

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KOLON ADENOKARSİNOMLARINDA D2-40
İMMÜNREAKTİVİTESİNİN KLİNİKOPATOLOJİK
PARAMETRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Levent YILDIRIM

**DANIŞMAN
Yrd.Doç.Dr. M. Emin GÜLDÜR**

**ŞANLIURFA
2009**

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, uzmanlık tezimin yürütülmesi sırasında değerli düşünce ve katkılarıyla bana destek olan sayın hocam Yrd. Doç.Dr. M. Emin GÜLDÜR'e teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Uzmanlık eğitimim süresi boyunca her konuda yardımlarını esirgemeyen sayın hocalarım Doç. Dr. Muharrem BİTİREN ve Doç. Dr. H. İlyas ÖZARDALI'ya şükranlarımı sunarım. Sevgili asistan arkadaşlarım Dr. Arzu SİZGEN, Dr. Özgül VURUPALMAZ, Dr. Hüseyin METİNEREN, Dr. Sezen KOÇARSLAN ve Dr. Zeynep TARİNİ ile laboratuvarımızda görev yapan Biyolog Dilnur DİNÇOĞLU, Tekn. İsmail ÇETİNTAŞ, Tekn. Vedat AKSU ve Tekn. Fedai AKPOLAT'a desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Tezimin her aşamasında gösterdikleri anlayıştan ve esirgemedikleri desteklerinden dolayı eşim Selda YILDIRIM'a ve biricik kızlarım Deniz ve İnci YILDIRIM'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | SAYFA |
|---|-------|
| TEŞEKKÜR | I |
| İÇİNDEKİLER | II |
| ŞEKİL DİZİNİ | IV |
| TABLO LİSTESİ | VI |
| KISALTMALAR | VII |
| ÖZET | VIII |
| ABSTRACT | X |
| 1- GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2- GENEL BİLGİLER | 2 |
| 2.1. Anatomi | 2 |
| 2.1.1. Kan Dolaşımı | 4 |
| 2.1.2. Lenfatik Drenaj | 7 |
| 2.1.3. İnnervasyon | 8 |
| 2.2. Embriyoloji | 8 |
| 2.3. Histoloji | 9 |
| 2.4. Fizyoloji | 10 |
| 2.5. Kolorektal Tümörler | 11 |
| 2.5.1. Kolorektal Tümörlerde Histolojik Sınıflandırma | 11 |
| 2.5.2. Epidemiyoloji | 13 |
| 2.5.3. Etyoloji | 13 |
| 2.5.4. Kolorektal Karsinogenez | 15 |
| 2.5.5. Lokalizasyon | 16 |
| 2.5.6. Klinik Bulgular | 16 |
| 2.5.7. Makroskopik Bulgular | 17 |
| 2.5.8. Mikroskopik Bulgular | 17 |

| | |
|---|----|
| 2.5.9. Histolojik Grade | 19 |
| 2.5.10. Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Bulgular | 20 |
| 2.5.11. Moleküler Genetik | 20 |
| 2.5.12. Tümör Yayılımı ve Metastaz | 20 |
| 2.5.13. Evreleme | 21 |
| 2.5.14. Tedavi | 22 |
| 2.5.15. Prognoz | 22 |
| 2.6. D2-40 | 24 |
| 3- GEREÇ VE YÖNTEMLER | 26 |
| 3.1. Materyallerin Elde Edilmesi ve Uygun Parafin Blok Seçimi | 26 |
| 3.2. Boyasız Kesitler ve Deparafinizasyon | 26 |
| 3.3. İmmünohistokimyasal Boyama | 27 |
| 3.4. Skoreleme | 28 |
| 3.5. İstatistik | 28 |
| 4- BULGULAR | 29 |
| 4.1. Genel Bulgular | 29 |
| 4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular | 32 |
| 5- TARTIŞMA | 42 |
| 6- SONUÇ | 48 |
| 7- KAYNAKLAR | 49 |

ŞEKİL DİZİNİ

| | SAYFA |
|--|--------------|
| Şekil 2.1. Kolonun bölümleri | 2 |
| Şekil 2.2. Çekum ve ileoçekal valvin anatomisi | 3 |
| Şekil 2.3. Kolonun arterleri | 6 |
| Şekil 2.4. Kolonun lenfatik drenajı | 7 |
| Şekil 2.5. 1-Ön barsak, 2-Mide, 3-Son barsak, 4-Orta barsak, 5-Faringeal barsak, 6-Özefagus, 7-Trakeobronşial divertikül, 8-Bukkofaringeal membran, 9-Kloakal membran, 10-Stomodeum, 11-Kloak, 12-Safra kesesi, 13-Karaciğer, 14-Pankreas, 15-Vitellin kanal, 16-Allantois | 9 |
| Şekil 2.6. Kolorektal karsinomlarda adenom-karsinom süreci | 16 |
| Şekil 4.1. İyi diferansiye kolon adenokarsinomunda neoplastik gland yapıları (H&E, x100) | 30 |
| Şekil 4.2. Orta diferansiye kolon adenokarsinomunda neoplastik glandüler yapılar ve lümenlerindeki selüler debriler (H&E, x200) | 31 |
| Şekil 4.3. Az diferansiye kolon adenokarsinomunda atipik tümöral hücrelerin bir araya gelmesinden oluşan solid tümöral alanlar (H&E, x400) | 31 |
| Şekil 4.4. D2–40 immün boyası ile pozitiflik gösteren lenfatikler (büyük ok), yanısıra kan damarlarında D2–40 immünoaktivitesinin yokluğu (küçük ok), ayrıca orta derece yoğunlukta inflamatuvar infiltrasyon (İHK, x200) | 34 |
| Şekil 4.5. D2–40 immün boyası ile pozitiflik gösteren lenfatik damarlar içerisindeki tümöral hücreler (ok) (İHK, x200) | 34 |
| Şekil 4.6. Peritümöral alanda D2–40 immün boyası ile boyanan lenfatikler (büyük ok) ve D2–40 immünoaktivitesi izlenmeyen kan damarları (küçük ok) (İHK, x200) | 37 |
| Şekil 4.7. D2–40 immün boyası ile boyanma gösteren peritümöral lenfatik damarlar (büyük ok) ve boyanma göstermeyen kan damarları (küçük ok) (İHK, x200) | 38 |

- Şekil 4.8. D2-40 immün boyası ile boyanma gösteren intratümöral lenfatik damarlar (okl) (İHK, x400) 39
- Şekil 4.9. D2-40 immün boyası ile boyanma gösteren intratümöral lenfatik damarlar (okl) (İHK, x400) 39

