinomalarında neoplastik süreçte galectin-3 seviyesinin arttığını yada azaldığını gösteren farklı yayınlar bulunmakla birlikte kolorektal karsinogenezdeki rolü kesin olarak gösterilememiştir (8).

Ki-67 hücre siklusu ile ilişkili nükleer bir antijeni tanıyan monoklonal bir antikordur. Bu antijen hücre siklusunun G0 yada erken G1 dışındaki tüm safhalarında eksprese edilir. Ki-67 antijeni bir hücre popülasyonunun proliferasyon düzeyini ve malignitelerin agresifliğini belirlemede sık kullanılan ve güvenilir bir belirleyicidir (11).

Biz bu çalışmada öncelikle normal kolon mukozasında, adenomalarda ve adenokarsinomalardaki nükleer ve sitoplazmik galectin-3 ve Ki-67 seviyesini inceleyerek, galectin-3'ün karsinogenezdeki olası önemini belirlemeye çalıştık. Prognostik bir parametre olarak kabul edilen tümör grade'i ile galectin-3 ekspresyonunun korelasyonunu araştırdık. Ayrıca galectin-3'ün epitelyal hücre proliferasyonu ile ilişkisini araştırabilmek için de Ki-67 ekspresyonunu inceledik.

GENEL BİLGİLER

2.1. KOLONUN ANATOMİ VE HİSTOLOJİSİ

Kolon, gastrointestinal kanalın son 1-1,5 metrelik kısmını oluşturur. İleoçekal valvden başlayarak çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektum olarak isimlendirilen bölümlere ayrılır ve anal kanalda sonlanır. Çıkan kolon ve transvers kolon bileşkesinde hepatic fleksura, inen kolon ve transvers kolon bileşkesinde splenic fleksura bulunur. Rektum kolonun periton dışında kalan 8-15 cm'lik kısmını oluşturur (1).

Çekum, appendiks, çıkan kolon ve transvers kolonun proksimal kısmı sağ kolon olarak da adlandırılır ve embriyolojik olarak midguttan gelişmiştir. Transvers kolonun distal kısmını, inen kolon, sigmoid kolon ve rektum sol kolon olarak da adlandırılır ve hindguttan köken almıştır. Sağ ve sol kolon arasında gen ekspresyon paternleri, fizyolojik fonksiyonları, hastalıkların dağılımı ve histolojik görünümleri arasında farklılıklar olması bu embriyonik kökenlerinin farklılığına bağlıdır (12).

Çekumdan splenic fleksuraya kadar olan kolon segmenti superior mezenterik arterden beslenir, parasempatik innervasyonu nervus vagus, sempatik innervasyonu superior mezenterik gangliyon ile olmaktadır (1).

Splenic fleksuranın distalinde olan kolon bölümlerini inferior mezenterik arter besler. Parasempatik innervasyonu nervi erigentis, sempatik innervasyonu inferior mezenterik gangliyon ile olmaktadır .

Rektumun alt kısmı internal iliak arterin dalları olan orta ve inferior rektal arterlerle beslenir. Parasempatik innervasyonu nervi erigentes ile, sempatik innervasyonu hipogastrik pleksus ile olmaktadır (1).

Kolonun venöz drenajının çok büyük kısmını portal sistem sağlar. Venöz kan portal sistem aracılığıyla karaciğere taşınır; bu yüzden karaciğer kolorektal metastazların temel bölgesini oluşturur. Rektumdan ayrılan venöz kanın bir kısmı da hemoroidal pleksus aracılığıyla kaval sisteme ulaşır (13).

Kolon duvarı mukoza, submukoza, muskularis propria ve seroza olmak üzere 4 tabakadan oluşur. Mukozanın da 3 komponenti vardır; epitel, lamina propria ve muskularis mukoza. Luminal kolonik mukoza metabolik ve immünolojik olarak kolonun en aktif bölümüdür. Luminal yüzey kommensal mikrobiyal ekosistem oluşumunu kolaylaştıran ve integral bariyer fonksiyonu gören glikokaliks ile kaplıdır (1).

Mukozal yüzey çok sayıda kriptin açıldığı tek sıralı basit kolumnar yada kübik epitel ile döşelidir. Yüzey epiteli absorptif hücreleri ve goblet hücrelerini içermektedir. Absorptif hücrelerin bazalde lokalize nukleusları, müsin negatif asidofilik sitoplazmaları vardır. Goblet hücrelerinin “şarap kadehi” görünümü ayırtedirici özelliğidir. Hematoksilen-Eozin (H-E) boyamada hücre sitoplazması berrak görülür. Goblet hücre nükleusu çevresindeki absorptif hücrelerle karşılaştırıldığında hiperkromatik, dense ve düzensiz görülür. Lenfositler ve seyrek olarak eozinofiller yüzey epitel hücreleri arasında olabilir (1).

Kriptler tübüler şekilli, test tübü görünümündedir ve birbirine paralel olarak dizilmişlerdir (4). Kript epitelini yüzey epitelinde olduğu gibi matür absorptif hücreler ve goblet hücreleri döşer, fakat bunlara ek olarak immatür ve farklılaşmamış hücreler, endokrin hücreler ve paneth hücreleri bulunur. Öncül hücreler, endokrin hücreler ve paneth hücreleri kriptin bazalinde yerleşir. İnce bağırsakta olduğu gibi prekürsör hücreler diğer tüm epitelyal mukozal hücrelerin öncülüdür.

İmmünohistokimyasal olarak normal kolon mukozasındaki epitelyal hücreler sitokeratin 8, 18 ve 19 ile pozitif boyanır. Hücreler kriptten yüzeye doğru ilerledikçe sitokeratin 19 immünoaktivitesi artar (1).

Lamina propria bazal membrandan başlayarak kriptlerin çevresini kuşatır ve muskularis mukozaya dek uzanır. Lamina propriada kollajen lifleri, düz kas demetleri, damarlar ve sinirlerden oluşan bir ağ içinde az sayıda lenfosit (T ve B lenfosit), plazma hücreleri, histiyositler ve mast hücreleri bulunur. Plazma hücreleri lamina propriadaki hücrelerin çoğunu meydana getirir. Lamina propriada submukozaya dek uzanım gösteren lenfoid foliküller bulunur. Derindeki kript epitelini çevreleyen lenfoid foliküllerin oluşturduğu yapıya “lenfoglandüler kompleks” adı verilir. Lenfoglandüler kompleks normalde bulunabilen bir yapıdır ve muskularis mukozayı geçerek submukozaya dek uzanabilir (1). Lamina propriada iki ayrı miyofibroblast popülasyonu vardır; kriptlerin çevresinde yerleşmiş olan “pericrypt miyofibroblast sheath” ve retiküler lifler arasında yerleşmiş “subepitelyal miyofibroblast” (12). Makrofajlar lamina propria içinde dağılmış olarak sıklıkla görülür ve nadiren kriptlerin bazalinde yerleşir. H-E boyama ile görülmesi zor olsa da içinde depoladığı maddeyi gösteren bir histokimyasal boya aracılığı ile veya immünohistokimya boyası ile görünür hale getirilebilir. Lamina propriada en sık gözlenen makrofaj tipi goblet hücrelerinden sızan müsin fagosite eden müsinofajlardır (12). Müsinofajlar kümeler oluşturacak şekilde gruplar yaptığında “kolonik histiyositozis” olarak adlandırılır, fakat herhangi bir hastalığın göstergesi değildir (1). Lamina proprianın damarları düzenli dağılım gösteren kapillerleri ve muskularis mukoza üzerinde sınırlı lenf damarlarını içerir (4).

Lamina propria altında ince bir tabaka halinde düz kas liflerinden oluşan muskularis mukoza bulunur. Muskularis mukoza üzerinden lenfoglândüler kompleksler, vasküler kanallar, nöral yapılar geçer. Muskularis mukoza kolon glandlarına sıkıca bağlı olduğu için eğer biyopside muskularis mukoza alınmamışsa yapısal distorsiyon var gibi görülebilir (12).

Muskularis mukoza ile muskularis propria arasında gevşek olarak yerleşim gösteren düz kas demetleri, fibroelastik doku ve yağ dokudan oluşan submukoza bulunur. Submukoza içinde lokal enterik sistemine ait yapılar, damarlar ve lenfatikler bulunur. Seyrek olarak inflamatuvar hücreler submukoza içinde dağılmış olarak bulunabilir. Submukoza peristaltizm esnasında mukozanın rijid muskularis mukoza üzerinde kayması ve rahat hareket edebilmesi için esnek bir ortam oluşturur.

Submukozada düz kas kümelerinin yakınında yerleşen Cajal'ın interstisyel hücreleri bulunur. Cajal'ın interstisyel hücreleri modifiye fibroblastlardır ve barsak motor aktivitesinin kontrolünde önemli rolleri olduğu düşünülmektedir (12).

Submukoza boyunca arterioller, venüller ve lenfatikler vardır. Submukozada ayrıca Meissner submukozal pleksusu (muskularis mukozanın hemen altında) ve Henle derin submukozal pleksusu (muskularis proprianın iç kısmında) bulunur.

Muskularis propria içte sirküler, dışta longitudinal uzanan kas liflerinden ve bu ikisi arasında yerleşmiş Auerbach myenterik pleksusundan meydana gelmiştir. Cajal'ın interstisyel hücrelerinin en yoğun bulunduğu yer muskularis propria içerisinde myenterik pleksus çevresidir.

Muskuler tabakadan kan ve lenf damarları geçmektedir ve fibroadipö doku ile çevrilidir.

Seroza tek sıralı düzleşmiş ya da küboidal mezotelyal hücrelerden ve bitişiğindeki fibroelastik dokudan meydana gelir (1,12).

2.2 KOLOREKTAL ADENOMALAR

Adenomalar, küçük genellikle pedinküllü lezyonlardan büyük sesil neoplazilere dek değişen özelliklerde intraepitelyal neoplazilerdir. Kolonda adenomaların insidansı 40 yaşından önce %20-30, 60 yaşından sonra %40-50 arasında değişir. Kadın ve erkeklerde eşit sıklıkta görülür (2).

Kolorektal adenomaların insidansı dünyanın farklı bölgelerinde değişiklik gösterir. Kolorektal karsinoma insidansı ile orantılı olarak gelişmiş ülkelerde daha sık, gelişmekte olan ülkelerde daha az görülür (4).

Adenomatöz polipler kolon boyunca oldukça düzenli dağılım gösterir; %40 sağ kolon, %40 sol kolon ve %20 rektumda yerleşirler. Poliplerin çok büyük kısmı asemptomatiktir, fakat torsiyon veya vasküler obstruksiyon sonucunda kanamaya neden olabilirler. Yeterince büyükse, barsak alışkanlıklarında değişmeye ve intussepsiyona neden olabilirler (1).

Tüm adenomatöz lezyonlar, düşük dereceden yüksek dereceye değişen epitelyal proliferatif displaziler sonucunda meydana gelir. İnvaziv kolorektal karsinomalar için öncül lezyonlardır. Adenomatöz lezyonlar epitelyal yapısal özellikleri dikkate alınarak 3 sub tipe ayrılır:

- Tübüler adenoma: %75'ten fazla tübüler yapı içerir
- Villöz adenoma: %50'den fazla villöz yapı içerir
- Tübülovillöz adenoma: %25-50 arasında villöz yapı ve beraberinde tübüler yapılar bulundurulur.

En çok görülen tübüler adenomalardır. Adenomaların %5-10'u tübülovillöz ve sadece %1'i villöz yapıdadır.

Kansere dönüşebilme potansiyelleri olduğu için klinik olarak önemlidirler. Tüm adenomaların yaklaşık %5'inde invaziv adenokarsinoma bulunur, fakat bu ilişki daha çok büyüklükle bağlantılıdır. Bir cm'den küçük adenomaların yaklaşık % 0,5'inde, 1-9 cm arasındaki adenomaların %5'inde, 2 cm'den büyük adenomaların %10'unda invaziv kanser bulunur (2).

Maksimum çap, bir adenomun karsinoma içerme riskini belirleyen ana faktör olmakla birlikte büyüklük, histolojik yapısı ve içerdiği epitel displazisinin derecesi malignite riskini belirlemede birbirine bağlı olan üç özelliktir (2).

Kolorektal adenomalar gross olarak eleve, flat ve deprese olarak 3 gruba ayrılabilir. Flat ve deprese adenomalar mukozada kızarıklık ve yapısında değişikliklerle tanınabilir. Bu lezyonlar polipoid olmadığı halde adenom terimi kullanılmaktadır çünkü belirleyici olan intraepitelyal neoplazi (displazi) bulunmasıdır.

Deprese adenomalar genellikle flat veya polipoid olanlardan daha küçüktürler ve oldukça küçük oldukları dönemde bile (ortalama 11 mm) adenokarsinoma ilerleme olasılığı oldukça yüksektir. Ras mutasyonu bulunma olasılığı polipoid adenomalara göre daha düşüktür (3).

Adenomalar saplı veya sesil olabilir. Klasik olarak tübüler adenomalar saplı olarak tanımlanır, fakat sesil tübüler adenomalar ve saplı villöz adenomalar da bulunabilir.

Adenomalar çevre dokudan daha koyu renkte yada kırmızımsı renkte görünürler. Tübüler adenomalar daha çok küre şeklinde olma eğilimindedir ve göreceli olarak düzgün yüzeyleri vardır. Villöz adenomaların belirgin papiller çıkıntıları ve kaba tüsü yüzeyleri vardır.

Genellikle adenomun büyüklüğü histolojik tipi ile koreledir. Bir cm'den küçük adenomaların % 91'i tübüler, %7'si tübülovillöz ve % 2'si villöz adenomadır. İki cm'den büyük olduklarında % 50'si tübüler, %38'i tübülovillöz ve % 12'si villözdür (4).

Mikroskopik olarak tipten bağımsız olarak adenomalar benzer adenomatöz epitel içerirler. Genel gelişim paterni bir adenomun tübüler, tübülovillöz yada villöz olduğunu belirler. Tüm adenoma tiplerinde epitelyal hücrelerde sıralanma artışı vardır, genişlemiş, uzamış ve hiperkromatik nükleusları bulunur. Müsin üretimi değişkendir, sıklıkla azalmıştır. Değişiklikler öncelikle glandın yüzeyel kısmını etkiler (1).

Tübüler adenomalarda gland veya tübül formasyonu gösteren adenomatöz epitelde proliferasyon vardır. Bu tübüller birbirinden lamina propria ile ayrılır. Villöz adenomalarda da benzer epitel vardır, gelişim paterni muskularis mukozadan adenomun dış yüzüne doğru dik olarak uzanan parmaklı çıkıntılar ya da villuslar şeklindedir (4).

İmmünohistokimyasal olarak Karsinoembriyonik Antijen (CEA) boyanmasında artış vardır, özellikle daha atipik olan alanlarda artmıştır. Adenokarsinomlardakine benzer şekilde değişik keratin tipleri ekspresye edilir. Adenomaların yaklaşık %35'inde flow sitometri ile anöploidi saptanabilir. Vakaların az bir kısmında p53 ekspresyon artışı vardır. Hemen tüm vakalarda bcl-2 immünoaktivitesi vardır (1).

Adenomalar içerdikleri epiteldeki displaziye göre "Düşük Grade" ve "Yüksek Grade" olarak ikiye ayrılır (3,4, 14).

"Usual" veya "common" adenomaların düşük grade'li displazi gösterdiği kabul edilmektedir. Düşük dereceli displazide neoplastik glandlar tübül yapısı oluşturur. Nükleuslar uzun ve displastiktir. Nükleer palizatlanma izlenebilir. Nükleuslar hücre yüzeyine ulaşmaz. Hücrenin apikal kısmında müsin üretimi görülür (4).

Yüksek dereceli displazi geçmişte "in situ kanser" olarak adlandırılan değişiklikleri de kapsamaktadır. "In situ kanser" terimi "American Joint Committee on Cancer" ın TNM (Tümör, Nod, Metastaz) sınıflamasında yer alsada pratik kullanımda yüksek dereceli displazi bu terimin yerini almaktadır (4).

Yüksek dereceli displazilerde yapısal ve sitolojik değişiklikler görülür. Yapısal olarak kriptlerde irregüler dallanma, tomurcuklanma veya kribriform patern gözlenir. Sitolojik olarak belirgin nükleollü, genişlemiş, hiperkromatik veya veziküler nükleusları vardır. Nükleer

sıralanma artışı vardır ve nükleuslar hücrelerin luminal yüzeyine ulaşırlar. Mitoz belirgin olabilir. Nekroz alanları bulunabilir. Sitoplazmik müsin üretimi azalmıştır veya yoktur (4).

Yüksek dereceli displazi sol kolonda daha sık olarak bulunur ve kolorektal kanser riski yüksek toplumlarda daha çok görülür. Adenomun boyutu ile orantılı olarak yüksek dereceli displazi olasılığı artar ve en sık villöz adenomalarda izlenir (5).

Yüksek dereceli displazi mukozada sınırlıdır. Muskularis mukozayı invaze ettiğinde ve submukozaya geçtiğinde invaziv adenokarsinoma olarak adlandırılır. Mukozaya ve yalnızca muskularis mukozaya sınırlı adenoma malign değildir (4).

Adenomalar Paneth hücre metaplazisi, melanositik metaplazi ve skuamöz metaplazi içerebilirler (4).

2.3 KOLOREKTAL KARSİNOGENEZ

Adenomadan karsinoma gelişimine adenom-karsinom süreci adı verilmektedir. Çeşitli gözlemlerle ortaya konmuş bir süreçtir.

- Adenoma prevalansının yüksek olduğu toplumlarda kolorektal karsinoma prevalansı da yüksektir.
- Kolorektal adenoma dağılımı kolorektal karsinoma dağılımı ile benzerdir.
- Kolorektal adenomaların en sık rastlandığı yaşlar ile kolorektal karsinomaların en sık rastlandığı yaşlar birbiri ardına gelen dönemlerdir.
- İnvaziv karsinoma erken bir dönemde yakalandığında sıklıkla çevresinde adenomatöz alanlar mevcuttur.
- Kanser riski adenomaların sayısı ile kesin ilişki gösterir.
- Adenoma saptama programları ve bunların erken eksizyonu ile karsinoma sıklığında azalma saptanmaktadır (2, 13).

Günümüzde kolon kanseri gelişiminde birbirinden farklı iki yol olduğu bilinmektedir. Her iki yolda da birden fazla mutasyon aşamalı olarak birikmektedir (2).

- Birinci yol APC (Adenomatöz Polipozis Koli)– β katenin yolu olarak da adlandırılır; bir seri onkogende ve tümör baskılayıcı gende mutasyonların aşamalı olarak birikimi ile sonuçlanan kromozomal dengesizlik ile karakterizedir (2).

- İkinci yol “mikrosatellit dengesizliği yolu” olarak da adlandırılır; “DNA mismatch onarım gen” lerinde genetik lezyonların varlığı ile karakterizedir (2).