TABLO LİSTESİ

| | SAYFA |
|--|-------|
| Tablo 4.1. Olguların yaş gruplarına göre dağılımı | 29 |
| Tablo 4.2. Olguların gradelerine göre dağılımı | 30 |
| Tablo 4.3. Lenf nodu metastazı olan ve olmayan olguların sayı ve yüzdeleri | 32 |
| Tablo 4.4. Çalışmamıza aldığımız kolon adenokarsinomlarının evrelerine göre dağılımı | 32 |
| Tablo 4.5. H&E boyalı kesitler ile D2-40 immün boyası kullanılarak hazırlanan kesitlerin incelenmesi sonucu belirlenen lenfatik tümör invazyonu negatif ve pozitif olan olgu sayılarının karşılaştırılması | 33 |
| Tablo 4.6. D2-40 immün boyası kullanılarak belirlenen lenfatik tümör invazyon durumu ile peritümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması | 33 |
| Tablo 4.7. D2-40 immün boyası kullanılarak belirlenen lenfatik tümör invazyon durumu ile D2-40 immünoaktivitesi gösteren intratümöral lenfatik damar sayılarının karşılaştırılması | 35 |
| Tablo 4.8. Histolojik grade ile peritümöral alanda D2-40 immün boyası tarafından boyanan lenfatik damar sayılarının karşılaştırılması | 36 |
| Tablo 4.9. Histolojik grade ile D2-40 immünoaktivitesi gözlenen intratümöral lenfatik damar sayılarının karşılaştırılması | 36 |
| Tablo 4.10. Lenf nodu metastazı negatif ve pozitif olan gruplarda D2-40 immün boyası ile belirlenen peritümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması | 37 |
| Tablo 4.11. Lenf nodu metastazı negatif ve pozitif olan gruplarda D2-40 immünoaktivitesi gösteren intratümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması | 38 |
| Tablo 4.12. Tümör evresi ile D2-40 immün boyalı preparatlarda belirlenen peritümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması | 40 |
| Tablo 4.13. Tümör evresi ile D2-40 immünoaktivitesi gösteren intratümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması | 40 |

KISALTMALAR

APC: Adenomatöz Polipozis Koli

CEA: Karsinoembriyojenik Antijen

CH: Crohn Hastalığı

FAP: Familyal Adenomatöz Polipozis

H&E: Hematoksilen Eozin

HNPCC: Hereditör Non-Polipozis Kolorektal Kanser

İBH: İltihabi Barsak Hastalığı

PBS: Phosphate Buffered Solution

PJS: Peutz Jeghers Sendromu

ÜK: Ülseratif Kolit

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

KOLON ADENOKARSİNOMLARINDA D2-40 İMMÜNREAKTİVİTESİNİN KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI

Amaç: Kolon karsinomları kanserden ölümlerin önde gelen nedenlerindedir. Birçok organda olduğu gibi kolon karsinomlarında da lenf nodlarına metastaz önemli bir prognostik faktördür. Lenfanjiogenez, lenf noduna metastazın erken göstergesidir. Çalışmamızda kolon karsinomlarında D2-40 ile boyanan lenfatik sayılarının bazı klinikopatolojik parametrelerle ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Yöntem ve Gereçler: Bu çalışmada, 2002-2009 yılları arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında kolorektal karsinom tanısı almış 60 vaka incelenmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda 3 büyük büyütme alanında ortalama normal kolon submukozasında 7, intratümöral alanda 10, peritümöral alanlarda 24 lenfatik damar sayıldı. Normal kolon submukozası ile peritümöral ve intratümöral alandaki lenfatik sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,000$, $p=0,000$). Aynı şekilde peritümöral ve intratümöral lenfatik sayıları arasında da istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulundu ($p=0,013$). İntratümöral lenfatik sayısı, lenfatik tümör invazyonu pozitif olan vakalarda daha yüksektir ve sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,043$). D2-40 kullanılarak lenfatik tümör invazyonu tespit edilen vaka sayısı hematoksilen eozin boyası ile belirlenen vaka sayısından daha yüksektir ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,001$).

İntratümöral ve peritümöral alanlardaki ortalama lenfatik sayıları ile grade, lenf nodu metastazı ve evre arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Sonuçlar: Sonuç olarak D2-40'ın lenfatik tümör invazyonlarının tespitinde hematoksilin eozin'e göre daha avantajlı olduğu saptanmıştır. Normal kolon submukozasında, intratümöral ve peritümöral alanlarda D2-40 ile saptanan ortalama lenfatik damar sayıları birbirleri ile karşılaştırıldıklarında sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır.

Anahtar kelimeler: Kolon, Karsinom, İmmünohistokimya, D2-40, Lenfanjiogenez.

ABSTRACT

COMPARISON OF D2-40 IMMUNOREACTIVITY WITH CLINICOPATHOLOGIC PARAMETERS IN COLON ADENOCARCINOMAS

Objective: : Colon carcinomas are one of the most prevalent causes of death from cancer. As in most organs, in colon carcinomas too, metastasis to lymph nodes is an important prognostic factor. Lymphangiogenesis is the early indication of metastasis to lymph node. In our study we aimed at investigating the relationship of D2-40 stained lymph numbers with some clinicopathologic parameters in colon carcinomas.

Materials and Methods: In the present study, 60 cases diagnosed as colorectal carcinoma at Harran University Medicine Faculty Pathology Department between, 2002-2009 were examined.

Findings: In three high power field, 7 lymphatic veins were counted in average normal colon submucosa, 10 in intratumoral field and 24 in peritumoral fields. A statistically significant correlation was found between lymphatic numbers in normal colon submucosa and peritumoral and intratumoral fields ($p=0,00$, $p=0,00$). Also, another statistically significant correlation was observed between peritumoral and intratumoral lymphatic numbers ($p=0,013$). Intratumoral lymphatic number is higher in cases with positive lymphatic tumor invasion and the finding is statistically significant ($p=0,043$). The number of the cases determined as lymphatic tumor invasion using D2-40 is higher than the cases determined with hematoxylin-eosin stain and is statistically significant ($p=0,001$).

No significant correlation was found between average lymphatic numbers and grade, lymph node metastasis and stage in intratumoral and peritumoral fields ($p > 0,05$).

Results: To conclude, D2-40 is found to be more advantageous than hemaxilin-eosin in determining lymphatic tumor invasions. The finding is statistically significant when lymphatic vein numbers obtained with D2-40 in normal colon submucosa, intratumoral and peritumoral fields are compared with each other.

Keywords: Colon, Carcinoma, Immunohistochemistry, D2-40, Lymphangiogenesis.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal karsinomlar, başta gelişmiş ülkeler olmak üzere tüm dünyada görülmektedir (1). Amerika Birleşik Devletlerinde kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %10'unu oluşturur (2). Kadın ve erkeklerde eşit oranda ortaya çıkar (3). Yaşla birlikte görülme sıklığında artış olur. En sık 60 ile 79 yaşları arasında saptanır (1).

Kolorektal kanser gelişiminde diyet başta olmak üzere çevresel faktörler, yaş, adenom varlığı, inflamatuvar barsak hastalığı gibi predispozan faktörler ile aile öyküsü etkilidir. Olguların çoğu adenomatöz polip zemininden gelişir (4, 2). Bu neoplaziler ya lenfatik ve kan damarları yolu ile metastaz yaparak ya da direkt invazyon yolu ile yayılım gösterir (3, 1). Kolorektal karsinomların primer tedavisi cerrahi olup hastalığın evresine göre kemoterapi ve radyoterapi uygulanır (3, 2). Prognozda önemli olan histomorfolojik faktörlerden bazıları; tümör grade'i ve evresi, lenfovasküler yapılara invazyon ve anjiogenezisidir (3). Anjiogenezis, yapılan birçok çalışmada tümör rekürrensi ve yaşam süresinin kısalması ile ilişkilendirilmiştir (5–8).

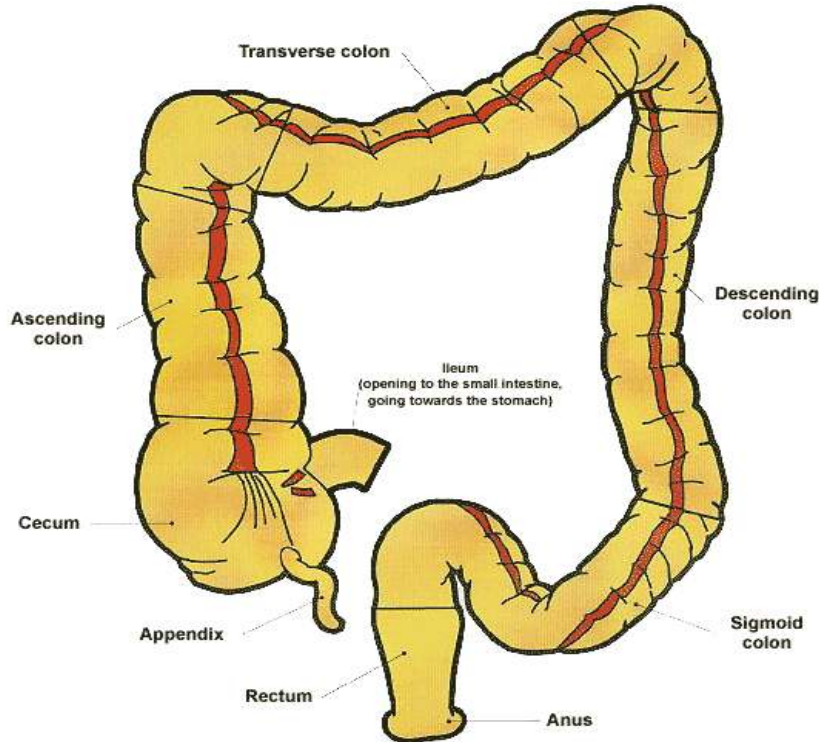
Patoloji laboratuvarlarında rutin olarak uygulanan Hematoksilen eozin boyası ile hazırlanan preparatlarda, lenfovasküler invazyonun değerlendirilmesi her ne kadar yapılabilse de bazen immünohistokimyasal yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. LYVE-1, Prox-1, Podoplanin ve D2-40 antikorları bu amaçla kullanılan immünohistokimyasal belirteçlerden bazılarıdır (9–11). Lenfatiklerin endotel hücrelerine spesifik olarak bağlanan ve siyaloglikoprotein yapısında monoklonal bir antikor olan D2-40 immün boyası, primer tümörün lenfatik invazyonunu göstermede oldukça faydalıdır (12, 13). Kolon, prostat, oral kavite, mesane, cilt, meme, mide, serviks karsinomları gibi birçok organda D2-40 immün boyası ile yapılmış pekçok çalışma mevcuttur (10, 11, 14–19).

Biz bu çalışmada D2-40 immün boyasını kullanarak, kolon karsinom vakalarında normal kolon submukozasındaki, peritümoral ve intratümoral alandaki lenfatik sayılarını değerlendirdik. Elde ettiğimiz bu değerler ile tümör, evre, grade, lenf nodu metastazı arasında bir ilişki kurmaya çalıştık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Anatomi

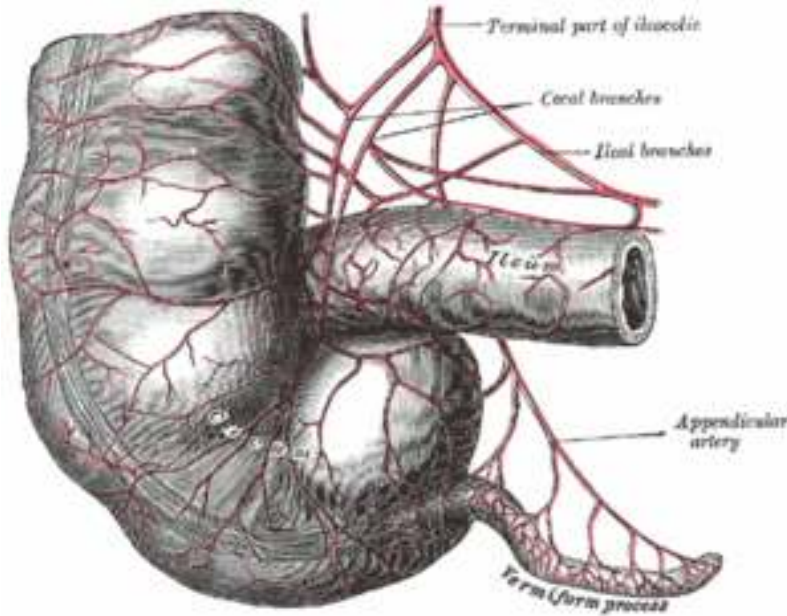
Kolon yetişkinlerde ortalama 150 cm uzunluğunda olup, ileoçekal bölgeden başlayarak rektosigmoid köşeye kadar uzanır. Kolonun anatomik bölümleri sırasıyla çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon ve sigmoid kolondur. Sigmoid kolondan itibaren kalın barsak rektum olarak devam eder ve anüsle birleşir (Şekil 2.1). Kolon çapı çekumda 6-7 cm iken aşağı doğru indikçe daralır ve rektosigmoid köşede 2,5 cm'ye kadar düşer (20, 21).



Şekil 2.1. Kolonun bölümleri (22)

Kalın barsağın periton ile ilişkisi değişkenlik göstermektedir. Çekum, transvers kolon ve sigmoid kolonun tamamı, çıkan kolonun ön ve arka yüzleri, inen kolonun ön ve yan yüzleri peritonla örtülüdür (20). Rektumun pelvis ve anal kanal içinde uzanan 8–15 cm'lik distal kısmı ekstrapéritoneal olarak yerleşmiştir (3).