2.3.1 APC/ β Katenin yolu

2.3.1.1 APC Geninin Kaybı

APC kromozom 5q21 yerleşimli bir genidir. Adenoma oluşumunda ilk etkilenen gen olduğu kabul edilmektedir. Mikrotübül demetlerine bağlanan ve hücre migrasyonunu ve adezyonunu sağlayan bir protein kodlar ve aynı zamanda β -katenin seviyelerini düzenler. β -katenin normal intestinal epitel gelişiminde önemli rolü olan Wnt/ β katenin sinyal yolunun önemli bir komponentidir (2, 15).

β -katenin pek çok görevde rol alan bir proteindir. β -katenin hücreler arası yapışıklığı devam ettiren bir protein olan E-kadherinin sitoplazmik parçasına tutunur durumdayken hücreler arası yapışıklığa katkıda bulunur, eğer nükleusa transloke olmuşsa transkripsiyon faktörü gibi davranır. WNT sinyali yokluğunda hücrede β -katenin ve APC proteinini içeren bir makromoleküler kompleks oluşur. Bu kompleks β -katenin yıkımına yol açar ve intrasellüler β -katenin seviyesi azalır. Hücre WNT sinyali ile uyarıldığında zaman “yıkıcı kompleks” inaktive olur, β -katenin yıkımı durur ve sitoplazmik seviyesi artar. β -katenin nükleusa taşınır ve bir transkripsiyon faktörü olan TCF (T hücre faktörü) proteini ile kompleks oluşturur ve bu kompleks c-MYC ve siklin D1 ve hücre proliferasyonunu düzenleyen genleri aktive eder (16).

APC geni yokluğunda “yıkıcı kompleks” inaktive olur, β -katenin yıkımı olmaz. Sonuçta APC kaybı ile hücre sürekli WNT sinyali altında gibi davranır ve aşırı serbest β -katenin oluşur, nükleusa geçer ve transkripsiyonu aktive eder .

Kolorektal kansinomalarda % 80’den fazlasında inaktif APC geni vardır. APC mutasyonu olmayan kanserlerin % 50’sinde β -katenin mutasyonu vardır. Mutasyona uğramış β -katenin APC tarafından inhibe edilemez ve nükleusa göç eder.

APC gen kaybının adenoma oluşumunda en erken olay olduğu kabul edilmektedir (2, 17)

2.3.1.2 K-ras mutasyonu

K-RAS geni aktif guanozin trifosfata bağlı durum ile inaktif guanozin difosfata bağlı durum arasında gidip gelen bir sinyal iletim molekülünü kodlar. Mutasyona uğramış RAS aktif halde sabit kalır ve mitotik sinyalleri iletmeye devam eder, apoptozu engeller (15,16). K-ras geni adenomalarda ve kolon adenokarsinomlarında en sık rastlanan aktive onkogendir. K-ras hücre içi sinyal iletiminde rol oynar. Bir cm’den küçük çaplı adenomaların % 10’undan

azında, 1 cm den büyük adenomaların ve karsinomaların yaklaşık %50'sinde mutasyona uğramıştır (2).

2.3.1.3 18q21 delesyonu

Kolon kanserlerinde sık görülen allelik kayıplardan birisi de 18q21 lokalizasyonundadır. Bu kromozom bölgesinde 3 genin varlığı bilinmektedir; DCC (Deleted in colon carcinoma), SMAD2 ve SMAD4. Başlangıçta DCC'nin kolorektal karsinogenezde rolü olduğu düşünülmüştür. Ancak hayvan deneylerinde her iki DCC allelinde kayıp olan mutantlarda bir anormallik gözlenmediği için DCC'nin karsinogenezdeki rolü hakkında şüpheler doğmuştur (15,16). SMAD 2 ve SMAD 4 ise transforming growth faktör β (TGF β) sinyal yolunda görev alan molekülleri kodlarlar. TGF β sinyalizasyonu normalde hücre siklusunu durdurduğundan bu genlerin kaybı hücre büyümesinin kontrolden çıkmasına yol açar. SMAD 4 pankreas kanserlerinin yaklaşık % 50'sinde inaktif hale geldiğinden DPC 4 (Deleted in pankreatik karsinom) olarak da adlandırılmaktadır. SMAD 2 mutasyonlarına da bazı kolorektal tümörlerde rastlanmaktadır (15,16).

2.3.1.4 p 53 mutasyonu

p53 geni 17. kromozomun kısa kolu üzerinde yerleşen bir tümör baskılayıcı genidir. p53 mutasyonu insan tümörlerinde en sık saptanan genetik değişikliktir. p53 çekirdekte yerleşen ve DNA ya bağlanan bir proteindir, fonksiyonunu diğer genlerin transkripsiyonunu artırarak gösterir. Bu genin en önemli fonksiyonu DNA hasarına cevap olarak hücre siklusunu durdurması, onarım genlerinin transkripsiyonunu artırması ve apoptozu başlatmasıdır. DNA hasarı olunca p53 seviyesi hızlı bir şekilde artar (2, 18). Bir siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan p21 sentezini artırarak hücre siklusunun geç G1 fazında duraklamasına neden olur. Böylece hücre DNA hasarını onarmak için zaman kazanır. p53 aynı zamanda DNA tamirinde görev alan bir proteini kodlayan GADD45 genini kodlayarak DNA onarımını sağlar. DNA hasarı onarırsa hücre siklusu devam eder. DNA hasarı onarılamazsa normal p53 apoptozu sağlayan genlerden BAX'ın uyarılmasına ve apoptoz ile hücrenin ölümüne neden olur. p53 mutasyonu ya da kaybı olan hücrelerde DNA hasarı olduğunda hücre siklusu durmayacak, DNA tamiri yada apoptoz olmayacak, genetik olarak hasarlı olan hücre çoğalmaya devam edecek ve malign değişime doğru yol alacaktır (16).

Kolon kanserlerinin % 70-80'inde kromozom 17 p kayıpları görülmektedir. Bunun yanında adenomalarda benzer kayıplara nadiren rastlanır. p53'ü etkileyen bu kromozom delesyonları, p53 mutasyonlarının kolon karsinogenezinin geç bir döneminde etkili olduğunu düşündürmektedir (2).

2.3.2 Mikrosatellit Dengesizliği

Mikrosatellit dengesizliği DNA mismatch onarım genlerinin inaktivasyonu sonucunda DNA onarımında meydana gelen aksaklıklar nedeni ile meydana gelir. Mikrosatellitler sıklıkla genin kodlama yapmayan bölgesinde yerleşen tekrarlayan DNA dizileridir. Bu tekrarlayan nükleotid dizileri DNA replikasyonu sırasında “mismatch” hatalarına yatkındırlar. Normal koşullarda DNA replikasyon hatası olduğunda “mismatch” onarım genleri yanlış replike olanları ayırıp sistemin normal bir şekilde devamını sağlar (2, 5, 19). Mismatch onarım genlerinde mutasyonlar sonucunda genomdaki tekrarlayan dizilerde (mikrosatellitlerde) yaygın değişiklikler olur, bu olay mikrosatellit dengesizliğine (MSI) neden olur (2). “Mismatch” onarım genleri; hMSH2, hMLH1, hMSH6, hPMS1 ve hPMS2'dir. Mutasyonlar en sık MSH 2 ve MLH1 de izlenir (2,4,15,20). İki veya daha fazla gende mutasyon olduğunda yüksek MSI (MSI-H) kabul edilir (2,4).

Mikrosatellit sekanslarının çok büyük kısmı genlerin kodlama yapmayan bölgelerinde meydana gelir, bu durumda bu mutasyonlar zararsızdır. Fakat bazı mikrosatellit dizileri hücre büyümesini düzenleyen genlerin kodlama yapan bölgelerinde yer alırlar. Bu genlere örnek olarak TGF β ve BAX genleri verilebilir. TGF β sinyalizasyonu kolonik epitelyal hücrelerin büyümesini inhibe eder. BAX geni apoptozise neden olur. Mismatch onarım genlerinde mutasyon büyümeyi ve apoptozu regüle eden bu genlerde mutasyonların birikmesine ve kolorektal karsinomaların ortaya çıkmasına neden olur (2).

Mismatch onarım yolundaki defektlerden kaynaklanan tümörlerde proksimal kolon lokalizasyonu, müsinöz histoloji ve lenfosit infiltrasyonu nispeten sık görülen özelliklerdir. Bu tümörler genel olarak APC/ β katenin yolundan kaynaklanan tümörlerden daha iyi bir prognoza sahiptir (4).

2.4 KOLOREKTAL KARSİNOMALAR

2.4.1 Genel Özellikleri

Kolon ve rektumda görülen kanserlerin % 98'ini adenokarsinomalar oluşturur (2). Kolorektal tümörlerin Dünya Sağlık Örgütü sınıflandırması Tablo 2.1'de gösterilmiştir (3). Kolorektal adenokarsinomalar malign hastalıkların en sık gözlenen formlarından birisidir. Erkeklerde akciğer, kadınlarda meme kanserinden sonra ikinci sıklıkta ölüme yol açan kanserdir (5). Gastrointestinal kanalın en sık gözlenen ve en iyi kür sağlanabilen tümörüdür (1).

Kolorektal karsinoma insidansı ülkeler arasında farklılık gösterir. Kuzey Amerika, Batı Avrupa ve diğer gelişmiş bölgelerde sık olarak gözlenirken Afrika ve Asya'nın gelişmiş ülkelerinde daha az oranda izlenir (2,3).

Kadın ve erkekleri eşit oranda etkiler. Ortalama görülme yaşı 62 dir (1). Yaşla birlikte görülme insidansı artar ve genetik predispozisyon yada kronik inflamatuvar barsak hastalığı gibi predispozan bir etken olmadığı sürece 40 yaşın altında nadirdir (3).

Kolorektal karsinoma insidansı yüksek kalorili ve hayvansal yağlardan zengin diyet ile beslenen ve sedanter bir yaşam tarzı olan kişilerde yüksektir. Et tüketimi, sigara ve alkol kullanımının risk faktörü olduğu epidemiyolojik çalışmalarla gösterilmiştir. Sebze tüketimi, uzun dönem non-steroidal antiinflamatuvar ilaç kullanımı, östrojen replasman tedavisi ve fiziksel aktivite kolorektal karsinom insidansını azaltmaktadır (1,3,14). Sebzelede folat gibi antikarsinojenlerin bulunması, lif fermentasyonu sonucunda koruyucu uçucu yağ asitlerinin üretilmesi ve hızlı geçiş nedeniyle kolorektal epitelle temasın azalması karsinom gelişimini önleyici etki yapar (3,5). Diyet ile kolorektal karsinoma arasındaki ilişkinin altında yatan moleküler mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Etin pişirilmesi esnasında heterosiklik aminlerin ortaya çıkması, safra asitlerinin seviyesinin uyarılması ve reaktif oksijen radikalleri üretilmesinin karsinoma gelişiminde olası mekanizmalar olduğu düşünülmektedir. Safra asitleri kolon epiteli üzerinde direkt olarak sitotoksik hasara ve artmış hücre döngüsü ile ilişkili rejenerasyona neden olur. İyonize yağ asitlerinin de direkt epitel üzerinde irritasyona neden olmaları yüksek yağ içeren diyetin karsinogenezdeki etkisini açıklamaktadır (3,5).

Kronik inflamatuvar barsak hastalıkları kolorektal adenokarsinoma gelişiminde önemli bir etyolojik faktördür. Risk 8-10 yıldan sonra artmaktadır. En riskli grup erken başlangıç gösteren ve pankoliti olan hastalardır. Ülseratif kolit premalign bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Hastalığın yaygınlığı ve bulunma süresi karsinoma gelişiminde başlıca risk

faktörleridir. Klinik çalışmalarla ülseratif kolitli hastalarda kolorektal karsinom insidansının yaklaşık 20 kat arttığı gösterilmiştir. Kolonun yarından fazlasında tutulum olan hastalarda karsinom gelişme riski yaklaşık % 15'tir. Ülseratif proktiti olan hastalarda karsinoma riskinde artım saptanmamıştır. Crohn Hastalığında ise karsinoma gelişme riski normale göre yaklaşık 3 kat artmıştır. Crohn hastalığında da erken başlangıç ve hastalığın uzun süre bulunması risk faktörleridir (3).

Terapötik pelvik radyasyon kolorektal karsinoma gelişiminde nadir fakat iyi tanımlanmış bir risk faktörüdür (3).

Kolorektal karsinomalar uzun yıllar asemptomatik kalır, semptomlar sinsice gelişir ve sıklıkla tanıdan aylar bazen yıllar önce mevcuttur. Tümörün yerleşimi ve büyüklüğüne göre hastalarda farklı semptom ve bulgular izlenebilir. En sık gözlenen semptomlar kilo kaybı, rektal kanama, barsak alışkanlığında değişme, kronik kan kaybı sonucunda ortaya çıkan anemi ve karın ağrısıdır (1, 2, 3, 5). Tümör sol kolonda yerleşmiş ise feçesin sert olması ve tümörün daha çok anüler tarzda büyümesi nedeniyle konstipasyon daha sık görülür. Sağ kolon tümörlerinde lümen daha geniş, feçes daha yumuşak kıvamda olduğu ve tümör sıklıkla ekzofitik büyüme gösterdiği için obstruksiyon bulguları sık değildir (3). Çekum ve sağ kolon tümörlerinde halsizlik, yorgunluk ve kronik kan kaybına bağlı anemi bulguları ön plandadır. Sol kolon tümörleri gizli kanama, barsak alışkanlıklarında değişim ve sol alt kadranda kramp şeklinde ağrı ile kendini gösterirler (1,2).

Ne yazık ki bu semptomların çoğu ileri evre hastalıkta görülmektedir. Bu yüzden tümörü erken evrede yakalayabilmek için "American Gastroenterology Association" tarafından 50 yaşından itibaren yıllık gaitada gizli kan testi ve 5 yılda bir fleksibl sigmoidoskopi, 10 yılda bir kolonoskopi ile takip önerilmektedir. Kolorektal adenom veya karsinom aile öyküsü bulunan hastalarda ise daha sık aralıklarla hastanın durumuna uygun aralıklarla takip yapılmalıdır (5).

Modern görüntüleme teknikleri tümörlerin non invaziv olarak saptanabilmesine ve klinik evrelemeye izin vermektedir. Konvansiyonel baryumlu kolon grafisi ile büyük tümörler saptanırken hava kontrastlı radyografi ile daha erken evredeki tümörler saptanabilmektedir. BT, MR ve transrektal USG lokal tümör invazyonunun derinliğinin, bölgesel ve uzak metastaz varlığının saptanmasını sağlar. Endoskopinin gelişimi tanı ve tedavide kolaylık sağlamaktadır. Kolonoskopi tüm mukozal yüzeylerin gözlenmesine ve tanımlanan lezyondan biyopsi alınmasına olanak sağlar. Yüzeysel neoplastik lezyonlar (flat ve deprese) ve bazı yüzeyden kabarık lezyonlar mukozal rezeksiyon ile çıkarılabilirler (3).

CEA kolorektal kanserli hastaların değerlendirilmesinde önemli olan glikoprotein yapısında bir antijendir. Kolorektal karsinomlu hastaların %72-97'sinin serumunda saptanabilir. Tümörün rezeksiyonundan sonra kaybolur, rekürrens veya metastaz olduğunda ise yeniden yükselir. Barsak duvarını aşmış, az diferansiye, kan damarı, lenfatik ve perinöral invazyon olan tümörlerde daha yüksek değerlere ulaşır. Mide, pankreas, meme ve prostat kanserlerinde de yüksek değerlerde izlenir. Kronik karaciğer ve böbrek hastalığı olanlarda da yüksek değerlerde gözlenebilir (1).

2.4.2 Lokalizasyon

Kolorektal karsinomaların çok büyük kısmı rektum ve sigmoid kolonda izlenir. Ancak son yıllarda dağılımın değiştiğine, proksimal kolonda karsinom görülme oranının arttığına dair kanıtlar vardır (1,3). Sağ kolona lokalize tümörlerin yaşlılarda, siyahlarda ve divertiküler hastalığı olanlarda daha sık olduğu bildirilmektedir (1). Yüksek düzeyde "mikrosatellit instabilite" sinin ve ras proto-onkogen mutasyonunun çekum, asendan ve transvers kolon tümörlerinde daha sık görüldüğü moleküler çalışmalarda gösterilmiştir (3).

2.4.3 Makroskopik Bulgular

Kolorektal karsinomaların çok büyük kısmı polipoid veya ülseratif/infiltratif tiptedir. Nadiren linitis plastika görünümünde olurlar. Polipoid gelişim gösterenler normal kolon mukozasından keskin sınırla ayrılan büyük kitleler şeklindedir. Ülseratif/infiltratif tümörler yüzeysel olarak kabarıktır ve santral ülserasyon alanı bulunur. Prognoz iyi sınırlı, polipoid kitle şeklinde gelişen tümörlerde ülseratif lezyonlardan daha iyidir (1,4). Ülseratif/infiltratif tipin özel bir varyantı olarak kabul edilen "flat" ya da "deprese" karsinomalar derin stromal invazyon yapma eğilimindedir ve daha sık lenfovasküler yayılım gösterir (1).

Proksimal kolonda yerleşen karsinomalar daha çok polipoid, ekzofitik kitleler oluşturma eğilimindedir. Distal kolonda yerleşen tümörler ise barsağı halka şeklinde çevreleyerek daralmaya neden olurlar (2,3).

Kesit yüzünde barsak duvarının yerini almış grimsi beyaz doku izlenir. Sınırlar keskin olabilir yada parmaksı çıkıntıları gösterebilir. Yüksek derecede müsin içeren tümörler jelatinöz ve parlak görünümde olabilir (1).

Makroskopik incelemede değerlendirilmesi gereken önemli özellikler tümörün barsak duvarında sınırlı olup olmadığı, perikolik dokuya uzanıp uzanmadığı, makroskopik ven invazyonunun varlığı ve kolonun diğer alanlarında herhangi bir tip karsinom yada polip bulunup bulunmadığıdır (1).

2.4.4 Histopatolojik Bulgular

Kalın barsağın malign tümörlerinin büyük kısmını değişen miktarlarda müsin salgılayan iyi ve orta derecede diferansiye adenokarsinomalar oluşturur (1). Tablo 2.1.'de Dünya Sağlık Örgütü'nün kolorektal malign tümörleri sınıflandırılması gösterilmiştir. Kolorektal adenokarsinomun tanımlayıcı özelliği muskularis mukozayı aşarak submukozaya geçmesidir (3). Adenokarsinomun morfolojik kriterlerini taşıyan, epitele sınırlı yada tüm lamina propriayı dolduran ancak muskularis mukozayı aşıp submukozaya ilerlemeyen lezyonların metastaz yapma riski yoktur. Bu yüzden bu lezyonların adlandırılmasında epitele sınırlı, bazal membranı geçmeyen lezyonlar için in situ adenokarsinoma yerine yüksek dereceli intraepitelyal neoplazi terimi, lamina propriayı dolduran lezyonlar için ise intramukozal adenokarsinom yerine intramukozal neoplazi terimi tercih edilmelidir (3,4).