Çekum: Yaklaşık 10 cm uzunluğunda 5 cm genişliğinde, kalın barsağın kör kese şeklindeki ilk bölümü olup, terminal ileum girişinin distalinde, sağ fossa iliaca'da yer alır (Şekil 2.2). Çekum hareketli bir organdır, tüm yüzeyleri peritonla kaplıdır ve genellikle kısa bir mezosu vardır. Çekumun iç yan arka bölümüne ileoçekal valv açılır. Terminal ileumun sirküler ve longitudinal kas liflerinin oluşturduğu bu sfinkter mekanizması ileum içeriğinin çekuma doğru hızlı geçişini engellediği gibi, çekumdan ileuma doğru reflüyü de önler. Çekumun içyan ve arka yüzüne, ileoçekal valvin 2 cm altına apandiks açılır. Apandiks uzunluğu ortalama 9 cm olan (2 ile 20cm arasında) kör bir tübüler yapıdır (20, 23, 24).



Şekil 2.2. Çekum ve ileoçekal valvin anatomisi (22)

Çıkan kolon: Yaklaşık 15 cm uzunluğundadır ve ileoçekal kavşaktan sağ kolik bölgeye kadar uzanır. Karaciğer altında sola ve aşağı doğru dönerek transvers kolonla devam eder. Bu dönüş noktasına hepatik fleksura denir. Çıkan kolon ön ve yan yüzlerinde peritonla kaplıdır. Arka yüzünde yer alan Toldt fasyası ile karın arka duvarına tutunur (20, 21).

Transvers kolon: Yaklaşık 50 cm uzunluğundadır. Sağ kolon köşesinden başlar. Batını sağdan sola doğru kateder ve dalak önünde splenik fleksurayı oluşturarak aşağıya döner. Transvers kolon tüm yüzeylerinde peritonla kaplıdır. Transvers kolonun ön-üst yüzüne yapışan omentum majus ince barsakların önünden aşağıya, pelvise doğru uzanır (20).

İnen kolon: Kolonun, sol köşeden (splenik fleksura) itibaren aşağı doğru dönerek, pelvise kadar uzanım gösteren yaklaşık 25 cm uzunluğundaki bölümüdür. Çapı çıkan kolon ve transvers kolona göre daha dardır. İnen kolon, tıpkı çıkan kolon gibi sadece ön ve yan yüzlerinde peritonla örtülüdür (20).

Sigmoid kolon: İnen kolonun devamıdır. Boyutu çok değişken olmakla beraber ortalama 40 cm uzunluğundadır. Rektosigmoid köşeden sonra rektum ile devam eder. Tüm yüzeylerinde peritonla kaplıdır. Ters V biçiminde uzun bir mezoyla karın arka duvarına tutunur (20).

Rektum: Rektosigmoid köşeden başlar. Yaklaşık 12–15 cm uzunluğundadır. Sakral kaviteyi doldurur ve koksiks tepesinin 2–3 cm antero-inferiorunda sonlanır. Distal 1/3'lük kısmı tamamen ekstraperitonealdir (21).

2.1.1 Kan Dolaşımı

Arteriyel dolaşım: Superior ve inferior mezenterik arterler barsakların tamamını beslerler (Şekil 2.3). Splenik fleksura bu arterlerin dağılım alanları için bir sınırdır. İki arterin arasındaki kollateral sirkülasyon kolonun mezokolik kenarı boyunca devamlı birbiriyle ilişkilidir. Bu anastomozlara marginal arter ismi verilir. Marjinal arterlerden çıkan vasa rektalar barsakları besler (21, 22, 24).

Üst mezenterik arter aortadan 1. lomber vertebra düzeyinde çıkar, dalak veni ve pankreas boynunun arkasından, pankreasın unsinat prosesi, sol böbrek veni ve duodenumun 3. bölümünün önünden geçerek aşağı ilerler. Verdiği ilk dal orta kolik arterdir. Pankreasın

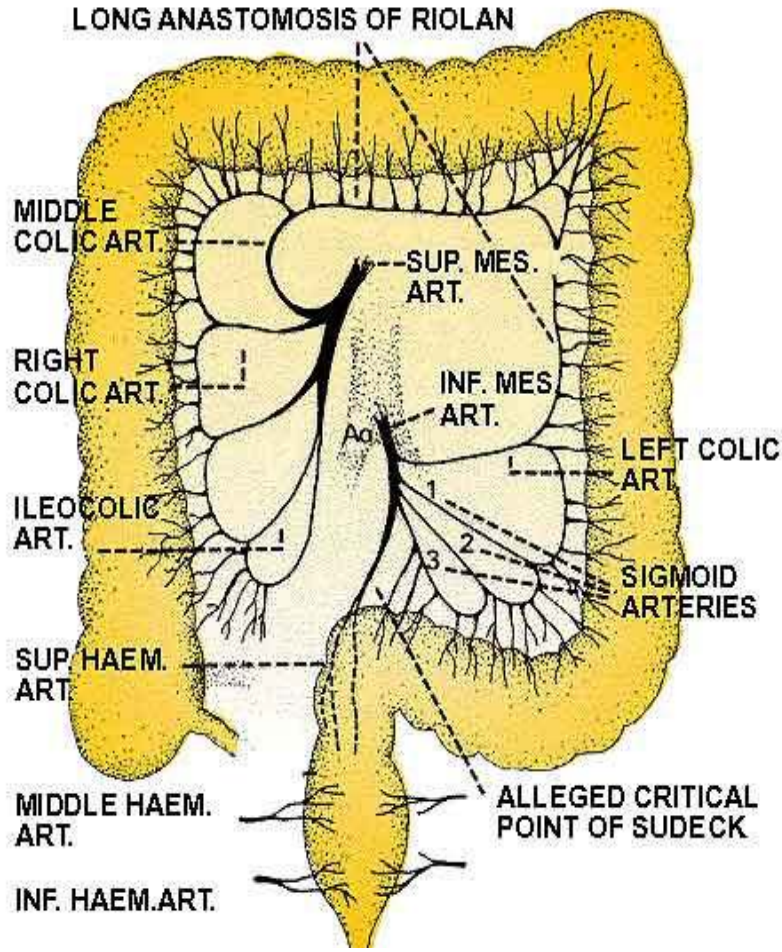
altından transvers mezokolona giren orta kolik arter, sağ ve sol yan dalları verir. Sağ yan dalı sağ kolik arterin çıkan dalı ile ve sol yan dalı ise sol kolik arterin çıkan dalı ile birleşir (21, 24).

Üst mezenterik arterin kolona giden ikinci dalı sağ kolik arterdir. Anatomik çalışmalar bu arterin %40'ının üst mezenterik arterden, %30'unun orta kolik arterden, %12'sinin de ileokolik arterin bir dalı olan sağ kolik arterden çıktığını göstermiştir. Geri kalan %18'inde ise arterin köken aldığı yer tespit edilememiştir. Sağ kolik arterin inen yan dalı ileokolik arterin kolik dalıyla birleşir (21, 24).

İleokolik arter üst mezenterik arterin kolona giden üçüncü dalıdır. Bu dal, ileuma ve kolona giden yan dallar verir. Kolik yan dal sağ kolik arterin inen yan dalı ile birleşir. Çekuma ulaşan yan dallardan ise apandiks arteri çıkar ve apandiks mezosu içinde organa ulaşır (21, 24).