Kolorektal adenokarsinomaların büyük kısmı değişen büyüklük ve konfigürasyonda glandüler yapılardan oluşur. İyi ve orta diferansiye tümörlerde hücreler geniş ve uzundur ve gland lümeninde sellüler debri bulunur (3). Karsinomalar her zaman özellikle tümör çevresinde belirgin olan inflamatuvar ve desmoplastik reaksiyon oluştururlar. İnflamatuvar hücrelerin büyük kısmı T lenfositlerdir, fakat B lenfositler, plazma hücreleri, histiyositler ve S-100 pozitif dendritik hücreler de görülebilir (1). Nadiren çok sayıda eozinofil görülebilir, bunun IL-5 üretimine bağlı olduğu düşünülmektedir. Tümör barsak duvarının tüm katlarını tutup perikolik yağ dokuya ulaşmış, perinöral boşlukları ve venleri invaze etmiş olarak görülebilir. Nadiren tümör stromasında metaplastik kemik oluşumu görülebilir (1).

Tümör kenarında odaklar halinde rezidüel polip odakları görülebilir, fakat bu bölgedeki glandlarda hiperplastik değişiklik izlenmesi daha sık bir bulgudur. Hiperplastik glandlar daha uzun ve daha kıvrıntılı görünürler ve normal mukozadan daha çok goblet hücresi içerirler. Müsin sekresyonunda değişikliklerin de izlendiği bu bölge transizyonel mukoza olarak adlandırılır. Bu muhtemelen reaktif bir değişikliktir ve malign lenfoma ve metastatik karsinom gibi diğer tümörlerin kenarlarında veya anastomoz alanlarında olduğu gibi tümör dışı durumlarda da görülebilir (1).

Tablo 2.1: Kolorektal Karsinomlarda Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Sınıflandırması

I. EPİTELYAL TÜMÖRLER

a) Adenoma

- Tübüler
- Villöz
- Tübülovillöz
- Serrated

b) Kronik inflamatuvar hastalıklarla ilişkili intraepitelyal neoplazi (displazi)

- Düşük dereceli glandüler intraepitelyal neoplazi
- Yüksek dereceli glandüler intraepitelyal neoplazi

c) Karsinoma

- Adenokarsinoma
- Müsinöz adenokarsinoma
- Taşlı yüzük hücreli adenokarsinoma
- Küçük hücreli karsinoma
- Skuamöz hücreli karsinoma
- Adenoskuamöz karsinoma
- Medüller karsinoma
- İndiferansiye karsinoma

d) Karsinoid (İyi diferansiye endokrin neoplazm)

- E-C hücre, serotonin üreten neoplazm
- L hücre, glukagon benzeri peptid ve PP/PYY üreten tümör
- Diğerleri

e) Mikst karsinoid-adenokarsinom

f) Diğerleri

II. NON-EPİTELYAL TÜMÖRLER

- a) Lipoma
- b) Leiomyoma
- c) Gastrointestinal stromal tümör
- d) Leiomyosarkoma
- e) Anjiosarkoma
- f) Kaposi sarkomu
- g) Malign melanoma
- h) Malign Lenfoma
 - MALT tipi marjinal zon B hücreli lenfoma
 - Mantle hücreli lenfoma
 - Diffüz büyük B hücreli lenfoma
 - Burkitt lenfoma
 - Burkitt benzeri/atipik Burkitt lenfoma
 - Diğerleri
- i) Diğerleri

III. SEKONDER TÜMÖRLER

IV. POLİPLER

- a) Hiperplastik-metaplastik
- b) Peutz-Jeghers
- c) Juvenil

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

2.4.5 Diğer Histopatolojik Tipler

Müsinöz Adenokarsinoma: Tümörün %50'den fazlası ekstrasellüler müsinde oluşuyor ise müsinöz adenokarsinoma olarak isimlendirilir. Geniş ekstrasellüler müsin gölcükleri içinde malign epitelyal hücreler ve asiner yapılar bulunması ile karakterizedir (1,3,4,14). Müsinöz tümörler kolorektal karsinomaların % 15'ini oluşturur ve çoğunluğu rektumda yerleşir (1). Mikrosatellit dengesizliği olan tümörlerde müsinöz tipin görülme olasılığı daha fazladır (3,4). Villöz adenoma, ülseratif kolit, geçirilmiş kolit ve pelvik radyasyon öyküsü ile ilişkili bulunmuştur (1). Müsinöz olmayan adenokarsinomalara kıyasla daha ileri evrede saptanırlar, yaygın perirektal yayılım gösterirler, lenf nodu tutulumu oranı daha yüksektir ve genel olarak daha kötü prognozu vardır (4).

Taşlı Yüzük Hücreli Karsinoma: Kolorektal karsinomaların genellikle genç erişkinleri etkileyen nadir bir formudur. Makroskopik olarak duvarı diffüz olarak infiltre eder, bazen adenomatöz bir polipten de gelişebilir. Mikroskopik olarak tümör diffüz şekilde gelişir, hiç glandüler yapı oluşturmaz ya da çok az oluşturur (1). Tümör hücrelerinin % 50'sinden fazlasında belirgin intrasitoplazmik müsin varlığı ile karakterizedir. Tümör hücrelerinde sitoplazmayı dolduran, nükleusu bir kenara iten geniş müsin vakuelleri vardır (3,21). Lenf nodlarına, peritoneal yüzeye ve karaciğerden daha sık olarak overe metastaz yapma eğilimindedir. Temel yayılma tarzı peritoneal yayılımdır (1). Prognozu kötüdür. Kolorektal taşlı yüzük hücreli karsinoma tanısı vermeden önce mide yada meme tümörünün kolorektal metastazı olup olmadığı araştırılmalıdır. İmmünohistokimyasal olarak sitokeratin 7 negatif, sitokeratin 20 pozitif olması primer kolon kanserini düşündürürken; sitokeratin 7 pozitif, sitokeratin 20 negatif olması metastazı düşündürür (1,21).

Adenoskuamöz Karsinoma: Seyrek görülen bu tümörlerde birbirinden farklı alanlarda yada karışık olarak skuamöz karsinoma ve adenokarsinoma alanları gözlenir. Bir tümörün adenoskuamöz karsinoma olarak adlandırılabilmesi için skuamöz diferansiyasyon alanlarının nadir küçük odaklardan daha fazla olması gereklidir. Saf skuamöz hücreli karsinom kolonda oldukça nadirdir (3). Skuamöz ve adenoskuamöz kanserler ülseratif kolit, şistozomiyazis ve pelvik radyasyon öyküsü ile ilişkilendirilmiştir (4).

Medüller Karsinoma: Nadir görülen bir varyanttır. Veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü, geniş eozinofilik sitoplazmalı malign hücre tabakaları ve belirgin intraepitelyal lenfosit infiltrasyonu ile karakterizedir. Genellikle kadınlarda çekumda yada sağ kolonda izlenir. Bazı hücresel özellikleri nöroendokrin diferansiyasyonu düşündürmekle birlikte nöroendokrin belirleyiciler negatiftir. Mikrosatellit dengesizliği ile birlikteliği vardır (1,3).

İndiferansiye Karsinoma: Glandüler yapı veya diferansiasyon gösteren bir özelliği bulunmayan malign epitelyal tümörlerdir. İntrasitoplazmik müsinin yokluğu bu tümörlerin az diferansiye adenokarsinomadan ayırımında yardımcıdır. Nöroendokrin tümörlere benzemesine rağmen nöroendokrin belirleyiciler negatiftir (4,21). Tipik olarak mikrosatellit dengesizliği ile ilişkilidir (3,4).

İğsi Hücreli Karsinoma (Sarkomatoid Karsinoma): İğsi hücre komponenti içeren karsinomlardır. İğsi hücreler en azından fokal olarak sitokeratin pozitif boyanırlar. Agresif seyirlidirler (1, 3).

2.4.6 Kolorektal Adenokarsinomalarda Derecelendirme

Adenokarsinomalar glandüler yapılarının varlığı temel alınarak iyi, orta ve kötü derecede diferansiye yada düşük ve yüksek dereceli olarak derecelendirilir. Düşük dereceli karsinoma iyi ve orta derecede diferansiye tümörleri kapsar. Yüksek dereceli karsinom az diferansiye ve indiferansiye tümörleri içerir. Tümör içinde iki veya daha fazla farklı derecede alan varsa daha az diferansiye olan alana göre derecelendirilir. Tümör kenarında küçük bir alanda az diferansiye odak sık olarak bulunur, fakat tümörün az diferansiye olarak derecelendirilmesi için yeterli değildir (3,21).

- İyi Diferansiye Adenokarsinoma (Grade 1): Tümörün %95'inden fazlasında glandüler yapılar vardır.
- Orta Derecede Diferansiye Adenokarsinoma (Grade 2): Tümörün %50-95'ini glandüler yapılar oluşturur.
- Az Diferansiye Adenokarsinoma (Grade 3): Tümörün %5-50'sinde glandüler yapılar vardır.
- İndiferansiye Adenokarsinoma (Grade 4): Tümörün %5'inden azında glandüler yapılar mevcuttur (3).

Müsinöz adenokarsinoma ve taşlı yüzük hücreli adenokarsinomalar az diferansiye olarak kabul edilir (3,4).

2.4.7 Kolorektal Adenokarsinomlarda Evreleme

1937 yılında "Dukes" tarafından rektal karsinomalarda kullanılmak üzere önerilen evreleme sistemi kolon karsinomalarında da kullanılmaktadır (Tablo 2.2). Prognoz ile direkt

ilişkili olduğu için hala yaygın olarak kullanılmaktadır (1,14). Tümörün penetrasyon derinliği ile lenf nodu metastazının varlığı yada yokluğuna dayalı bir sistemdir (3). Bu sisteme göre Evre A da tümör kolon duvarında sınırlıdır, muskularis propriayı aşmamıştır. Evre B de kolon duvarının tümünü tutup, muskularis propriayı aşar, kolonda serozayı, rektumda perirektal dokuyu invaze eder, lenf nodu tutulumu yoktur. Evre C de lenf nodu tutulumu vardır (1,14).

1954 yılında "Astler ve Coller" tarafından farklı bir evreleme sistemi önerilmiştir (Tablo 2.3). Astler-Coller sınıflaması temelde Dukes sınıflamasına benzemekle birlikte derinlikleri farklı olan tümörlerde lenf nodu tutulumunu değerlendirmesi açısından önemlidir (1).

Tablo 2.2 Dukes Evreleme Sistemi

Evre A	Tümör kolon duvarında sınırlıdır, muskularis propriayı aşmamıştır
Evre B	Kolon duvarının tümünü tutup, muskularis propriayı aşar, kolonda serozayı, rektumda perirektal dokuyu invaze eder, lenf nodu tutulumu yoktur
Evre C	Tümör lenf nodu metastazı yapmıştır

Bu tablonun hazırlanmasında Rosai J. eds Rosai and Ackerman's Surgical Pathology adlı kaynaktan yararlanılmıştır.

Tablo 2.3 Astler-Coller Evreleme Sistemi

Evre A	Tümör mukozada sınırlıdır
Evre B1	Tümör muskularis eksternayı tutmuş, ancak penetre etmemiştir, lenf nodu tutulumu yoktur
Evre B2	Tümör muskularis eksternayı penetre etmiştir, lenf nodu tutulumu yoktur
Evre C1	Tümör barsak duvarına sınırlı ve lenf nodu metastazı mevcuttur
Evre C2	Tümör barsak duvarını aşmış ve lenf nodu metastazı mevcuttur

Bu tablonun hazırlanmasında Rosai J. eds Rosai and Ackerman's Surgical Pathology adlı kaynaktan yararlanılmıştır.

Son zamanlarda yaygın olarak kullanılan bir diğer derecelendirme sistemi American Joint Committee on Cancer (AJCC) tarafından önerilen TNM evreleme sistemidir (Tablo 2.4 ve Tablo 2.5)

Tablo 2.4 Kolorektal Tümörlerin TNM Evreleme Parametreleri

T- Primer Tümör

TX	Primer tümör saptanmadı
T0	Primer tümör kanıtı yok
Tis	İn-situ karsinom (intraepitelyal ya da lamina propria invazyonu)
T1	Tümör submukozaya invaze
T2	Tümör muskularis propriaya invaze
T3	Tümör subseroza yada nonperitonealize/perirektal dokuya invaze
T4	Tümör komşu organ ve yapılara direkt invazyon göstermekte ve/veya visseral peritonu perforasyon etmektedir.

N- Bölgesel Lenf Nodları

NX	Bölgesel lenf nodları değerlendirilememekte
N1	Lenf nodu metastazı yok
N2	1-3 lenf nodu metastazı
N3	4 veya daha fazla lenf nodu metastazı

M- Uzak Metastaz

MX	Uzak metastaz değerlendirilememekte
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz mevcut

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

Tablo 2.5 Kolorektal Tümörlerin TNM Evrelemesi ve Gruplar

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

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

2.4.8 Yayılım ve Metastaz

Kolorektal karsinomalar en sık bölgesel lenf nodları ve karaciğere metastaz yaparlar. Az diferansiye alanlar içeren ve infiltratif gelişim paterni gösteren tümörlerde lenf nodu metastazı daha sık görülür. Lenf nodu metastazı varlığında tümör lenf nodu kapsülünü aşarak çevredeki venlere invazyon yapabilir, bu yüzden lenf nodu yakınındaki dokuların incelenmesi gerekir (1). Lenf nodu metastazı önemli bir prognostik faktördür. Cerrahi spesmenlerde mümkün olduğunca fazla lenf nodu ayıklanmaya çalışılmalıdır. Kolorektal kanserlerde metastatik lenf nodlarının çok büyük kısmı 5 mm'den küçüktür. Tümörün doğru olarak evrelendirilebilmesi için en az 13-17 lenf nodu ayıklanmalıdır (4).

Kan damarı invazyonu gösteren tümörlerde karaciğer metastazı daha sıktır. Diğer sık görülen metastaz yerleri; periton, akciğerler ve overlerdir. Nadir olarak santral sinir sistemi, kemik, testis, uterus ve oral kavite metastazları izlenir (4).

2.4.9 Tedavi

Kolorektal karsinomalarda standart tedavi tümörün yerleşim yerine göre şekli değişen cerrahi rezeksiyondur. Cerrahi sonrası birinci yıl içindeki düzenli endoskopik kontroller kür sağlanabilecek rekürrenslerin saptanmasında önemlidir. Kombine postoperatif radyoterapi ve kemoterapi lokal rekürrens riskini azaltır (1).

2.4.10 Prognoz

Küratif rezeksiyon sonrası 5 yıllık survey %40-60 arasında değişir. Rekürrenslerin %71'i 2 yıl içinde ve %91'i 5 yıl içinde meydana gelir. Kolorektal karsinomalarda en önemli prognostik belirleyici tümörün tanı anında yayılımı yani evresidir. Evre A da 5 yıllık survey %100, B1 de %67, B2 de %54, C1 de %43, C2 de % 23 dür (1).

Kolorektal karsinomlarda klinikopatolojik faktörler şunlardır;

1) *Yaş*: Çok genç ve yaşlılarda prognoz kötüdür. Genç hastalarda prognozun kötü olmasının nedenleri tanıdaki gecikme, olguların büyük kısmının ülseratif kolit zemininde gelişmesi ve bu yaş grubunda taşlı yüzük hücreli ve müsinöz tümörlerin daha sık görülmesidir (1,19).

2) *Cinsiyet*: Kadınlarda belirgin olarak daha iyi prognoz vardır (1).

3) *CEA kan düzeyi*: Artmış serum CEA seviyesi (>5ng/ml) olması kötü prognoz ile ilişkilidir (1).

4) *Tümör yerleşimi*: Tümör lokalizasyonunun prognozu etkisi ile ilgili birçok farklı görüş vardır. Rektum ve sigmoid tümörleri tanı sırasında daha infiltratif olduklarından prognozları genellikle daha kötüdür (2).

5) *Birden fazla tümör varlığı*: Senkron yada metakron malignitesi olan hastalarda sağ kalım oranı soliter kolorektal karsinomu olan hastalardaki sağ kalım oranı ile benzerdir (1).

6) *Lokal yayılım*: Polipte rastlantısal olarak yakalanmış fokal mikroskopik karsinomda tümör genelde mukoza ve submukozaya sınırlı olduğundan prognoz çok iyidir. Bölgesel lenf nodlarına metastaz yapan tümörler içinde de bağırsak duvarı dışına yayılım yapanlarda prognoz daha kötüdür (1).

7) *Tümör büyüklüğü*: Prognoz ile arasında korelasyon olsa da tümör büyüklüğü güvenilir bir prognostik belirleyici değildir. Tümör boyutu ve lenf nodu metastazı arasında zayıf bir ilişki vardır (1).

8) *Tümör kenarları*: Tümör kenarı non-polipoid olan tümörlerin polipoid olanlara göre daha kötü prognozu vardır (1).

9) *Obstruksiyon*: Bazı serilerde obstruksiyon varlığının Dukas evrelemesinden bağımsız kötü prognostik faktör olduğu bildirilmektedir (1,3).

10) *Perforasyon*: Prognozu kötü yönde etkilemektedir (1,3). Peritoneal kaviteye serbest perforasyon olduktan sonra kür elde edilemeyeceğini gösteren çalışmalar vardır (1).

11) *Tümör sınırı ve inflamatuvar reaksiyon*: Ekspansif sınırlı tümörü olan hastalarda prognoz infiltratif sınırlı tümörü olan hastalardan iyidir. Tümör ile komşu doku arasında inflamatuvar yanıt olması da iyi prognoz göstergesidir. Tümör stromasının eozinofiller ve S-100 proteini pozitif dendritik hücrelerle infiltrasyonu iyi prognozla ilişkilidir (1,3).

12) *Vasküler invazyon*: Ven invazyonu varlığında 5 yıllık sağ kalım süresi belirgin olarak azalır. Ekstramural damarlarda invazyon olması bağırsak duvarında lokalize damarlara göre daha anlamlıdır. Lenfatik invazyon kan damarı invazyonu kadar anlamlı değildir, fakat özellikle evre 3 hastalarda kötü prognostik faktördür (1,21).

13) *Perinöral invazyon*: Perinöral invazyon genellikle ilerlemiş hastalığın işaretidir ve diğer kötü prognostik bulgularla birlikte olma eğilimindedir (1,3).

14) *Cerrahi sınırlar*: Radial cerrahi sınır; peritonsuz yüzeydeki yumuşak doku cerrahi sınırı olarak tanımlanır ve rektal karsinomlarda lokal rekürrens için en önemli göstergedir (1,3). Total mezorektal rezeksiyon sonrası tümör radial cerrahi sınıra 2 mm den yakınsa lokal rekürrens olasılığı artar (1).

15) *Tümör kalınlığı*: “Santral deprese alan”da tümörün kalınlığının lenf nodu ve karaciğer metastazı insidansı ile orantılı olduğu bildirilmiştir (1).

16) *Mikroskopik tümör tipi*: Müsinöz karsinoma, taşlı yüzük hücreli karsinoma ve anaplastik karsinomun prognozu klasik adenokarsinomdan daha kötüdür (1,3,4,21).

17) *Histolojik Grade*: Tümörler özellikle “Low-grade” ve “High-grade” olarak sınıflandırıldığında histolojik grade ile prognoz arasında güçlü bir ilişki vardır (1).

18) *Asiner morfoloji*: Mikroasiner büyüme paterni kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (1,3,4,5,19).

19) *Anjiogenesis*: Kolorektal karsinomalarla ilgili birbirinden farklı çok sayıda çalışmada anjiogenezin nüks gelişimini öngördüğü ve sağ kalımda azalma ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (1).

20) *Evre*: Kolorektal karsinomalarda prognozu belirlemede en güçlü bulgu evredir. (1,2,3,4,5,21)

21) *Lenf nodu reaksiyonunun paterni*: Bölgesel lenf nodlarında hücre aracılı immün yanıt (artmış sayıda parakortikal immünoblastlar ve/veya sinüs histiyositozisi) gösteren hastalarda sağkalım daha fazladır (1).

22) *Lenf nodu tutulumu*: Tümör lenf nodlarına geçtikten sonra 5 yıllık sağ kalım belirgin olarak düşer. Metastatik lenf nodu sayısı arttıkça prognoz kötüleşmektedir. Bir çalışmada pozitif lenf nodu sayısı 6 dan fazla olduğunda 5 yıllık sağ kalımın % 10'dan az olduğu, metastatik lenf nodu sayısı 16 dan fazla olduğunda hastaların 5 yıl içinde kaybedildiği saptanmıştır (1).

22) *Nöroendokrin hücrelerin varlığı*: Kromogranin pozitifliği gösteren hücrelerin varlığı kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur.

24) *Müsin ilişkili antijenler*: MUC-1, Sialyl Tn, Sialyl Lewis(x) eksprese eden karsinomlarda daha agresif bir klinik olduğu gösterilmiştir. MUC-1 in bağımsız prognostik faktör olduğu gösterilmiştir.

25) *HLA-DR ekspresyonu*: HLA-DR ekspresyonu gösteren tümörlerde sağkalımın çok daha iyi olduğu saptanmıştır.

26) *DNA ploidi*: Anöploidi ve özellikle rektal karsinomalarda rekürrens arasında ilişki olduğu gösterilmiştir.

27) *Kromozom 18 q da allelik kayıp*: Bu değişikliğin güçlü negatif prognostik önemi vardır.

28) *Onkogen ekspresyonu*: Rekürren hastalığı olanlarda k-ras mutasyonunun çok daha sık olduğu gösterilmiştir. p53 overekspresyonu kötü prognoz ile ilişkilidir (bağımsız prognostik faktör). p27 ekspresyon kaybı da kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Mikrosatellit instabilitesinin bulunması sağ kalımda artma ile ilişkilidir (1).

2.5 Ki-67

Tümör oluşumu çok basamaklı bir olaydır ve hücre proliferasyonunun normal kontrol mekanizmasının bozulmasıyla başlar (22). İnvaziv karsinomun apoptozdan kurtulan hücrelerin proliferasyonu sonucunda oluştuğuna inanılmaktadır. Hücre proliferasyonu miksoid liposarkom, menenjiom ve servikal intraepitelyal neoplazi olmak üzere birçok hastalıkta prognostik marker olarak kullanılmaktadır. Hücre proliferasyonunu göstermek için çok sayıda yol vardır. Doku kesitlerinde en kolay yol immünohistokimya'dır. İmmünohistokimya'da en sık kullanılan antikor Ki-67 dir (23).

Ki-67 hücre siklusu ile ilişkili nükleer bir antijeni tanıyan monoklonal bir antikordur (22,23,24,25,26). Tümör içerisindeki proliferen hücreleri gösterme özelliğine sahiptir. Hücre siklus analizleri ile bu antijenin G1, S, G2 ve M fazlarında hücre nükleusunda bulunduğu gösterilmiştir. G0 fazındaki dinlenmedeki hücreler Ki-67 antijenini eksprese etmezler. Ki-67 hem normal hem de tümör hücrelerinde bulunduğu için verilen bir hücre popülasyonunun büyüme fraksiyonunu belirlemede güvenilir bir belirleyicidir (24).

Ki-67, 345 ve 395 kilodalton ağırlığında iki molekülden oluşan bir komplekstir ve Ki-67 geni 10. kromozom üzerinde yer alır (26).

Ki-67 proteininin fosforilasyonu ile defosforilasyonu in vivo olarak hücrelerin mitoz geçişi ile aynı zamana rastlar. Bu işlemler düzenleyici kompleks olan siklin B/cdc 2 kinaz tarafından kontrol edilir. Ki-67 proteini mitoz esnasında bu kompleks tarafından fosforile edilir. Mitozdan çıkış için de kritik komponentlerinin defosforilasyonu gereklidir (23).

Ki-67 proteininin ekspresyonu hücrenin fizyolojik fazı hakkında doğrudan bilgi vermektedir ve bu protein hücre siklusunun devamı için mutlaka gereklidir (23,24).

2.5 Galectin-3

Beta galaktozid bağlayıcı protein ailesinin bir üyesi olan galectin-3 intrasellüler ve ekstrasellüler bir lektindir. Diğer intrasellüler glikoproteinlerle, hücre yüzey molekülleriyle ve ekstrasellüler matriks proteinleriyle etkileşime girer. 3 farklı yapısal bölgeden oluşmaktadır; birincisi NH2 terminal kısım, ikincisi glisin, prolin ve tirozinden zengin tekrarlayıcı kollajen benzeri sekans, üçüncüsü COOH terminal "Carbohydrat Recognition Domain (CRD)"dir (6). 14. kromozomda yerleşen tek bir gen (LGALS3 geni) tarafından kodlanır (27).

Galectin-3 epitelyal ve immün hücrelerde yaygın olarak eksprese edilir. Normal olarak görülebildiği yerler; monosit ve makrofajlar, gastrik mukoza, kolon, meme ve prostat dokusudur. Galectin-3 ün yer aldığı neoplastik dokular ise; anaplastik large-cell lenfoma, baş

ve boyun skuamöz hücreli karsinomları, tiroid, meme, kolon, over, prostat karsinomları ve melanomadır. Anaplastik large-cell lenfomada ve tiroid karsinomunda galectin-3 ekspresyonunun belirgin olarak arttığı ve ayırıcı tanıda kullanılabileceği bildirilmiştir. Meme, over ve prostat karsinomalarında ise galectin-3 ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir (6). Kolon karsinomu ile ilgili farklı yayınlar vardır. Galectin-3 ekspresyonu seviyesi organ veya dokuya bağlı olarak değiştiği için tümör yada doku spesifik faktörlerin galectin-3 ekspresyonunu düzenlediği düşünülmektedir (6).

Galectinler sitozolde sentezlenir, fakat nükleusta veya hücre dışında da bulunabilirler. Galectin-3 nükleus ve sitoplazma arasında yer değiştirebilen bir proteindir (28,29). Nükleer lokalizasyonu ilk olarak in vitro proliferen olan fibroblastlarda gösterilmiştir, fakat replikasyondan yoksun fibroblastlarda gözlenmemiştir. Galectin-3'ün nükleusa translokasyonunun fizyolojisi hala araştırılmaktadır. N-terminal kısmının "serin" kalıntıları üzerinden fosforile olduğu gösterilmiştir. Fosforile ve fosforile olmayan galectin-3 nükleusta bulunurken, yalnızca fosforile formu sitozolde izlenir. Fosforilasyon, ligand bağlanması düzenler, antiapoptotik fonksiyon ve hücre siklus arresti ile ilişkilidir. Galectin-3'ün sitoplazmik formunun galectin-3 nükleer forma oranla daha agresif fenotiple ilişkili olduğu öne sürülmektedir (28,30).

Galectin-3'ün kanser oluşumundaki etkisi hücreler arası adezyonu düzenleme, hücre-matriks etkileşimi, apoptoz, anjiogenez ve "mRNA splicing" olmak üzere çeşitli mekanizmalarla açıklanabilir (7).

Ekstrasellüler galectin-3'ün adezyon ve metastazdan sorumlu olduğu düşünülmektedir (7). Galectin-3'ün lizozomal membran glikoproteinleri (Lamp-1 ve Lamp-2), CEA ve kolon kanseri müsinini gibi glikoproteinlerle etkileşiminin kanser hücrelerinin ekstrasellüler matrikse adezyonuna neden olduğu ileri sürülmüştür (27).

İntrasellüler galectin-3 antiapoptotik etkilidir. Apoptoz inhibisyonu için galectin-3'ün fosforilasyonu gerekmektedir. Apoptotik uyarıyı takiben galectin-3 perinükleer membrana doğru transloke olur ve mitokondrideki miktarı artar. Bu mitokondriyal hasarı ve sitokrom c salınımını engeller (8,31,32). Galectin-3, siklin E ve siklin A seviyesinin down-regülasyonuna ve p21 ile p57 seviyesinin up-regülasyonuna neden olarak hücre siklusunun geç G1 fazında durmasına neden olur. Bu duraklamanın galectin-3 aracılı apoptoz inhibisyonuna neden olduğu düşünülmektedir (33).

Galectinlerin karsinogenezdeki etkilerinden birisi de Ras proteinleri ile ilişkisidir. Galectin-3'ün K-ras'a bağlanması ve aktivasyonu onkogenik etkiye neden olur (7). Hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu ve ölümünün düzenlenmesinde sitozolik galectin-3'ün

fonksiyonu K-Ras proteinini etkilemesiyle açıklanabilir. Galectin-3'ün aktive K-Ras (K-Ras-GTP)'in selektif bağlayıcı partneri olduğu gösterilmiştir. Son veriler hücre proliferasyonu, gelişimi ve hatta antiapoptotik aktiviteye neden olan galectin-3 stimülasyonunun K-Ras/MEK (mitojen aktive protein/ERK kinaz) yolağı ile ilişkili olduğunu kanıtlamıştır (27).

Kanserdeki fonksiyonlarından birisi de anjiogenik etkisidir. Tümörün yaşamına devam edebilmesi için gerekli olan vasküler desteğin gelişimini sağlar (7). Galectin-3 ve galectin-1'in vasküler endotelial ve düz kas hücreleri için mitojenik etki gösterdiği saptanmıştır (6). Nangia ve meslektaşları galectin-3'ün in vitro olarak kapiller tüp formasyonunu stimüle ettiği ve in vivo olarak neovaskularizasyonu arttırdığını göstermişlerdir (34).

GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Olgu Seçimi:

2000-2007 yılları arasında Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Bölümünde tanı almış 33 adet kolorektal adenoma ve 25 adet adenokarsinoma olgusu çalışma kapsamına alındı. Adenokarsinoma vakalarının 12 tanesi endoskopik biyopsi materyali, 13 tanesi rezeksiyon materyali idi. Olgulara ait H-E boyalı preparatlar tekrar değerlendirilerek immünohistokimyasal inceleme için uygun bloklar seçildi. Adenokarsinomaların 13'ünde tümör komşuluğunda immünohistokimyasal değerlendirmeye imkan verecek nitelikte normal mukoza bulunmaktaydı.

Adenoma olgularının 19'u kadın (%57,57), %14'ü (%42,42) erkek idi. Yaş aralığı 28 ile 80 arasında değişmekteydi. Ortalama yaş 54 olarak saptandı. Adenokarsinoma olgularının 12'si kadın (%48), 13'ü (%52) erkek idi. Yaş aralığı 36 ile 81 arasında değişmekteydi. Ortalama yaş 61 olarak saptandı.

3.2. İmmünohistokimya:

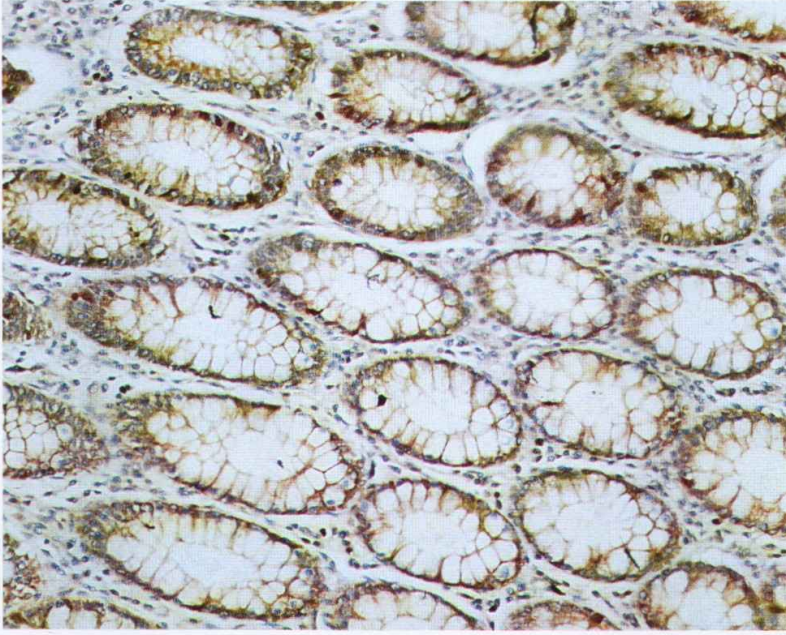
3.2.1. Ki-67 saptanması:

İmmünohistokimya için primer antikor olarak Ki-67 antikorunu (Ki-67 RM-9106-S1, Neomarkers Ltd), optimal dilüsyon olarak 1/100 oranında hazırlandı.

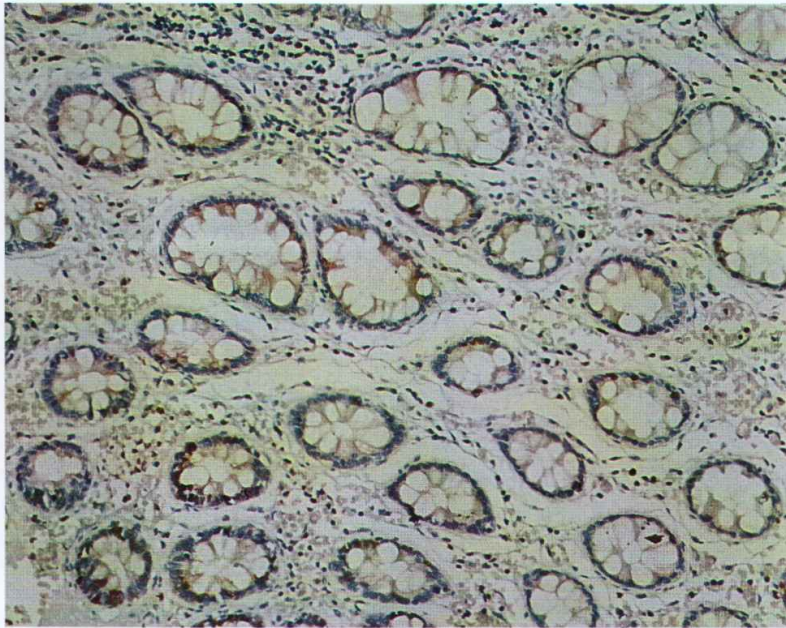
İmmünohistokimyasal inceleme için sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı.

- Seçilen bloklardan 4 µm kalınlığında kesitler adeziv lama alındı
- Preparatlar 1 gece boyunca 37 °C'de etüvde bekletildi, ertesi gün 60 °C'de 20 dakika etüvde bekletildi, değişen derecelerde alkol ve ksilenden geçirilip deparafinize edildi
- Kesitler distile su ile yıkandı
- Endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek amacıyla %3 hidrojen peroksit ile 5 dakika bekletildi
- Distile su ile yıkandı

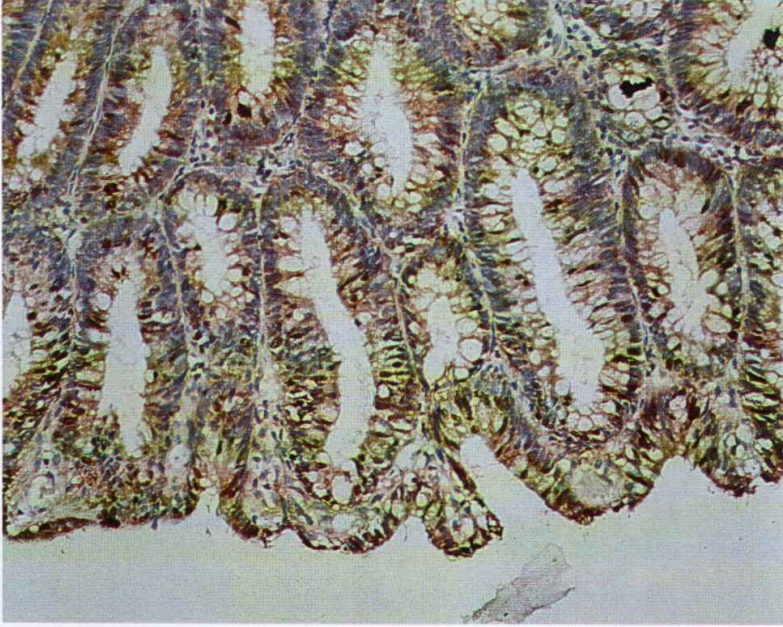
- Antijen açığa çıkarma aşaması için preparatlar EDTA tampon solusyonuna alınarak 7 dakika süreyle 750 W mikrodalga fırında kaynatıldı
- Mikrodalgadan çıkarılarak soğumaya bırakıldı
- Mikrodalga işlemi aynı şekilde tekrarlandı ve soğumaya bırakıldı
- Soğuyan preparatlar Shandon Sequenza manuel boyama istasyonuna (Shandon Scientific Limited, Astmoor, UK) dizildi. Yıkama solusyonu olarak fosfat tampon solüsyonu (PBS) kullanıldı
- Primer antikor damlatılarak oda ısısında 90 dakika inkübe edildi.
- 2 kez PBS ile yıkandı
- Biotin içeren sekonder antikor (UltraTek Anti-Polyvalent Biotinylated Antibody, Scytek Laboratories) ile 45 dakika inkübe edildi.
- 2 kez PBS ile yıkandı
- Strep-AB kompleksi (Streptavidin UltraTek HRP, Scytek Laboratories) damlatılıp, 45 dakika beklendi.
- 2 kez PBS ile yıkandı
- Diaminobenzidin (DAB) (DAB sustrate buffer [+] DAB chromogen solution [+] substrate solution system, Zymed Laboratories) damlatıldı ve 15 dakika süre ile beklentildi
- 2 kez PBS ile yıkandı
- Mayer's Hematoksilin (Modified Mayer's Hematoksilin) damlatılıp 5 dakika beklenerek karşıt boyama yapıldı.
- 2 kez PBS ile yıkandıktan sonra 5 dakika süre ile musluk suyu ile yıkandı
- Yıkanan preparatlar 2 defa alkole batırılıp çıkarıldı
- Kuruduktan sonra ksilen ile kapatıldı