Alt mezenterik arter 3. lomber vertebra düzeyinde ve duodenumun 3. bölümünün alt kenarının altında aortadan çıkar. Kolona giden ilk dalı sol kolik arterdir. Kısa bir kökten sonra yukarı ve aşağı giden iki yan dal verir. Yukarı giden yan dal inen kolonun üst bölümünü besler. Aşağı giden yan dal ise inen kolonun alt bölümünün kanlanmasını sağlar. Alt mezenterik arterin sigmoid kolona giden dalları ise sigmoid arterleri adını alırlar. Genelde üç ya da dört dal halinde sigmoid kolonun kanlanmasını sağlarlar (21, 24).

Üst ve alt mezenterik arterin dallarından çıkan yan dallar çekumdan rektosigmoid köşeye kadar kolon boyunca uzanan Drummond'un marjinal arterini meydana getirirler. Marjinal arterden kolona dik olarak çıkan kısa dalcıklar, kolonun mezoya yakın olan 2/3'lük bölümünü, uzun dalcıklar ise antimezenterik kısımda kalan 1/3'lük bölümünü beslerler. Orta kolik arter ile sol kolik arter arasında var olan bir diğer kollateral ise Riolan arkusu adını alır (21, 24).

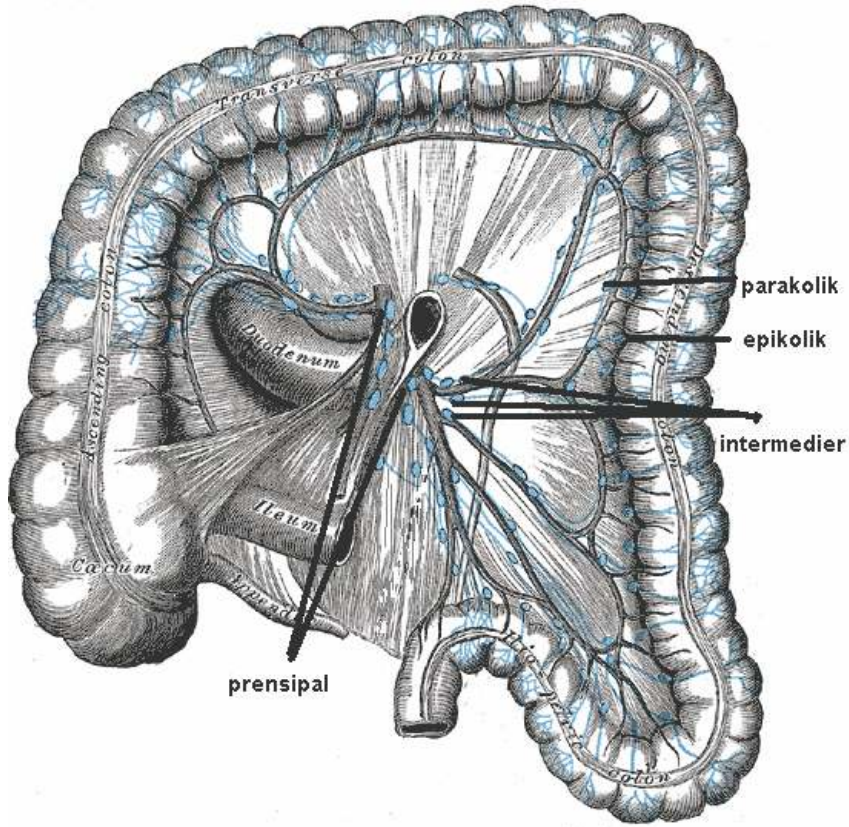


Şekil 2.3. Kolonun arterleri (22)

Venöz dolaşım: Kalın barsağın venöz drenajı temel olarak arteriyel damarları izler. Sağ kolonun venöz dönüşü vena mesenterika superior aracılığıyla, sol kolonun venöz dönüşü ise vena mezenterika inferior aracılığıyla portal sisteme olur. Vena mesenterika inferior Treitz ligamanının komşuluğunda yukarı doğru ilerleyerek dalak venine ulaşır. Dalak veni de vena mesenterika superior ile birleşerek portal veni meydana getirir (21, 24).

2.1.2. Lenfatik Drenaj

Kolonun tüm kısımlarında lenfatik drenaj vasküler yapıyı izler. Kolon ve rektumun submukoz ve subseroz tabakaları, lenf kanalları ve nodlarının oluşturduğu eksternal sisteme drene olan zengin bir lenfatik yapıya sahiptir. Kolorektal lenf yolları klasik olarak epikolik, parakolik, intermediate ve ana lenf yolları olmak üzere 4 gruba ayrılır (Şekil 2.4). Epikolik grup periton altındaki barsak duvarında ve apendiks epiploika'da bulunur. Parakolik nodlar ise superior kolik damarlar üzerinde, ana nodlar ise superior ve inferior mezenterik damarlar üzerinde yer alırlar (21).



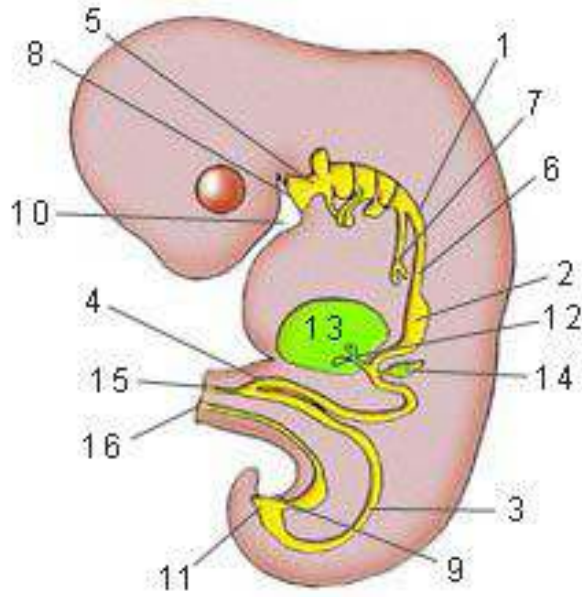
Şekil 2.4. Kolonun lenfatik drenajı (22)

2.1.3. İnnervasyon

Kolon otonom sinir sistemi tarafından innerve edilir. T7–12 ‘den çıkan sempatik lifler submukozal (Meissner) ve myenterik (Auerbach) sinir uçlarında sonlanır. Sağ vagus ile sağ kolonun ve L1-3’ten gelen liflerle ise sol kolonun parasempatik innervasyonu sağlanır. Sekresyon ve hareketler sempatik sistem ile inhibe olurken, parasempatik sistem ile aktive olur. Rektum ve anal kanalın sempatik innervasyonunu sempatik trunkusun lomber kısmı ve süperior hipogastrik plexus sağlarken, parasempatik innervasyonu ise pelvik splanknik sinirler aracılığı ile olur. Alt kısımların ise sempatik innervasyonu hipogastrik sinir yoluyla olurken, parasempatik innervasyonunu S2-4’ten çıkan lifler sağlar (25).