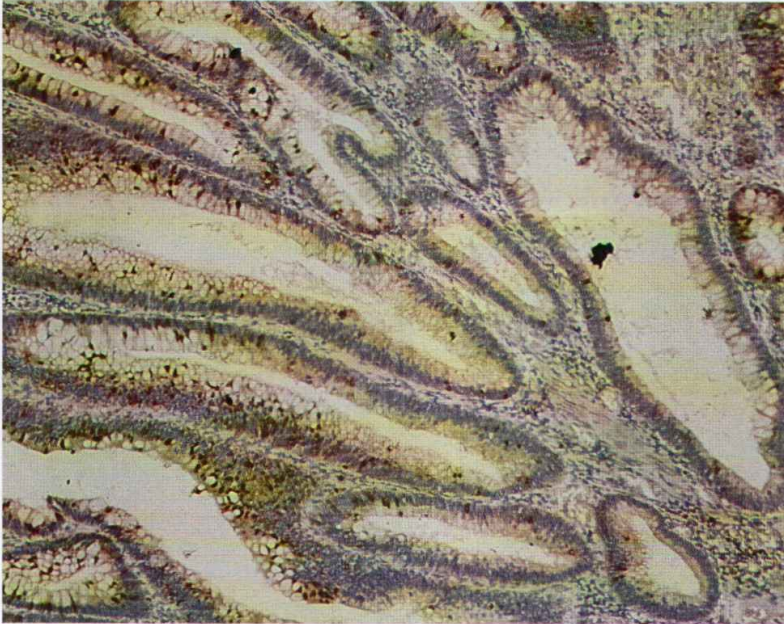
Resim 3.1: Normal kolon mukozasında Ki-67 nükleer pozitifliği (x200)



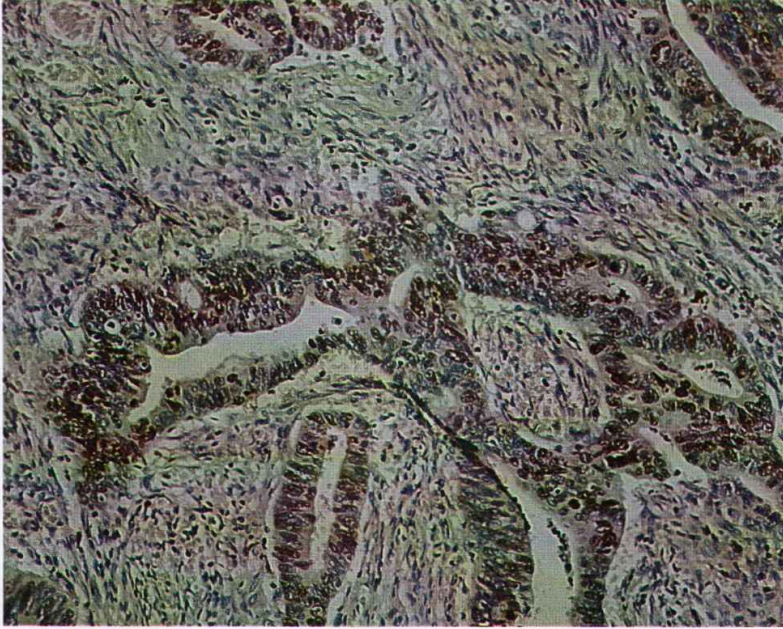
Resim 3.2: Normal kolon mukozasında nükleer Ki-67 pozitifliği (x200)



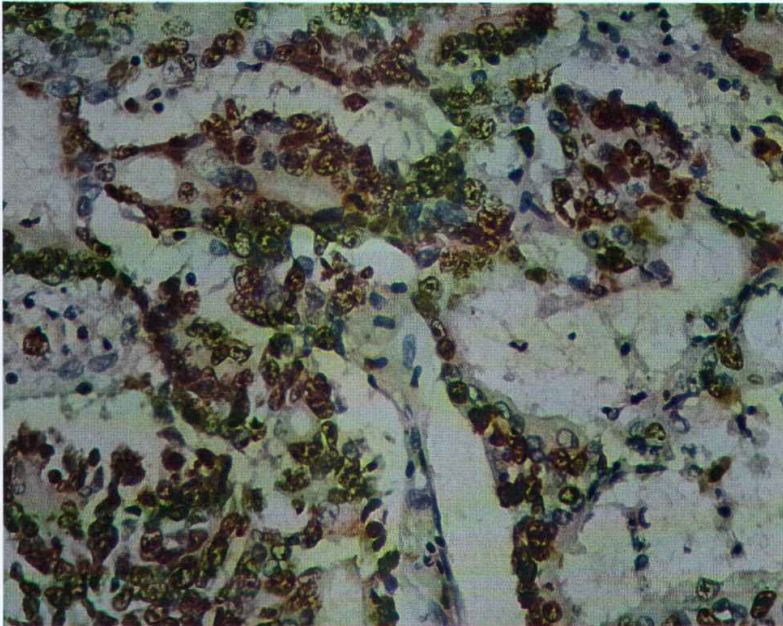
Resim 3.3: Tübüler Adenomada Ki-67 pozitifliği (x200)



Resim 3.4: Villöz adenomada Ki-67 pozitifliği (x100)



Resim 3.1: Grade 1 adenokarsinomada Ki-67 pozitifliği (x400)



Resim 3.6: Grade 2 Adenokarsinomada Ki-67 pozitifliği (x400)

2.2. Galectin-3 saptanması

İmmünohistokimya için primer antikor olarak Galectin-3 antikorunu (Galectin-3, Neomarkers Ltd.), optimal dilüsyon olarak 1/100 oranında hazırlandı.

İmmünohistokimyasal inceleme için sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı.

- Seçilen bloklardan 4 µm kalınlığında kesitler adeziv lama alındı
- Preparatlar 1 gece boyunca 37 °C'de etüvde bekletildi, ertesi gün 60 °C'de 20 dakika etüvde bekletildi, alkol ve ksilenden geçirilip deparafinize edildi
- Kesitler distile su ile yıkandı
- Endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek amacıyla %3 hidrojen peroksit ile 5 dakika bekletildi
- Distile su ile yıkandı
- Antijen açığa çıkarma aşaması için preparatlar sitrat solüsyonuna alınarak 7 dakika süreyle 750 W mikrodalga fırında kaynatıldı
- Mikrodalgadan çıkarılarak soğumaya bırakıldı
- Mikrodalga işlemi aynı şekilde tekrarlandı ve soğumaya bırakıldı
- Soğuyan preparatlar Shandon Sequenza manuel boyama istasyonuna (Shandon Scientific Limited, Astmoor, UK) dizildi. Yıkama solüsyonu olarak PBS kullanıldı
- Primer antikor damlatılarak oda ısısında 90 dakika inkübe edildi.
- 2 kez PBS ile yıkandı
- Biotin içeren sekonder antikor (UltraTek Anti-Polyvalent Biotinylated Antibody, Scytek Laboratories) ile 45 dakika inkübe edildi.
- 2 kez PBS ile yıkandı
- Strep-AB kompleksi (Streptavidin UltraTek HRP, Scytek Laboratories) damlatılıp, 45 dakika beklendi.

- 2 kez PBS ile yıkandı
- Diaminobenzidin (DAB) (DAB sustrate buffer [+] DAB chromogen solution [+] substrate solution system, Zymed Laboratories) damlatıldı ve 15 dakika süre ile bekletildi
- 2 kez PBS ile yıkandı
- Mayer's Hematoksilen (Modified Mayer's Hematoksilen) damlatılıp 5 dakika beklenerek karşıt boyama yapıldı.
- 2 kez PBS ile yıkandıktan sonra 5 dakika süre ile musluk suyu ile yıkandı
- Yıkanan preparatlar 2 defa alkole batırılıp çıkarıldı
- Kuruduktan sonra ksilen ile kapatıldı

Boyanmanın mikroskoptaki yorumunda modifiye immünohistokimyasal skor kullanıldı (35,36,37). Her bir vaka için nükleer ve sitoplazmik boyanma ayrı ayrı değerlendirildi ve H-SKOR değerleri aşağıda belirtilen şekilde hesaplandı.

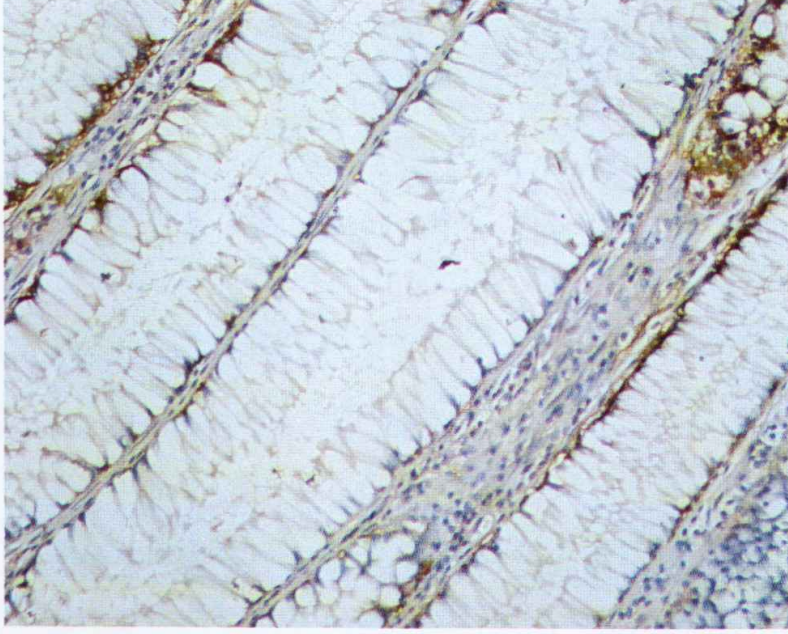
Negatif boyanan hücrelerin %'si (Skor 0) X 0

Zayıf pozitif boyanan hücrelerin %'si (Skor 1) X 1

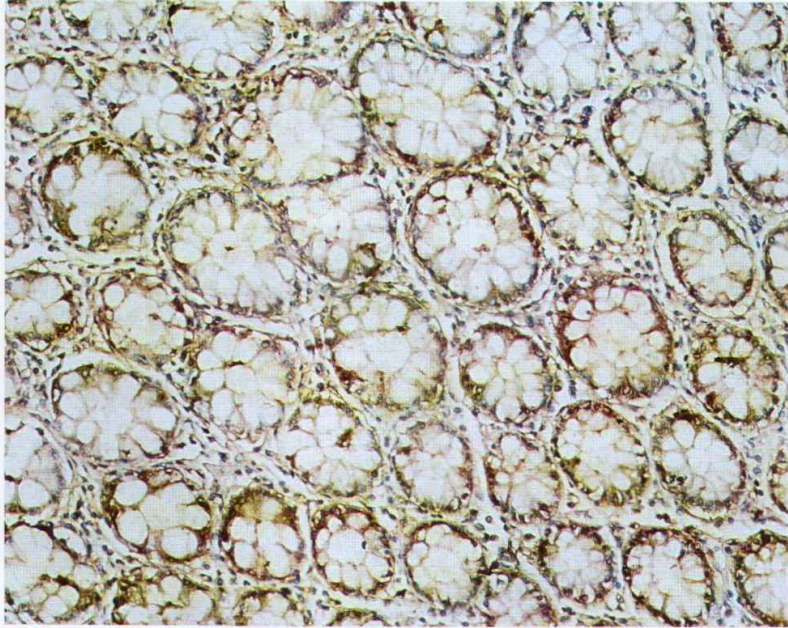
Orta derecede pozitif boyanan hücrelerin %'si (Skor 2) X 2

Güçlü pozitif boyanan hücrelerin %'si (Skor 3) X 3

H-Skoru 0-300 arasında değişebilen değerlere sahiptir. Resim 3.7, 3.8, 3.9, 3.10, 3.11, 3.12, 3.13, 3.14, 3.15, 3.16'da boyadığımız olgulardan örnekler verilmiştir.



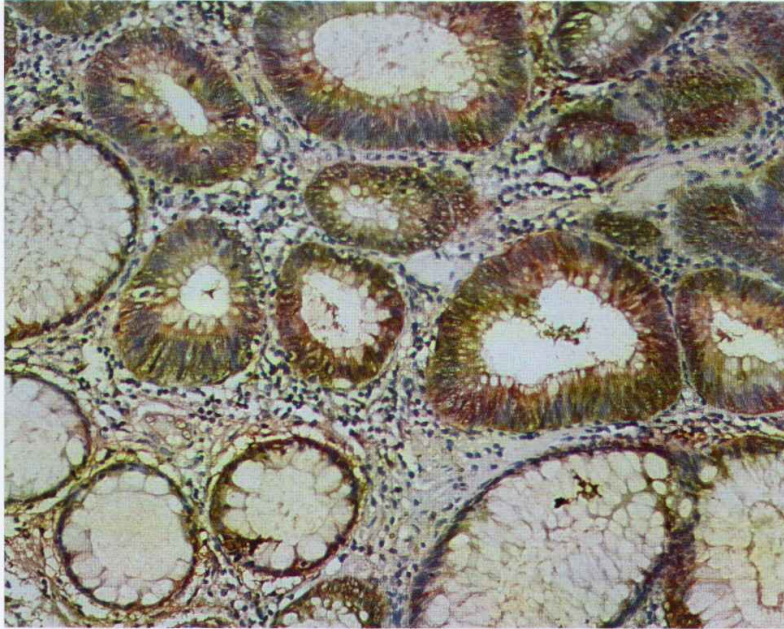
Resim 3.7: Normal kolon mukozasında nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x200)



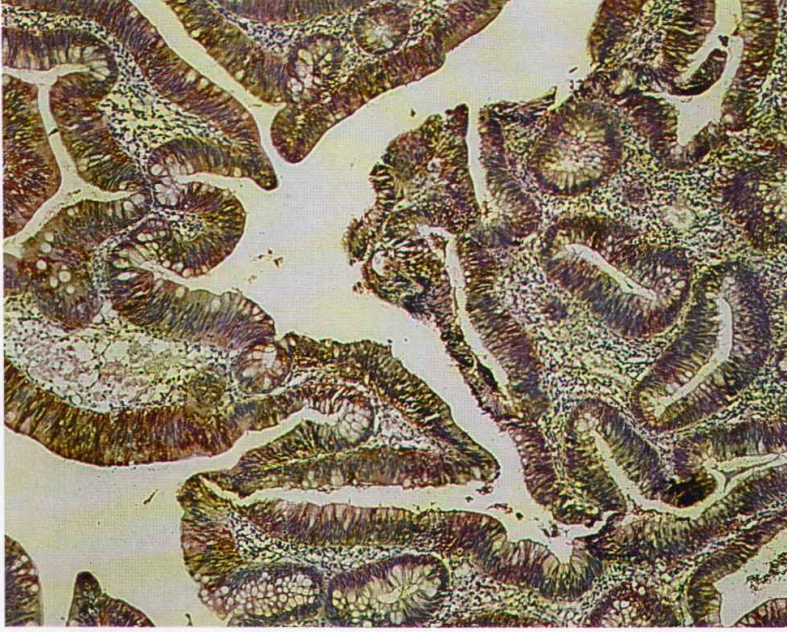
Resim 3.8: Normal kolon mukozasında nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x200)



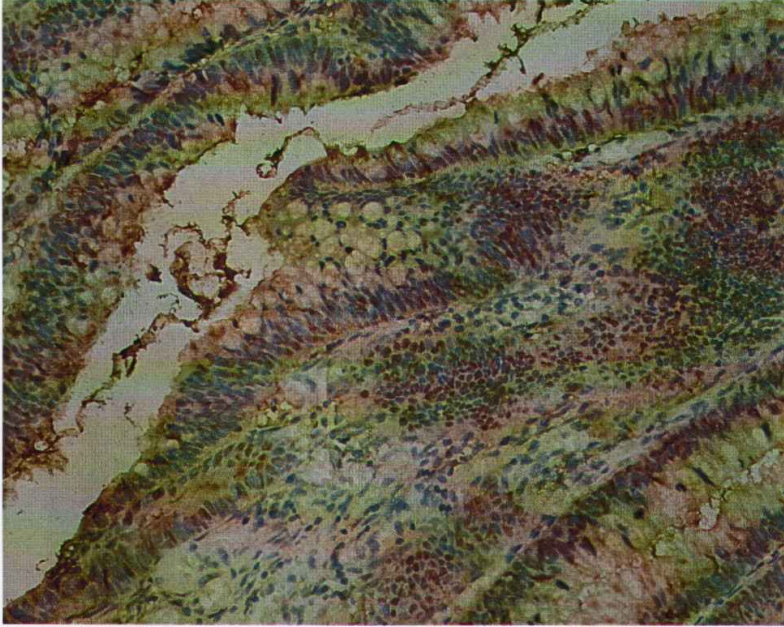
Resim 3.9: Tübüler adenomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x100)



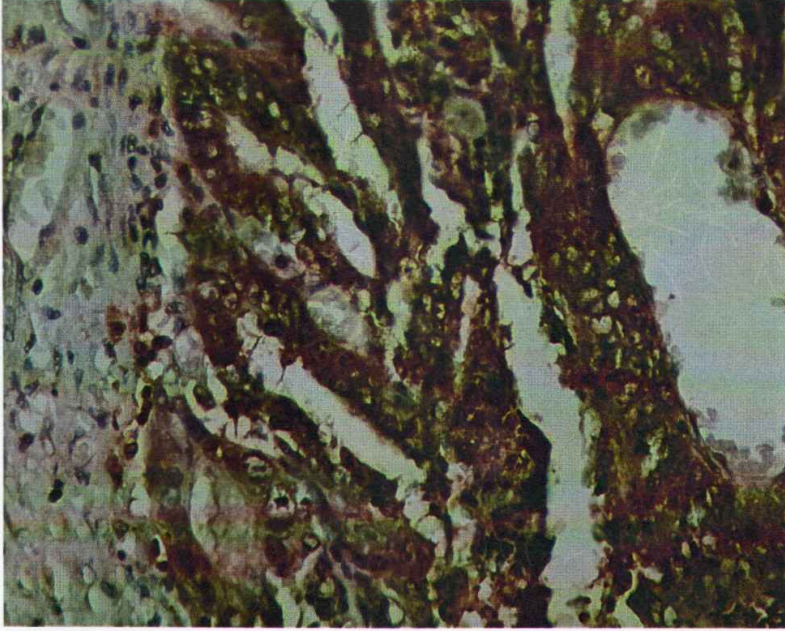
Resim 3.10: Tübüler adenomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği



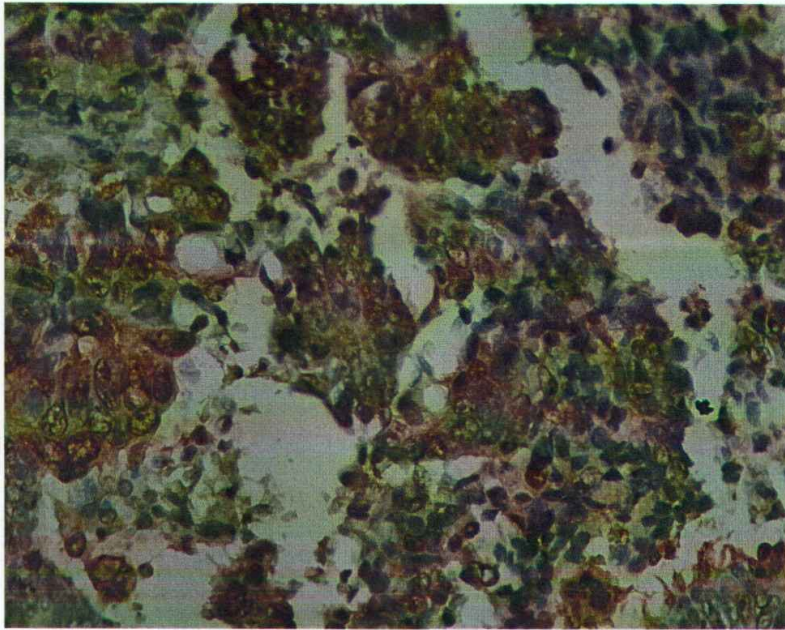
Resim3.11: Tübülövilöz adenomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x100)



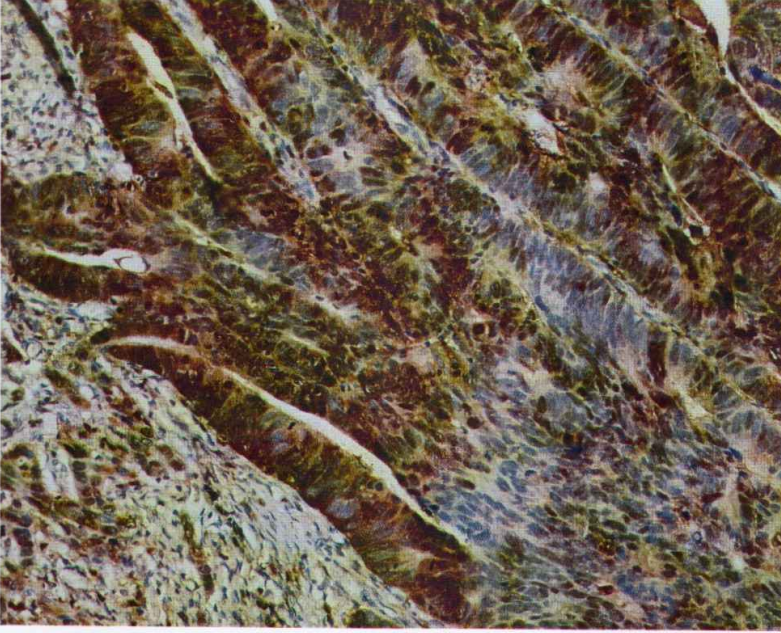
Resim 3.12: Villöz adenomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x200)



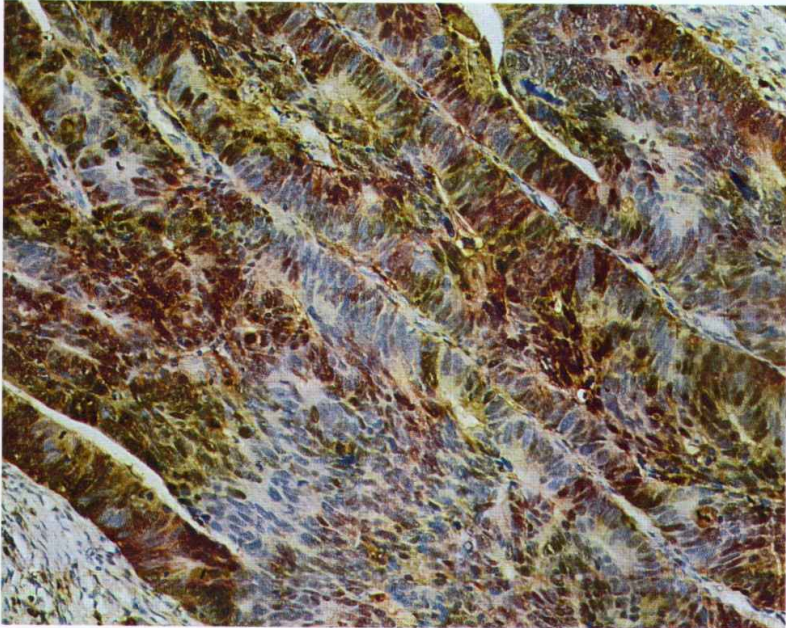
Resim 3.13: Grade 1 adenokarsinomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x200)



Resim 3.14: Grade 1 adenokarsinomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x400)



Resim 3.15: Grade 2 adenokarsinomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği(x200)



Resim 3.16: Grade 2 adenokarsinomada nükleer ve sitoplazmik galectin-3 pozitifliği (x200)

3.3. İstatistiksel Yöntem:

SPSS for Windows 15.0 istatistik programı kullanılarak yapıldı.

Tüm testlerde $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Tüm bulgular ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

Korelasyonda “Spearman’s correlation”, karşılaştırmalarda “Kruskal Wallis” ve “Mann-Whitney U” testleri kullanıldı.

3.4. Etik Kurul Kararı:

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurul başkanlığının 25.02.2008 tarihli 2008/024 numaralı kararıyla etik kurul onayı alındı.

BULGULAR

Bu çalışmaya 33 adet adenoma ve 25 adet karsinoma vakası dahil edilmiştir. Karsinoma vakalarının 13 tanesi rezeksiyon materyali iken 12 tanesi endoskopik biyopsi materyalinden oluşmaktaydı. Kolona ait rezeksiyon materyalleri bulunan olgularda tümöre komşu normal mukozada değerlendirilmiştir. Bu gruplarda incelenen parametrelerin ortalamaları tablo 4.1'de görülmektedir.

Tablo 4.1. Tüm gruplarda Ki-67 indeksi, Galectin-3 nükleer, Galectin-3 sitoplazmik H-SKOR değerleri ortalamaları

Gruplar	N	Ki-67	Galectin-3 nükleer	Galectin-3 sitoplazmik
Normal	13	9,30±5,58	32,76±30,54	88,46±42,73
Tübüler adenoma	24	29,08±16,57	53,08±24,82	110,33±30,15
Tübülovillöz adenoma	4	17,75±7,13	44,00±24,53	104,00±19,59
Villöz adenoma	5	32,00±16,80	86,40±58,43	112,00±47,51
Grade 1 adenokarsinoma	11	42,45±20,37	52,63±43,99	176,36±43,65
Grade 2 adenokarsinoma	14	62,42±16,87	66,35±44,11	163,92±52,73

Öncelikle normal-adenom-adenokarsinom sekansındaki değişiklikleri incelemek amacıyla vakalar normal, adenoma ve adenokarsinoma şeklinde gruplandırılarak istatistiksel inceleme yapılmıştır.

Tablo 4.2 Normal, adenoma ve adenokarsinoma grupları ile parametrelerin ortalamaları,

Gruplar	N	Ki 67	Galectin-3 nükleer	Galectin-3 sitoplazmik
Normal	13	9,30±5,58	32,76±30,54	88,46±42,73
Adenoma	33	28,15±15,93	57,03±33,07	109,81±31,25
Adenokarsinoma	25	53,64±20,73	60,32±43,68	169,40±48,37

Gruplar arasında Ki-67 ortalaması açısından farklılık olup olmadığı Kruskal Wallis testi yapılarak değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark gözlenmiştir ($p=0.001$) (Tablo 4.2)

Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığını bulmak üzere ikişerli gruplar arasında Mann-Whitney U testi yapılmıştır. Bunun sonucunda normal ile adenoma, adenoma ile karsinoma ve normal ile adenokarsinoma arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,001$). Ki-67 proliferasyonu gösteren bir belirleyicidir. Normal epitelden adenomatöz epitele, adenomatöz epitelden karsinoma geçtikçe proliferatif aktivite artmaktadır.

Nükleer galectin-3 H-SKOR'larının gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği izlenmiştir ($p=0,040$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığını bulmak üzere ikişerli gruplar arasında Mann-Whitney U testi yapıldığında normal ile adenoma ($p=0,017$), normal ile adenokarsinoma arasında ($p=0,028$) anlamlı farklılık saptanırken; adenoma ve adenokarsinoma grubu arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

Gruplar arasında sitoplazmik galectin-3 H-SKOR'ları açısından farklılık olup olmadığı Kruskal Wallis testi yapılarak değerlendirildiğinde, gruplar arasında fark gözlenmiştir ($p=0,001$). Mann-Whitney U testinde normal ile adenoma arasında ($p=0,006$), adenoma ile adenokarsinoma arasında ($p=0,001$) ve normal ile adenokarsinoma arasında ($p=0,001$) anlamlı farklılık saptanmıştır.

Adenomalar mikroskopik olarak yeniden değerlendirildi. 24 tanesinin tübüler, 4 tanesinin tübülovillöz ve 5 tanesinin villöz adenoma özelliğinde olduğu görüldü. Tübüler adenomaların 2'sinde ve villöz adenomaların 3'ünde yüksek dereceli displazi saptandı. Yüksek dereceli displazi görülen adenoma sayısının yeterli olmayacağı düşünülerek istatistiksel değerlendirmeye katılmadı. Tübülovillöz ve villöz adenoma vakalarının sınırlı sayıda olmaları nedeniyle tübülovillöz adenomalar da villöz adenoma grubuna dahil edildi.

Tablo 4.3 Tübüler ve villöz adenoma grupları ile parametrelerin ortalamaları

Gruplar	N	Ki-67	Galectin-3 nükleer	Galectin-3 sitoplazmik
Tübüler adenoma	24	29,08±16,57	53,08±24,82	110,33±30,15
Villöz adenoma	9	25,66±14,72	67,55±49,32	108,44±35,92

Mann Whitney U testinde tübüler ile villöz adenoma grupları arasında Ki-67, nükleer galectin-3 H-SKOR değerleri ve sitoplazmik galectin-3 H-SKOR değerleri açısından anlamlı fark izlenmedi (Tablo 4.3).

Tablo 4.4 Grade 1 adenokarsinoma ve grade 2 adenokarsinoma grupları ile parametrelerin ortalamaları

Gruplar	N	Ki-67	Galectin-3 nükleer	Galectin-3 sitoplazmik
Grade 1 adenokarsinoma	11	42,45±20,37	52,63±43,99	176,36±43,65
Grade 2 adenokarsinoma	14	62,42±16,87	66,35±44,11	163,92±52,73

Adenokarsinomalar farklılaşma derecelerine göre gruplandırıldığında Grade 1 adenokarsinoma grubunun Ki-67 indeksi 42,45±20,37 idi; Grade 2 adenokarsinoma grubunun Ki-67 ortalaması ise 62,42±16,87 idi. Ki-67 indeksi açısından iki grup arasında anlamlı farklılık vardı (p=0,013). Grade 2 adenokarsinoma grubunun Ki-67 indeksi daha yüksekti (Tablo 4.4).

Grade 1 ve grade 2 adenokarsinoma grupları arasında nükleer galectin-3 H-SKOR değerinde ve sitoplazmik galectin-3 H-SKOR değerinde anlamlı farklılık izlenmedi (Tablo 4.4).

Spearman's korelasyon analizinde normal grubunda Ki-67 ile nükleer galectin-3 ve Ki-67 ile sitoplazmik galectin-3 değerleri arasında korelasyon gözlenmezken, adenoma grubunda Ki-67 ile nükleer (p=0,01) ve sitoplazmik galectin-3 (p=0,033) değerleri arasında pozitif yönde korelasyon izlendi. Adenokarsinoma grubunda ise Ki-67 ile nükleer veya sitoplazmik galectin-3 değerleri arasında korelasyon saptanmadı.

TARTIŞMA

Kolorektal adenokarsinomalar tüm karsinomaların yaklaşık % 15'ini oluşturur (38). Kolon kanseri kanserden ölümlerin ikinci en sık nedenini oluşturmaktadır (39). Gastrointestinal sistemin malign tümörlerinin yaklaşık % 70' i kolon ve rektumda görülür. Kolon ve rektum vücutta en fazla primer neoplazinin geliştiği bölgedir (23).

Kolorektal tümörler insanda neoplastik gelişimi incelemek için çok iyi bir model oluşturmaktadır. Çok küçük adenomalardan çok büyük metastatik karsinomalara kadar ilerleyen bir spektrumda gelişimin değişik evrelerinde tümörler üzerinde çalışma imkanı vardır. Kolorektal adenoma-karsinoma sekansı insan karsinogenezi için tipik bir modeldir çünkü kolorektal karsinomların çok büyük kısmının daha önceden varolan adenom zemininde geliştiğini gösteren çok sayıda klinikopatolojik bulgu vardır (40,41,42).

Kolorektal tümör tanısı alan hastalarda rezeksiyon sonrası makroskopik tümör görülmemesine rağmen, bu hastaların yarısından fazlası rekürrens göstermekte ve hastalıkları nedeniyle ölmektedir. Bu hastalarda ek bir tedavi uygulanıp uygulanmaması barsak duvarında tümörün penetrasyon derinliğine ve lenf nodu tutulumuna bağlıdır. Son yıllarda gittikçe artan sayıda çalışma adjuvan tedaviden fayda görecekten hastaları tanımlamada çok sayıda moleküler belirleyicinin faydalı olabileceğini belirtmektedir (43).

Tümör gelişimi, hücre proliferasyonu (hücre bölünmesi) ve hücre kaybı (nekroz veya apoptoz) arasında dengesizlik sonucu meydana gelmektedir. Tümör gelişiminde hücre proliferasyonunun artması yada apoptotik hücre oranının azalması önemli rol oynar (40,43).

Çalışmamızda, normal kolon mukozası ile kolorektal adenoma ve karsinomalarda Ki-67 boyanma yüzdesi ile galectin-3 ekspresyon düzeyini ve bu iki antikorun arasındaki korelasyonu inceledik. Ki-67 pozitivitesi proliferasyonun güvenilir bir belirleyicisidir. Galectin-3'ün ise çok sayıda biyolojik olayda görevi olduğu saptanmıştır, fakat hücre proliferasyonu ile ilişkisi net olarak bilinmemektedir.

Ki-67, 1983 yılında Gerdes ve meslektaşları tarafından tanımlanmış tümör içerisindeki proliferatif hücreleri gösterme özelliğine sahip monoklonal bir antikordur. G0 ve erken G1 fazı dışında hücre siklusunun tüm evrelerinde izlenen nükleer bir antijendir (44). Ki-67 indeksi herhangi bir dokunun proliferatif aktivitesini göstermede güvenilir bir belirleyicidir, ancak klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi net olarak aydınlatılamamıştır (35). Çok sayıda çalışmada farklı tümörlerde prognostik faktörlerle ilişkisi incelenmiştir (45,46).

Baş-boyun kanserlerinde yüksek oranda Ki-67 pozitifliği gösteren tümör hücrelerinin boyuna metastaz yapma ihtimalinin arttığı ve tümörün diferansiasyonu ile boyanma düzeyinin ters orantılı olduğu izlenmiştir. Preoperatif olarak bu parametreye bakılmasının hastanın prognozu hakkında bilgi verebileceği belirtilmiştir (45). Mesane kanserlerinde Ki-67 indeksi yüksekliğinin (>%32) kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (46). Kolon tümörlerinde de prognostik önemi en sık araştırılan antikorlardan birisidir.

Johnston ve meslektaşları normal kolon mukozasında, kolorektal adenomalarda ve adenokarsinomalarda Ki-67 pozitifliğini incelemişlerdir. Normal kolon mukozasında kolonik kriptlerin alt 1/3'ü olan proliferatif zonda %32.7, orta 1/3'ü olan maturasyon zonunda % 17.8 olarak gözlenirken üst 1/3' te ve yüzey epitelinde pozitivite izlenmemiştir. Adenomalarda Ki-67 pozitif hücre sayısının yüzeyde ve derinde benzer dağılım gösterdiğini ve ortalama Ki-67 pozitif hücre yüzdesinin %45.5 olduğunu saptamışlardır. Adenomalardaki ortalama Ki-67 indeksi normal kolon kriptlerinin proliferatif zonu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Adenokarsinomalarda ise Ki-67 indeksi %66.3 olarak bulunmuş ve bu değer normal kolon mukozası ve adenomalara oranla anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. Adenomalar tübüler ve tübülovillöz olarak alt gruplara ayrılıp Ki-67 indeksi değerlendirildiğinde aralarında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Adenokarsinomalarda da Ki-67 değerinin histolojik grade yada Dukes evresi ile ilişkili olmadığı saptanmıştır (47). Biz de çalışmamızda Johnston ve meslektaşları ile uyumlu olarak normalden adenoma, adenomadan adenokarsinoma ilerledikçe Ki-67 proliferasyon indeksinin belirgin artış gösterdiğini ve bu 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğunu saptadık. Benzer şekilde Saleh ve meslektaşları da kolorektal adenokarsinomalarda ortalama Ki-67 yüzdesini adenomalara oranla anlamlı derecede yüksek saptamışlardır. Farklı olarak, karsinomalarda diferansiasyon derecesi azaldıkça Ki-67 indeksinin arttığını gözlemiş ve yine lenf nodu metastazı olmayan olgularda Ki-67 indeksini lenf nodu metastazı olanlara göre anlamlı derecede düşük saptamışlardır (22). Çalışmamızda adenokarsinoma vakalarının 13 tanesi rezeksiyon materyaline aitti, evreleme yaptığımızda bunların 8 tanesi Dukes B ve 5 tanesi Dukes C evresi ile uyumlu olduğunu izledik. Fakat Dukes B ve C evrelerindeki adenokarsinoma vakalarının sağlıklı istatistiksel çalışma yapabilmek için yeterli sayıda olmayacağını düşünerek Dukes evresi ve lenf nodu metastazı ile ilgili değerlendirme yapmadık. Saleh ve meslektaşlarının sonuçlarına paralel şekilde Grade 2 adenokarsinomalarda Grade 1 adenokarsinomalara oranla Ki-67 indeksinin daha yüksek olduğunu gözledik. Saleh ve meslektaşları adenoma grubunu kendi içinde değerlendirdiklerinde Ki-67 indeksinin tübüler adenomalarda en düşük düzeyde olduğunu, tübülovillöz adenomalarda artış gösterdiğini, villöz adenomalarda ise en yüksek

değerine ulaştığını gözlemişlerdir (22). Çalışmamızda Saleh ve meslektaşlarının aksine, Johnston ve meslektaşlarının çalışmasına benzer şekilde adenoma tipleri arasında Ki-67 indeksi açısından anlamlı fark izlemedik. Villöz adenomalarda karsinoma gelişme riski daha fazla olduğu için proliferasyonun daha fazla olmasını bekliyorduk ancak tübülovillöz ve villöz adenoma sayısının az olması, bu nedenle bu iki tipi aynı grup içinde ele almamızın bu sonuca yol açmış olabileceğini düşünmekteyiz. Bir başka olasılık olarak da Johnston ve meslektaşlarının çalışmasına benzer şekilde adenomalar arasında Ki-67 indeksinin farklı çıkmaması villöz adenomadan malignite gelişiminde proliferasyondan farklı mekanizmaların etkili olabileceği düşünülmüştür. Zheng ve meslektaşları gastrointestinal adenoma ve adenokarsinomaları inceledikleri çalışmalarında Ki-67 değerinin normal dokudan adenoma, adenomadan karsinoma geçişte anlamlı derecede artış gösterdiğini saptamışlardır. Ki-67 ekspresyonunun damar invazyonu ile korele olduğunu gözlemişler ve yüksek proliferasyon indeksinin invazyon yeteneğini arttırdığını düşünmüşlerdir (11). Woodland yaptığı çalışmada kolorektal adenomalarda proliferasyonu değerlendirmiş ve adenom tipi ile proliferasyon arasında ilişki saptamazken adenomdaki displazinin şiddeti ile orantılı olarak proliferasyon düzeyinin arttığını izlemiştir (23). Bizim çalışmamızda ise adenomaların yalnızca 5 tanesinde düşük dereceli displazi saptandığı için displazi şiddeti ile ilgili sağlıklı istatistiksel değerlendirme yapılamayacağını düşündük. Diferansiyasyon kolorektal adenokarsinomalarda kabul edilmiş bir prognostik parametredir. Bu çalışmada grade 2 adenokarsinomalarda ise grade 1'e oranla anlamlı derecede artmış Ki-67 pozitifliği izledik. Birçok çalışmada histolojik diferansiyasyon ile Ki-67 arasındaki ilişki bizim bulgularımızla benzerlik göstermektedir (11,22,48). Diğer çalışmalarla birlikte değerlendirildiğinde, yüksek Ki-67 indeksinin malign davranışı belirlemede önemli olduğu ve kötü prognozla ilişkisi bulunduğu düşünülmüştür.