2.2. Embriyoloji

Sindirim sisteminin epiteli ve türevlerinin parenkiması endodermal; müsküler ve peritoneal elemanları ise mezodermal kaynaklıdır. Bu sistem, bukkofaringeal membrandan kloakal membrana kadar uzanır ve faringeal barsak, önbarsak, ortabarsak ve sonbarsak bölümlerine ayrılır (Şekil 2.5). Gestasyonun 4. haftasından itibaren gövde barsağın orta ve alt bölümleri vücudun orta hattı üzerinde üç parça halinde görülür. Önbarsaktan; özofagus, trakea ve akciğer tomurcukları ile mide ve koledok kanalının açıldığı noktaya kadar olan duodenum parçası gelişir. Ortabarsak, primitif barsak halkasını oluşturur ve koledogun duodenuma açıldığı noktanın altında kalan duodenal parçadan, transvers kolonun 2/3 proksimal ve 1/3 distal parçalarının birleşim yerine kadar devam eder. Primer halka tepe noktasından vitellin kanal yoluyla yolk kesesi ile geçici bir süre açık bir şekilde ilişkide bulunur. Altıncı haftada barsaklar o kadar hızla büyür ki, umbilikal kord içine herniye olurlar (fizyolojik herniasyon). Barsaklar 10. haftada, karın boşluğuna geri dönmeye başlarlar. Bu olaylar sırasında ortabarsak saatin tersi yönünde 270 derecelik bir dönüş de yapar. Sonbarsaktan, transvers kolonun 1/3 distalinden anal kanalın üst kısmına kadar olan barsaklar gelişir (anal kanalın distal parçası ektodermal anal çukurdan gelişir). Sonbarsağın kaudal kısmı, ürorektal septum tarafından arkada rektum ve anal kanal; önde de mesane ve üretra olacak şekilde ikiye bölünür (26, 27).



Şekil 2.5. 1-Ön barsak, 2-Mide, 3-Son barsak, 4-Orta barsak, 5-Faringeal barsak, 6-Özefagus, 7-Trakeobronşial divertikül, 8-Bukkofaringeal membran, 9-Kloakal membran, 10-Stomodeum, 11-Kloak, 12-Safra kesesi, 13-Karaciğer, 14-Pankreas, 15-Vitellin kanal, 16-Allantois (28)

2.3. Histoloji

Kalın barsak duvarı; mukoza, submukoza, muskularis eksterna (propriya) ve seroza (rektumda perimuskuler doku) olmak üzere dört tabakadan oluşur (3).

Mukoza: Epitel, lamina propriya ve muskularis mukoza olmak üzere üç tabaka içerir. Kalın barsak mukozası distal (rektal) kısmı hariç katlanma göstermez ve villus yapısı içermez. İntestinal bezler uzundur, bunlarda çok sayıda goblet hücresi ve emici hücre ile az sayıda enteroendokrin hücre bulunur. Emilimi yapan epitel hücreleri prizmatiktir ve mikrovillusları kısa, düzensiz ve azdır. Bu organ başlıca fonksiyonları olan su Emilimi, dışkı oluşturulması ve mukus üretimi için çok uygun bir yapıya sahiptir. Salgılanan mukus sulu bir jel halindedir ve barsak yüzeyini kayganlaştırması yanında bakteri ve partiküllerin üzerini de örter (3). Lamina propriya lenfoid hücrelerden nodül oluşturacak kadar zengindir ve bu lenfoid hücreler ile nodüller genellikle submukozanın içine kadar uzanır. Bu lenfoid hücre yoğunluğunun nedeni kalın barsaktaki aşırı bakteri popülasyonudur (29, 30).

Submukoza tabakası: Çok sayıda kan ve lenf damarlarına ek olarak submukozal bir sinir pleksusu da (Meissner pleksusu) içeren gevşek bağ dokusundan oluşmuş bir tabakadır (3).

Muskularis eksterna tabakası: Longitudinal ve sirküler düz kas demetlerinden oluşur ve bu iki kas grubu arasında Aurbech pleksusu bulunur. Dış longitudinal kas hücreleri üç yerde toplulaşarak tenya kolileri oluştururlar. Tenya koliler arası bölgede barsak duvarı dışa doğru genişlemeler yapar ve bunlara haustra koli denir (3, 29, 30).

Seroza tabakası: Yağ dokusundan zengin gevşek bağ dokusundan oluşmuş olup dış yüzü mezotelle örtülüdür. Kolonun intraperitoneal kısımlarındaki seröz tabakada apandiks epiploika denilen, yağ dokusundan oluşmuş küçük asılı uzantılar bulunur (29, 30).

Kalın barsağın epitel hücreleri bezlerin 1/3 alt kısmındaki hücrelerin farklılaşması ve proliferasyonu yaklaşık her 6 günde bir yenilenir (3).

2.4. Fizyoloji

Kalın barsağın primer fizyolojik görevleri şunlardır; mikroflora metabolizması ile alınan gıdaların yıkılması, su ve elektrolitlerin emilmesi, semisolid maddelerin depolanması, feçesin rektum ve anüse doğru ilerletilmesidir. Alınan materyallerin kalın barsağa gelmesiyle barsak florası tarafından geride kalan karbonhidrat ve proteinin aerobik ve anaerobik metabolizması olur (21). Kalın barsakta klorun emilimi karşılığında az miktarda bikarbonat lümenine salınarak ortam alkali hale getirilir. Bunun sonucu olarak ortamın Ph'sı 8–8,4 civarında dengelenir. Hergün yaklaşık olarak kolona 600–1000 ml kadar ileum içeriği geçer. Bu içeriğin %90'ı sudur ancak dışkı ile atılan su miktarı 180 ml düzeyindedir. Suyun hemen hemen tamamı çekum ve çıkan kolonda emilir. Su ile birlikte sodyum, sakkaroz ve laktoz gibi önemli yapılar da emilir. Bu emilim sonucunda dışkının %70'i su, %30'u katı maddeden oluşur (31).

Kalın barsaklarda itici ve itici olmayan iki farklı tip hareket görülür. İtici olmayan hareketler haustraların sırayla kasılması sonucu ortaya çıkar. Bu hareketler kolon içeriğini karıştırarak sıvı-elektrolit emilimini sağlar. İtici tip hareketler ise kolon muhtevasını distale doğru taşır. Bu taşınma birden fazla haustranın bir arada kasılması, kütleli itme ve peristaltik

hareketlerle gerçekleşir. Nadiren antiperistaltik hareketler de görülebilir. Normalde ağızdan alınan gıda 4,5 saatte çekuma gelir, 6 saat içinde çıkan kolonu doldurarak sağ fleksuraya ulaşır, 12 saatte sol fleksuraya varır ve yaklaşık 20 saatte rektosigmoide ulaşır (31).