Pekçok hücre ve doku tipinde saptanabilen galektinlerin farklı fonksiyonları vardır. Galectin ailesinin en çok çalışılan üyesi galectin-3'dür. İnsan vücudunda yaygın olarak bulunur. Sıklıkla ince barsak, kolon ve konjonktiva epiteli, kornea, böbrek, akciğer, timus, meme ve prostatta bulunur. Ayrıca fibroblastlarda, kondrositlerde, osteoblastlarda, osteoklastlarda, keratinositlerde, "Schwann" hücrelerinde, gastrik mukozada, endotelial hücrelerde izlenebilirler. İmmün yanıtı ilgilendiren hücrelerde de (nötrofiller, eozinofiller, bazofiller, mast hücreleri, Langerhans hücreleri, dendritik hücreler, monositler ve makrofajlar) galectin-3 ekspresyonu saptanmıştır (27). Beta galaktozid bağlayıcı protein ailesinin bir üyesi olan galectin-3 intrasellüler glikoproteinler, hücre yüzey molekülleri ve ekstrasellüler matriks proteinleri ile etkileşime giren intrasellüler ve ekstrasellüler bir lektindir (6). Galektin-3 çok sayıda tümör tipinde artmış yada azalmış seviyede bulunur. Galectin-3

ekspresyon seviyesinin organ veya dokuya bağılı olarak değişmesi tümör ya da doku spesifik faktörlerin galectin-3 ekspresyonunu düzenlediğini düşündürmektedir (6).

Kolon mukozasında ve kolon tümörlerinde galectin-3 ekspresyonları ile ilgili birbirinden farklı yayınlar vardır. Araştırmacıların bir kısmı galectin-3 ekspresyonundaki artış ile kolorektal kanser gelişimi arasında ilişki olduğunu belirtirken, bir kısmı da tümörlerde normal mukozaya oranla azalmış galectin-3 ekspresyonu olduğunu bildirmektedir. Dolayısıyla kolorektal karsinogenezdeki rolü kesin olarak ortaya konamamıştır. Galectin-3 ekspresyonunun prognostik değeri de araştırmalar arasında farklılık göstermektedir (8,49). Castronovo ve meslektaşları ile Lotz ve meslektaşları, kanserli dokudaki galectin-3 mRNA seviyesinin normal kolon mukozasına oranla daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Castronovo ve meslektaşları, karsinomalarda galectin-3 mRNA seviyesinin normal mukozaya oranla %50 oranında azaldığını saptarken, Lotz ve arkadaşlarının çalışmalarında ise bu oran 5-10 katlık bir azalma olarak bildirilmektedir. Ayrıca Dukes C ve D tümörlerde Dukes B tümörlere oranla daha düşük galectin-3 mRNA bulunduğunu izlemişlerdir. Buna neoplastik gelişim esnasında proteinin nukleustan sitoplazmaya geçişinin neden olduğunu bildirmişlerdir (8). Çalışmamızda normal mukoza ile hem adenoma hem de adenokarsinoma arasında nukleer galectin-3 H-SKORları açısından anlamlı fark izlenirken, adenoma ile adenokarsinoma arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Galectin-3'ü sitoplazmik ekspresyon açısından incelediğimizde normal ile adenom; normal ile adenokarsinom, adenoma ile adenokarsinoma arasında anlamlı fark izlenmiştir. Ancak, gerek adenoma grupları arasında gerekse adenokarsinoma grade'leri arasında nukleer ve sitoplazmik galectin-3 H-SKORları açısından anlamlı fark izlenmemiştir. Schoepner ve meslektaşları da bizim sonuçlarımıza paralel olarak adenomadan karsinoma ilerledikçe sitoplazmik galectin-3 ekspresyonunun arttığını bildirmişlerdir. Yine bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak diferansiasyon derecesi ile galectin-3 boyanma skoru arasında ilişki izlenmemişlerdir. Ek olarak, Dukes evresi ilerledikçe ve sağkalım süreleri azaldıkça galectin-3 ekspresyonunun artış gösterdiğini saptamışlardır. Ayrıca primer tümörü ve metastazını galectin-3 ekspresyonu açısından karşılaştırıldıklarında metastatik olanlarda ekspresyonun primer kansere göre anlamlı düzeyde yüksek olduğunu saptamışlardır. Bu bulgular sonucunda kolon mukozasında galectin-3 ekspresyonunun neoplastik gelişim ve metastatik progresyon ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır (50). Biz de sitoplazmik galectin-3 ekspresyonunda normal mukozaya oranla adenom ve adenokarsinomalarda daha yüksek H-SKOR değerleri saptayarak yazarların bu teorisini desteklemiş olduk. Sanjuan ve meslektaşları yaptıkları çalışmada bizden farklı olarak normal kolon mukozasında vakaların %100'ünde nukleer ve %77'sinde sitoplazmik boyanma tespit

etmişlerdir. Nükleer galectin-3 ekspresyonunun neoplastik progresyonla azaldığını saptamışlar; adenomların % 60'ında, karsinomların %48'inde ve metastazların %44'ünde güçlü pozitiflik izlemişlerdir. Ayrıca sitoplazmik ekspresyonun adenomlarda azalırken (%16), karsinomlarda tekrar yükseldiğini (%64), yine de normal mukozadaki düzeyine erişemediğini saptamışlardır. Nükleer boyanma olmadan yoğun sitoplazmik ekspresyonun karsinomun daha infiltrate ve andiferansiye alanlarında bulunduğunu saptamışlardır, bu nedenle sitoplazmik ekspresyonun lokal tümör progresyonunda potansiyel bir rolü olduğunu düşünmüşlerdir (49). Çalışmamızda, adenomdan adenokarsinoma geçişte nükleer galectin-3 ekspresyonu açısından anlamlı fark izlemeyenken, sitoplazmik galectin-3 değerinin belirgin olarak artış gösterdiğini tespit ettik. Sanjuan ve meslektaşlarının da belirttiği gibi sitoplazmik ve nükleer galectin-3 ekspresyonunun paralellik göstermemesi galectin-3'ün subsellüler lokalizasyonunun farklı biyolojik anlamları olduğunu akla getirmektedir. Bu yüzden sitoplazmik galectin-3 ekspresyonunun karsinogenezin ilerlemesinde daha önemli olduğunu düşünmekteyiz. Endo ve meslektaşları kolorektal kanser dokularında galectin-3 ün ağırlıklı olarak kanser hücre sitoplazmasında yerleştiğini gözlemişlerdir. Galectin-3 pozitifliğinin büyük tümör boyutu, derin invazyon ve kötü diferansiyasyonla korele olduğunu göstermişlerdir. Galectin-3 pozitif grupta lenfatik yayılım ve uzak metastaz daha sık izlenmiştir. 3 ile 5 yıllık sağkalım süreleri galectin-3 pozitif grupta belirgin olarak daha düşük saptanmıştır. Çok değişkenli analizler uyguladıklarında galectin-3 ekspresyonunu, Dukes Evresi ve lenf nodu metastazı ile birlikte bağımsız prognostik faktör olarak saptamışlardır (51). Nagy ve meslektaşları galectin-3 ekspresyonunun evreler arasında anlamlı fark göstermediğini, ancak Dukes A ve B tümörlerde düşük sağ kalım süresi ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Dukes C ve D tümörlerde ise galectin-3 ekspresyonu ile sağkalım süresi arasında ilişki gözlenmemiştir (52). Bu bulgular sonucunda galectin-3'ün kolorektal karsinom gelişiminde erken evrelerde etkili olduğu görüşünü ileri sürmüşlerdir. Legendre ve meslektaşları da bu görüşü destekleyerek, Dukes A ve B' de yüksek galectin-3 ekspresyonu ile kötü prognoz arasında ilişki bulunurken, Dukes C ve D' de böyle bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir (53). Çalışmamızda farklı evrelerde istatistiksel olarak değerlendirmeye imkan sağlayacak yeterli sayıda karsinom bulunmadığından evrelere göre karşılaştırma yapmak mümkün olmamıştır. Ancak literatürle uyumlu olarak adenokarsinomlarda normal mukoza ve adenomalara göre sitoplazmik galectin-3 düzeylerini artmış olarak bulmamız galectin-3'ün malignite gelişiminde ve agresiflikte önemli rolü olduğunu düşündürmüştür (51,52,53).

Meme kanserinde de kolondaki gibi birbirinden farklı sonuçlar bildirilmiştir. Hücre kültürü çalışmalarında, galectin-3 eksprese eden kanser hücrelerinde galectin-3'ün inhibe

edilmesiyle tümör gelişiminde anlamlı derecede supresyon ve agresiflikte azalma izlenmiştir (54,55). Oysa Castronovo ve meslektaşları malign lezyonlarda benignlere ve normal meme dokusuna göre galectin-3 ekspresyonunun azaldığını, özellikle aksiller lenf nodu pozitif tümörlerde bu farkın daha da belirginleştiğini ortaya koymuşlardır. Bunun sonucunda da azalmış galectin-3 ekspresyonunun invazivlik ve metastatik fenotiple ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir (56).

Benzer sonuçları Bresalier ve meslektaşları glial tümörlerdeki çalışmalarında ortaya koymuşlardır. Normal beyin dokusunda, benign tümörlerde ve grade 2 astrositomlarda galectin-3 ekspresyonu izlenmezken, anaplastik astrositomlarda orta seviyede galectin-3 ekspresyonu saptamışlardır. Glioblastoma multiformede ve metastatik tümörlerde ise güçlü pozitif boyanma gözlemişlerdir. Bunun sonucunda galectin-3 ekspresyonu ile tümör grade'i ve malignite potansiyeli arasında güçlü bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir (57).

Barbera ve meslektaşları primer pankreas kanserlerinde, metastazlarında ve normal pankreas dokusunda galectin-3 ekspresyonunu incelemişlerdir. Pankreas kanserlerinde normal pankreas hücrelerine oranla mRNA ve protein düzeyinde yüksek galectin-3 ekspresyonu olduğunu saptamışlardır. Galectin-3 seviyesi ile tümörün evresi arasında ilişki gözlemezken metastatik kanser hücrelerinde güçlü galectin-3 ekspresyonu saptamışlardır. Bu nedenle galectin-3'ün pankreas kanseri gelişiminde hem erken evrede etkisi olduğunu hem de metastaz gelişiminde rol oynadığını düşünmüşlerdir (58).

Tiroide de galectin-3'ün benign ve malign lezyonlarını ayırmada faydalı olduğunu bildiren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (59,60,61,62,63,64). Normal tiroid dokusunda ve benign lezyonlarda galectin-3 ekspresyonu izlenmezken, malign lezyonlarda sitoplazmik pozitivite gözlemlendiği bildirilmiştir (59,60,61,62,63,64).

Van Den Brule ve meslektaşları prostat dokusunda normal glandüler hücrelerin hem nükleusta hem de sitoplazmada galectin-3 eksprese ettiklerini izlemişlerdir. Malign lezyonlarda ise galectin-3 ün sitozolde eksprese edildiğini, fakat nükleusta bulunmadığını saptamışlardır. Malign hücrelerde galectin-3 ün bu şekilde dağılımı, özellikle sitoplazmik galectin-3 ekspresyonunun hastalığın progresyonuyla ilişkili olduğunu düşündürmüştür. Bunun sonucunda galectin-3 ün nükleus içindeyken antitümör etki gösterdiğini, sitoplazma içindeyken ise tümör progresyonuna katkıda bulunduğunu ileri sürmüşlerdir (65). Farklı olarak biz nükleer galectin-3' ün normalden adenoma geçişte anlamlı derecede arttığını izlerken, adenomdan adenokarsinoma geçişte anlamlı bir fark gözlemedik. Sitoplazmik galectin-3'ün ise normal-adenom-adenokarsinom sekansında sırasıyla anlamlı derecede artış gösterdiğini saptadık. Bu nedenle nükleer galectin-3'ün adenomatöz değişikliğin

başlangıcında etkili olduğunu; sitoplazmik galectin-3'ün ise hem adenomatöz değişiklik gelişiminde hem de karsinogenezin ilerlemesinde rol aldığını düşünmekteyiz.

Galectin-3'ün farklı tümörlerde farklı biyolojik etkisine örnek olarak serviks ve endometrium neoplazileri verilebilir. Serviks neoplazilerinde galectin-3 ekspresyonunun invaziv skuamöz hücreli karsinomlarda skuamöz intraepitelyal lezyonlara ve normal dokuya oranla azaldığı ve galectin-3 kaybının neoplazinin progresyonuyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Galectin-3 ekspresyonundaki azalmanın LSIL (Low-Grade Skuamöz Intraepitelyal Lezyon) den itibaren başlaması nedeniyle galectin-3 ekspresyonunun servikal karsinogenezde erken bir değişiklik olduğu ve normal servikal skuamöz hücrelerin malign transformasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (66). Van De Brule ve meslektaşları da endometrial kanser hücrelerinde bitişikteki postmenopozal endometrial hücrelerle karşılaştırıldığında galectin-3 ekspresyonunda azalma izlemişlerdir (67). Brustmann ve meslektaşlarının çalışması da bizim çalışmamızdakine benzer bir mekanizmanın endometrial lezyonlarda etkili olabileceğini düşündürmüştür. Bu çalışmada normal, hiperplastik ve neoplastik endometrial dokularda normalden hiperplaziye, hiperplaziden kansere ilerledikçe galectin-3 ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (9).

Karsinogenez ve galectin-3 ekspresyonu arasındaki ilişki ile ilgili birbirinden farklı sonuçlar bulunmasının galectin-3 ekspresyonunun tümör ya da doku spesifik faktörlerce düzenlenmesine veya kullanılan immünohistokimyasal yöntemlerin farklılığına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda kolon kanserinin prekanseröz evresi olarak kabul edilen adenomalarda galectin-3 ekspresyonunun Ki-67 ile pozitif korelasyon göstermesi neoplazi gelişiminin erken aşamalarında galectin-3'ün proliferasyonu artırarak premalign değişimi başlattığını düşündürmüştür. Bu teorimizi destekleyecek şekilde Hsu ve meslektaşları da sirotik dokunun fokal rejeneratif nodüllerinde yüksek seviyede galectin-3 ekspresyonu izlemişlerdir. Rejenere nodüllerdeki hepatositlerin hızlı proliferasyona maruz kaldığını ve galectin-3 ekspresyonunun bu proliferatif hücre durumu ile bağlantılı olabileceğini düşünmüşlerdir. Hızlı proliferatif olan hepatositlerde abondan galectin-3 ekspresyonunun bir başka nedeni de bu hücrelerin erken neoplastik süreçle ilişki olabileceğidir (68). Benzer şekilde Moutsatsos da proliferatif fibroblastlarda galectin-3 seviyesinin yüksek olduğunu saptamıştır (69). Takenaka ve meslektaşları galectin-3 DNA ile transfekte normal folliküler hücrelerde galectin-3 aşırı ekspresyonunun malignite gelişimine yol açtığını kanıtlamışlardır. Bu etki mekanizması tam olarak aydınlatılamasa da galectin-3'ün antiapoptotik fonksiyonuna bağlanmaktadır. Aynı çalışmada galectin-3 ekspresyonu ile ilgili olarak saptadıkları diğer genler;

retinoblastom(RB), “proliferating cell nuclear antigen”(PCNA) ve replikasyon faktör C (RCF) gibi hücre siklusunda G1 fazından S fazına geçişi etkileyen genlerdir. Bu nedenle galectin-3’ün hücre siklus regülasyonunda etkili olduğunu, fakat aradaki moleküler ilişkinin ileri çalışmalarla aydınlatılması gerektiğini bildirmişlerdir (70). Takenaka ve meslektaşlarının bulgularını destekleyecek şekilde biz de adenoma grubunda Ki-67 ile hem sitoplazmik hem de nükleer galectin-3 arasında pozitif yönde korelasyon izledik. Normal ve adenokarsinoma grubunda ise Ki-67 ile sitoplazmik ve nükleer galectin-3 arasında bir ilişki gözlemedik. Yalnızca adenoma grubunda saptadığımız bu korelasyon, normalden adenomatöz epitele geçişte galectin-3’ün proliferasyonu artırıcı etki gösterdiğini, karsinogenezde ise olasılıkla farklı mekanizmaların rol oynadığını akla getirmiştir.

Çalışmamız sonucunda sitoplazmik galectin-3 eksresyonunun hem normalden adenoma geçişte, hem de adenomadan karsinoma geçişte artış gösterdiği için sitoplazmik galectin-3’ün hem adenomatöz değişimde hem de malignite gelişiminde etkili olduğu sonucuna vardık. Nükleer galectin-3’ün ise yalnızca normalden adenoma geçişte artış gösterdiğini izledik, bu bulgu da nükleer galectin-3’ün adenomatöz değişikliğin erken evrelerinde etkili olduğunu akla getirmektedir. Ayrıca galectin-3’ün normal mukozadan adenoma gelişiminde proliferasyonu arttırarak etki ettiğini düşünmekteyiz. Fakat bunun kanıtlanabilmesi için daha fazla sayıda vaka içeren ve proliferasyonla ilgili başka antikörlerin de kullanılacağı daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Ki-67 indeksi normalden adenoma ve adenomadan adenokarsinoma ilerledikçe artış göstermektedir ve bu üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Artmış Ki-67 ekspresyonu kolorektal karsinogenezle ilişkilidir.
- Tübüler ve villöz adenom grupları arasında Ki-67 yüzdesi açısından anlamlı farklılık yoktur.
- Grade 2 adenokarsinomalarda Grade 1 adenokarsinomalara oranla Ki-67 indeksi daha yüksektir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Diferansiasyon kolorektal adenokarsinomalarda kabul edilmiş bir prognostik parametredir. Çalışmamızda diferansiasyon derecesi azaldıkça artmış Ki-67 indeksi saptadığımız için, Ki-67 indeksinin prognostik bir parametre olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.
- Sitoplazmik galectin-3 H-SKOR normalden adenoma ve adenomdan adenokarsinoma ilerledikçe belirgin olarak artmaktadır. Bu nedenle sitoplazmik galectin-3'ünde kolorektal karsinogenezde önemli olduğunu, adenomatöz değişimde ve malignite gelişiminde etkili olduğunu düşünüyoruz.
- Normalden adenoma geçişte nükleer galectin-3 H-SKOR artmaktadır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Adenomadan adenokarsinoma geçişte nükleer galectin-3 H-SKOR açısından anlamlı fark izlenmemiştir. Bu sonuç nükleer galectin-3'ün yalnızca adenomatöz değişikliğin erken evrelerinde önemli olduğunu akla getirmiştir.
- Tübüler ve villöz adenom grupları arasında nükleer ve sitoplazmik galectin-3 H-SKOR açısından anlamlı farklılık yoktur.
- Grade 1 adenokarsinoma ve grade 2 adenokarsinoma grupları arasında nükleer ve sitoplazmik galectin-3 H-SKOR ortalama değerleri açısından anlamlı farklılık yoktur.
- Normal grubunda Ki-67 ile sitoplazmik galectin-3 ve Ki-67 ile nükleer galectin-3 arasında ilişki izlenmedi. Adenoma grubunda Ki-67 ile sitoplazmik galectin-3 ve Ki-67 ile nükleer galectin-3 arasında korelasyon saptandı. Adenokarsinoma grubunda ise Ki-67 ile nükleer veya sitoplazmik galectin-3 arasında ilişki izlenmedi. Bu nedenle galectin-3'ün adenoma gelişiminde proliferasyonu arttırarak etki gösterdiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- 1- Rosai J. Gastrointestinal Tract, Large Bowel. In: Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, Mosby, 9 th ed. 2004: p776-855
- 2- Liu C., Crawford JM. The Gastrointestinal Tract. In: In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N. (eds). Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Elsevier Saunders, Philadelphia, 7th ed. 2005: p856-870.
- 3- Hamilton SR., Vogelstein V., Kudo S., Riboli E., Nakamura S., Hainaut P., Rubio CA., Sobin LH., Fogt F., Winawer SJ., Goldgar DE., Jass JR. Tumours of the Colon and Rectum In: Hamilton SR., Aaltonen LA (eds) World Health Organization Classification of Tumours Pathology and Genetics of Tumours of Digestive System IARC Press Lyon, France, 1 st ed, 2000:p103-143
- 4- Cooper HS. Intestinal neoplasms. In: Mills SE., Carter D., Reuter VE., Greenson JK., Oberman HA., Reuter V., Stoler MH. (eds). Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 4th ed. 2004: vol 2, p34; 1543-1601
- 5- Epithelial Tumours of the Large Intestine. In: Day DW., Jass JR., Price BA., Shepherd NA., Sloan JM., Warren BF., Williams GT. Talbot IC. Warren BF. (eds). Morson and Dowson's Gastrointestinal Pathology, Blackwell Science, 4 th ed. 2003: p551-609
- 6- Takenaka Y., Fukumori T., Raz A. Galectin 3 and Metastasis Glycoconjugate Journal 2004; 19: 543-549
- 7- Roland JP. Inhibition and Detection of Galectins. ChemBioChem 2006; 7: 721-728
- 8- Krzeslak A., Lipinska A. Galectin-3 as a Multifunctional Protein Cellular & Molecular Biology Letters 2004; 9: 305-328

9- Brustmann H., Riss D., NaudeS. Galectin-3 Expression in Normal, Hyperplastik and Neoplastik Endometrial Tissues Pathology Research and Practice 2003; 199: 151-158

10- Coli A., Bigotti G., Zucchetti F., Negro F., Massi G. Galectin-3, a marker of well-differentiated thyroid carcinoma, is expressed in thyroid nodules with cytological atypia Histopathology 2002; 40: 80-87

11- Zheng H., Tsuneyema K., Cheng C., Takahashi H., Cui Z., Murai Y., Nomoto K., Takano Y. An Immunohistochemical Study of P53 and Ki-67 in Gastrointestinal Adenoma and Adenocarcinoma using Tissue Microarray 2006; 26: 2353-2360

12- Dahl J., Greenson JK. Colon In: Mills SE. (eds) Histology for Pathologists. Lippincott Williams & Wilkins, 3 rd ed. 2007: p627-648.

13- Ponz De Leon M., Di Gregorio C. Pathology of Colorectal Cancer Digestive and Liver Disease 2001; 33: 372-388

14- Odze RD., Noffsinger AE. Neoplastic Diseases of the Small and Large Intestines. In: Silverberg SG., DeLellis RA., Frable WJ., Livolsi VA., Wick MR. (eds) Silverberg's Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology, Churchill Livingstone Elsevier, 4 th ed. 2006: p1419- 1464

15- Leslie A., Carey FA., Pratt NR., Steele RJC. The Colorectal Adenoma-Carcinoma Sequence British Journal of Surgery 2002; 89: 845-860

16- Kumar V, Abbas AK, Fausto N.. Neoplasia. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N. (eds). Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Elsevier Saunders, Philadelphia, 7th ed. 2005: p269-342.

17- Fodde R. The APC Gene in Colorectal Cancer. European Journal of Cancer 2002; 38: 867-871.

18- Bozdoğan Ö. Neoplastik Hastalıklar ve Onkogenez In: Bozdoğan Patoloji, Nobel, 1. Baskı 2007: sayfa 165-207.

- 19- Kim GP., Colangelo LH., Wieand HS., Paik S., Kirsch IR., Wolmark N., Allegra CJ. Prognostic and Predictive Roles of High-Degree Microsatellit Instability in Colon Cancer: A National Cancer Institute-National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Collaborative Study 2007; 25: 767-772.
- 20- Lynch HT.,Chapelle A. Genetic Susceptibility to Non-polipozis Colorectal Cancer. *Journal of Medical Genetics* 1999; 36: 801-818
- 21- Jass JR. Tumours of the Intestines In: Fletcher CDM. *Diagnostic Histopathology of Tumors*. Harcourt Publishers 2002; p: 369-410.
- 22- Saleh HA., Jackson H., Banerjee M. Immunohistochemical Expression of bcl-2 and p53 Oncoproteins: Correlation with Ki-67 Proliferation Index and Prognostic Histopathologic parameters in Colorectal Neoplazi. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology* 2000; 83: 175-182
- 23- Woodland JG. CDX-2 and MIB-1 Expression in the Colorectum: Correlation with Morphological Features of Adenomatous Lesions. *British Journal of Biomedical Science* 2006; 63: 68-73
- 24- Scholzen T., Gerdes J. The Ki-67 Protein: From the Known and the Unknown. *Journal of Cellular Physiology* 2000; 182: 311-322
- 25- Endl E., Gerdes J. The Ki-67 Protein: Fascinating Forms and an Unknown Function. *Experimental Cell Research* 2000; 257: 231-237
- 26- Schwarting R. Little missed markers and Ki-67. *Labaratory Investigaton* 1993; 68: 597-599
- 27- Dumic J., Dabelic S., Flögel M. Galectin-3: An open-ended story *Biochimica et Biophysica Acta* 2006; 1760: 616-635
- 28- Califice S., Castronovo V., Brule FVD. Galectin-3 and Cancer *International Journal of Oncology* 2004; 25: 983-992

- 29- Nakahara S., Oka N., Raz A. On the Role of Galectin-3 in Cancer Apoptosis. *Apoptosis* 2005; 10: 267-275
- 30- Yoshii T., Fukumori T., Honjo Y., Inohara H., Choi-Kim HR, Raz A. Galectin-3 Phosphorylation Is Required for Its Antiapoptotic Function and Cell Cycle Arrest The *Journal of Biological Chemistry* 2002; 277:6852-6857
- 31- Yu Fei., Finley RL., Raz A., Choi Kim HR. Galectin-3 Translocates to the Perinuclear Membrans and Inhibits Cytochrome c Release from the Mitochondria The *Journal of Biological Chemistry* 2002; 277:15819-15827
- 32- Yang RY., Liu FT. Galectins in Cell Growth and Apoptosis. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2003; 60:267-276.
- 33- Choi-Kim HR., Lin H-M, Biliran H., Raz A. Cell Cycle Arrest and İnhibition of Anoikis by Galectin-3 in Human Breast Cancer Research 1999; 59: 4148-4154
- 34- Nangia MP., Honjo P., Sarvis R., Akahani S., Hogan V., Pienta KJ., Raz. Galectin-3 Induces Endothelial Cell Morphogenesis and Angiogenesis. *Am J Path* 2000; 156: 899-909.
- 35- Bozdoğan Ö., Atasoy P., Bozdoğan N., Erekul S., Batislam E., Yılmaz E., Başar M. BAG-1 Expression in Hyperplastic and Neoplastic Prostate Tissue: Is there Any Relationship with BCL-Related Proteins and Androgen Receptor Status?. *Tumori* 2005; 91: 539-545.
- 36- Atasoy P., Bozdoğan Ö., Erekul S., Bozdoğan N., Bayram M. Fas-Mediated Pathway and Apoptosis in Normal, Hyperplastic and Neoplastic Endometrium. *Gynecologic Oncology* 2003; 91: 309-317.
- 37- Nyholm HCJ., Nielsen AL., Lyndrup J., Driesler A., Thorpe SM. Estrogen and Progesterone Receptors in endometrial carcinoma: Comparison of immunohistochemical and biochemical analysis. *Int J Gynecol Pathology* 1993: 12:246-252.

38- Giatromanolaki A., Stathopoulos GP., Tsiobanou E., Papadimitriou C., Georgoulas V. Combined Role of Tumor Angiogenesis, bcl-2, and p53 Expression of Patients with Colorectal Carcinoma. *Cancer* 1999; 86: 1421-1430

39- Cappell MS. The Pathophysiology, Clinical Presentation, and Diagnosis of Colon Cancer and Adenomatous Polyps *Med Clin N Am* 2005; 89: 1-42

40- Kim Y-H., Lee JH., Chun H., Nam S-J., Lee W-Y., Kwon O., Hyun JG. Apoptosis and Its Correlation With Proliferative Activity in Rectal Cancer *Journal of Surgical Oncology* 2002; 79: 236-242.

41- Yang H-B., Hsu P-I., Chan S-H., Lee J-C., Shin J-S., Chow N-H. Growth Kinetics of Colorectal Adenoma-Carcinoma Sequence: An Immunohistochemical Study of Proliferating Cell Nuclear Antigen Expression. *Human Pathology* 1996; 27: 1071-1076.

42- Li JQ., WuF., Usuki H., Kubo A., Masaki T., Fujita J., Bandoh S., Saoo K., Takeuchi H. Loss of p57(KIP2) is Associated with Colorectal Carcinogenesis *International Journal of Oncology* 2003; 23: 1537-1543

43- Rosati G., Chiacchio R., Reggiardo G., Sanctis DD., Manzione L. Thymidylate Synthase Expression, p53, bcl-2, Ki-67 and p27 in Colorectal Cancer: Relationships with Tumour Recurrence and Survival *Tumor Biology* 2004; 25: 258-263

44- Gerdes J., Lemke H., Baisch H. Wacker H., Schwab U., Stein H. Cell Cycle Analysis of a Cell Proliferation-Associated Human Nuclear Antigen Defined by Monoclonal Antibody Ki-67. *The Journal of Immunology* 1984; 133: 1710-1715.

45- Liu M., Lawson G., Delos M., Jamart J., Ide C., Coche E. Predictive Value of the Fraction of Cancer Cells Immunolabeled for Proliferating Cell Nuclear Antigen or Ki-67 in Biopsies of Head and Neck Carcinomas to Identify Lymph Node Metastasis: Comparison with Clinical and Radiologic Examinations. *Head&Neck* 2003: 280-288.

46- Tsuji M., Kojima K., Murakami Y., Kanayama H., Kagawa S. Prognostic value of Ki-67 antigen and p53 protein in urinary bladder cancer: immunohistochemical analysis of radical cystectomy specimens. *British Journal of Urology* 1997; 76: 367-372.

47- Johnston PG., O'Brien MJ., Dervan PA., Carney DN. Immunohistochemical Analysis of Cell Kinetic Parameters in Colonic Adenocarcinomas, Adenomas and Normal Mucosa. *Human Pathology* 1989; 20: 696-700

48- Saleh HA., Jackson H., Khatib C., Banerjee M. Correlation of bcl-2 Oncoprotein Immunohistochemical Expression with Proliferation Index and Histopathologic Parameters in Colorectal Neoplasia *Pathology Oncology Research* 1999; 5: 273-299

49- Sanjuan X., Fernandez PL., Castells., Castronovo V., Van Den Brule F., Liu FT., Cardesa A., Campo E. Differential Expression of Galectin 3 and Galectin 1 in Colorectal Cancer Progression *Gastroenterology* 1997; 113: 1906-1915.

50- Schoeppner HL., Raz A., Ho SB., Bresalier RS. Expression of an Endogenous Galactose-Binding Lectin Correlates with Neoplastic Progression in the Colon Cancer 1995; 75: 2818-2826

51- Endo K., Kohnoe S., Tsujita E., Watanabe A., Nakashima H., Baba H., Maehara Y. Galectin-3 Expression is a Potent Prognostic Marker in Colorectal Cancer *Anticancer Research* 2005; 25: 3117-3122.

52- Nagy N., Legendre H., Engels O., Andre S., Kaltner H., Wasano K. Refined Prognostic Evaluation in Colon Carcinoma Using Immunohistochemical Galectin Fingerprinting *Cancer* 2003; 97: 1849-1858

53- Legendre H., Decaestecker C., Nagy N., Hendlisz A., Schüring MP., Salmon I., Gabius H-J. Prognostic Values of Galectin-3 and the Macrophage Inhibitory Factor (MIF) in Human Colorectal Cancers. *Modern Pathology* 2003; 16: 491-504

54- Honjo Y., Nangia-Makker P., Inohara H., Raz A. Down-Regulation of Galectin-3 Suppresses Tumorigenicity of Human Breast Carcinoma Cells. *Clinical Cancer Research* 2001; 7: 661-668.

55- Song YK., Billiar TR., Lee YJ. Role of Galectin-3 in Breast Cancer Metastasis: Involvement of Nitric Oxide. *American Journal of Pathology* 2002; 160: 1069-1075.

56- Castronovo V., Van Den Brule FA., Jackers P., Clausse N., Liu FT., Gillet C., Sobel ME. Decreased Expression of Galectin-3 is Associated with Progression of Human Breast Cancer. *Journal of Pathology* 1996; 173: 43-48

57- Bresalier RS., Yan PS., Byrd JC., Lotan R., Raz A. Expression of the Endogenous Galactose-Binding Protein Galectin-3 Correlates with the Malignant potential of Tumours in the Central Nervous System Cancer 1997; 80:776-787

58- Berberat PO., Friess H., Wang L., Zhu Z., Bley T., Frigeri L., Zimmermann A., Büchler MW. Comparative Analysis of Galectins in Primary Tumors and Tumor Metastasis in Human Pancreatic Cancer. *The Journal of Histochemistry&Cytochemistry* 2001; 49: 539-549

59- Kawachi K., Matsushita Y., Yonezawa S., Nakano S., Shirao K., Natsugoe S., Sueyoshi K., Aikou T., Sato AE. Galectin-3 Expression in Various Thyroid Neoplasms and Its Possible Role in Metastasis Formation. *Human Pathology* 2000; 31:428-433.

60- Herrmann ME., LiVolsi VA., Pasha TL., Roberts SA., Wojcik EM., Baloch ZW. Immunohistochemical Expression of Galectin-3 in Benign and Malignant Thyroid Lesions *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 2002; 126: 710-713

61- Saggiorato E., Cappia S., De Giulì P., Mussa A., Pancani G., Craci P., Angeli A., Orlandi F. Galectin-3 as a Presurgical Immunocytodiagnostic Marker of Minimally Invasive Follicular Thyroid Carcinoma *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2001; 86: 5152-5158

62- Inohara H., Honjo Y., Yoshii T., Akahani S., Yoshida J., Hattori K., Okamoto S., Sawada T., Raz A., Kubo T. Expression of Galectin-3 in Fine-Needle Aspirates as a

Diagnostic Marker Differentiating Benign from Malignant Neoplasms. *Cancer* 1999; 85: 2475-2484

63- Orlandi F., Saggiorato E., Pivano G., Puligheddu B., Termine A., Cappia S., De Giuli P., Angeli A. Galectin-3 is a Presurgical Marker of Human Thyroid Carcinoma *Cancer Research* 1998; 58: 3015-3020

64- Faggiano A., Talbot M., Lacroix L., Bidart JM., Baudin E., Schlumberger M., Caillou B. Differential Expression of Galectin-3 in Medullary Thyroid Carcinoma and C-Cell Hyperplasia *Clinical Endocrinology* 2002; 57: 813-819

65- Van Den Brule FA., Waltrengy D., Liu Ft., Castronovo V. Alteration of the Cytoplasmic/Nuclear Expression Pattern of Galectin-3 Correlates with Prostate Carcinoma Progression *Internal Journal of Cancer* 2000; 89: 361-367

66- Lee JW., Song SY., Choi JJ., Choi CH., Kim TJ., Kim J., Lee JH, Kim BG., Bae DS. Decreased Galectin-3 Expression during the progression of cervical neoplasia *J Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132: 241-247

67- Van Den Brule FA., Buicu C., Berchuck A., Bast RC., Deprez M., Liu FT., Cooper DNW., Pieters C., Sobel ME., Castronovo V. Expression Of the 67-kD laminin receptor, Galectin-1 and galectin-3 in Advanced Human Uterin Adenokarsinoma *Human Pathology* 1996; 27: 1185-1191

68- Hsu DK., Dowling CA., Jeng KCG., Chen JT., Yang RY., Kiu FT. Galectin-3 Expression is Induced in Cirrhotic Liver and Hepatocellular Carcinoma *Internal Journal of Cancer* 1999; 81:519-526

69- Moutsatsos IK., Wade M., Schindler M., Wang JL. Endogenous Lectins from Cultured Cells: Nuclear Lokalization of Carbohydrate-Binding Protein 35 in proliferating 3T3 fibroblasts. *Proc Natl. Acad. Science* 1987; 84: 6452-6456