2.5. Kolorektal Tümörler

2.5.1. Kolorektal Tümörlerde Histolojik Sınıflandırma (WHO)

Epitelyal tümörler

-Adenom

Tübüler

Villöz

Tübülovilloz

Serrated

-İntraepitelyal neoplazi (displazi)

-Kronik iltihabi hastalıkla ilişkili

Düşük dereceli glandüler intraepitelyal neoplazi

Yüksek dereceli glandüler intraepitelyal neoplazi

-Karsinom

Adenokarsinom

Müsinöz adenokarsinom

Taşlı yüzük hücreli karsinom

Küçük hücreli karsinom

Skvamöz hücreli karsinom

Adenoskuamöz karsinom

Medüller karsinom

İndiferansiye karsinom

-Karsinoid (iyi diferansiye endokrin neoplazm)

EC-hücre, seratonin üreten

L-hücre, glukagon benzeri peptid ve pp/pyy üreten tümör

Diğerleri

-Mikst karsinoid-adenokarsinom

-Diğerleri

Epitelyal dışı tümörler

-Lipom

-Leiomyom

-Gastrointestinal stromal tümör

-Leiomyosarkom

-Anjiosarkom

-Kaposi sarkomu

-Malign melanom

-Diğerleri

-Malign lenfoma

Marjinal zon B-hücreli lenfoma

Mantle hücreli lenfoma

Diffüz büyük B-hücreli lenfoma

Burkitt lenfoma

Atipik burkitt lenfoma

Diğerleri

Sekonder tümörler

-Polipler

Hiperplastik (metaplastik)

Peutz-jeghers

Jüvenil polip (32)

2.5.2. Epidemiyoloji

Kolorektal karsinomlar, Birleşik Devletler, Avustralya, Yeni Zelanda ve Doğu Avrupa ülkelerinde daha yaygın olup tüm dünyada görülür. Meksika, Güney Amerika ve Afrika'da ise bu ülkelere göre 10 kat daha düşük oranda görülür (1).

Amerika Birleşik Devletleri'nde kanser nedenli ölümlerin yaklaşık %10'luk bir oran ile üçüncü nedenidir (2).

Kolorektal karsinomlar 60 ile 79 yaşları arasında pik yapar ve olguların %20'den daha azını 50 yaş altı hastalar oluşturur (1). Belirlenen ortalama görülme yaşı 62'dir. Kadınlarda ve erkeklerde eşit oranda görülür (3).

2.5.3. Etyoloji

Kolorektal kanser gelişiminde diyet başta olmak üzere çevresel faktörler, yaş, adenom varlığı, inflamatuvar barsak hastalığı gibi diğer predispozan faktörler ile aile öyküsü etkilidir (4).

Adenomlar: Kolon kanserlerinin %33'ü poliplerden gelişmektedir. Kolon poliplerinin çoğu kanserleşme riski düşük olan hiperplastik poliplerdir. Kanserleşme yönünden en riskli polipler adenomatöz poliplerdir (2). Tüm adenomların yaklaşık olarak %5'inden invaziv adenokarsinom gelişir. Kanserle ilişkili adenom tiplerinden tubular adenom %2-3, tubulovillöz adenom %6-8 ve villöz adenom ise %10-18 oranında invaziv kansere dönüşür. Adenomların çaplarına göre kanserleşme oranlarında farklılık görülür. Çapları 1 cm'den küçük olanlar %0,5 oranında, çapları 1-1,9 cm arasında olanlar %5 oranında ve çapları 2 cm'den büyük olanlar ise %10 oranında invaziv kansere dönüşür (33).

Kolonda gözlenen poliplerin bazılarında malignleşme oranı diğerlerine göre daha yüksektir. Malignleşme olasılığını artıran özellikler poliplerin adenomatöz olmaları, 2 cm'den daha büyük olmaları, sapsız (sesil) olmaları, villöz yapıda olmaları, multipl olmaları ve displazi içermeleridir (2).

Genetik faktörler: Kolorektal kanserli veya sporadik adenomlu hastaların 1. derece yakınlarında kolorektal kanser görülme oranı 2–3 kat artmıştır. Ailesel geçişli kolorektal karsinomlarında bireyin 50 yaşından küçük olması riski daha da artırır. Herediter Non-Polipozis Kolorektal Kanseri (HNPCC) ve Familial Adenomatöz Polipozis (FAP) sendromu kolorektal kansere predispozan iyi tanımlanmış durumlardır (4). Lynch sendromu olarak da bilinen HNPCC tüm kolon kanserlerinin %5-6'sını oluşturur ve otozomal dominant kalıtım gösterir. Lynch I sendromunda sadece kolon kanseri görülürken Lynch II sendromunda meme, uterus, over, mide, ince barsak, renal pelvis, üreter ve pankreatikobiliyer sistem kanserleri gibi ekstrakolonik adenokanserler de görülmektedir. Ortalama kanser görülme yaşı 40-45'tir (2).

Herediter bir hastalık olan FAP'de %80 oranında malign dönüşüm izlenir ve otozomal dominant geçiş gösterir (2). Kolonda sayıları bazen binlere kadar ulaşan adenomlar oluşur. Kolektomi yapılmayan olguların hepsinde kanser gelişir (4). Bu grupta Gardner, Turcot, Oldfield ve Peutz Jeghers gibi bazı özel sendromlar tanımlanmıştır. Gardner sendromunda kolon poliplerine ek olarak mandibulada osteomalar, ciltte sebace kist ve desmoid tümörler izlenir. Turcot sendromunda ise kolon polipleri yanında glioblastoma ve medulloblastoma ortaya çıkabilir. Peutz Jeghers Sendromunda (PJS) kolonda hamartomatöz polipler ve oral mukozada pigment lekeler görülür. Oldfield sendromu ise resesif geçiş gösterir ve polipozis koli ile birlikte ciltte multipl sebace kistler gözlenir (2).

Diyet: Kolorektal kanser gelişiminde beslenme alışkanlıklarının önemli olduğu ileri sürülmektedir. Yapılan çalışmalarda fazla posa bırakan diyetle beslenen kişilerde kolorektal kanser gelişme riskinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Posalı diyet barsak pasaj zamanını kısaltmakta ve mukozanın karsinojenik maddelerle temas süresini azaltmaktadır (22).

Kronik inflamatuvar barsak hastalıkları: Kolorektal adenokarsinom gelişiminde önemli etyolojik faktörlerdendir. Bu grupta ilk olarak akla gelenler Ülseratif Kolit (ÜK) ve Crohn Hastalığıdır (CH). Kolon kanseri gelişme riski ile ÜK'in varoluş süresi ve kolondaki tutulumun yaygınlığı doğru orantılıdır. Kolonun yarısından fazlası tutulan ÜK'li hastalarda kanser gelişme riski %15 iken, sol kolon tutulumu olanlarda bu oran %5'tir. Ülseratif proktitte ise kanser gelişme riskinde artış görülmez. CH'da hem ince barsakta hem de kalın barsakta kanser gelişme riski artar. Bu hastalıkta da malign dönüşüm süre ile doğru orantılı olup, normal popülasyona göre 3 kat daha fazladır (32).

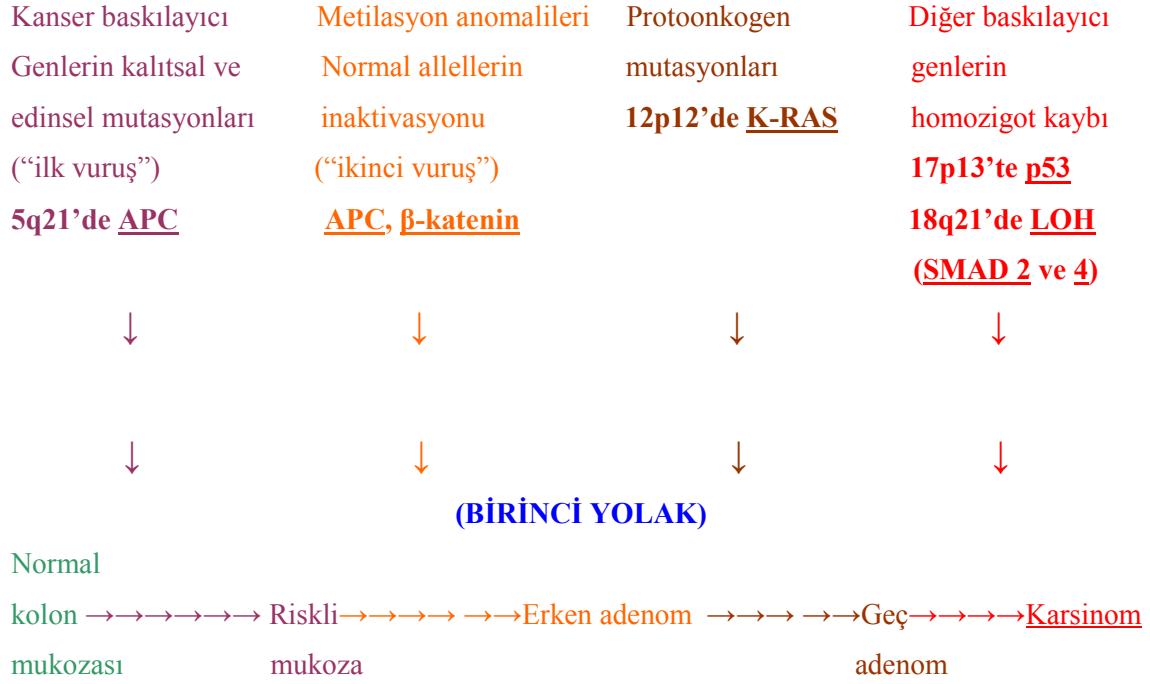
Ayrıca kolesistektomi ve üreterosigmoidostominin de kolorektal kanser gelişme riskini artırdığı savunulmaktadır (22).

2.5.4. Kolorektal Karsinogenez

Kolon kanseri gelişiminde patogenetik olarak farklı iki yol vardır. Her iki yolda da bir dizi basamaklar halinde çok sayıda mutasyon birikimi görülmekte olup rol oynayan genler ve mutasyonların birikme mekanizmaları farklıdır (1).

Adenomatöz Polipozis Koli (APC)/ β -katenin yolağı: Adenom-karsinom süreci olarak da bilinen bu yolda APC gen kaybının adenom oluşumunun en erken olayı olduğuna inanılır. Kromozomal dengesizlik ile karakterize moleküler olayların yanısıra morfolojik olarak da tanımlanabilen aşamalar görülür. Süreç lokalize bir epitel proliferasyonu ile başlar, artan displazi derecesinin eşlik ettiği küçük adenomların oluşumunun ardından bunların progresif olarak genişlemesiyle devam eder ve sonunda invaziv kansere dönüşür. Kolorektal karsinom olgularının %80'den fazlasında inaktif APC, APC mutasyonu görülmeyen olguların da %50'sinde β -katenin mutasyonları izlenir. Bunun moleküler gelişimi şekil 2.6.'da gösterilmiştir (1).

İkinci yolak ise; DNA onarım genlerinin inaktivasyonu ile ilişkilidir. Bu yolak HNPCC sendromunda ve sporadik vakaların da %10-15'inde saptanmıştır. Bu yolakta mutasyonlar farklı genlerde gerçekleşir. Tanımlanmış morfolojik değişimler yoktur (1).



Şekil 2.6. Kolorektal karsinomlarda adenom-karsinom süreci (1)

2.5.5. Lokalizasyon

Kolorektal karsinomların yaklaşık %50'si rektosigmoid bölgede yerleşir (3). Ras protoonkogen mutasyonları çekum, çıkan kolon ve transvers kolon yerleşimli olan kolorektal karsinomlarda daha yüksek oranda görülür (32). Karsinomların %99'u tek olur, fakat multipl karsinom şeklinde de olabilir. Kolorektal karsinomların çoğu sporadik olarak gelişir fakat hastaların %1 ile %3'ünde familial sendromlardan biri ya da İltihabi Barsak Hastalığı (İBH) vardır (1).

2.5.6. Klinik Bulgular

Kolorektal karsinomlarda görülen başlıca semptomlar; arasıra kolik tarzında karın ağrısı, bulantı ve kusma, kanama, kabızlık ve ishal şeklindedir. Klinik yıllarca sessiz kalabilir

ancak 40 yaşını aşmış bir bireyde dışkılama alışkanlığında (ishal ya da kabızlık gibi) değişiklik olduğu zaman çok dikkatli olunmalıdır. Sağ kolon tümörleri uzun süre sessiz kaldıkları için; anemi, halsizlik, perforasyonla ortaya çıkabilirler. Sol kolon tümörlerinde ise klinik daha gürültülüdür. Barsak alışkanlıklarında değişiklik, dışkıda gizli kan ve kramp tarzında ağrı görülür. Bu yüzden sol kolon tümörleri daha erken farkedilirler. Demir eksikliği anemisi olan yaşlı bir erkekte mutlaka kolorektal karsinom araştırılmalıdır (2, 34).

2.5.7. Makroskopik Bulgular

Kolorektal karsinomların çoğunluğu polipoid veya ülseratif/infiltratif tiptedir. Proksimal kolondaki karsinomlar daha çok ekzofitik olma eğiliminde iken transvers kolon ve inen kolondaki karsinomlar ise endofitik ve anüler olma eğilimindedirler. Karsinom zamanla barsak duvarını direkt olarak penetre ederek subseroza ve serozaya kadar ulaşır. Burada beyaz sert kitleler oluştururlar. Tümörün makroskopik ve mikroskopik sınırları genelde uyumludur. Kesit yüzü gri-beyaz görünümde olup barsak duvarının yerini almıştır. Müsinöz adenokarsinomlarda makroskopik olarak müsin gözlenebilir. Makroskopik incelemede bazı hususlara dikkat edilmelidir. Bu hususlar; tümörün barsak duvarında sınırlı olup olmadığı, perikolik dokuya ulaşip ulaşmadığı, makroskopik damar invazyonunun varlığı ve diğer barsak alanlarında polip ya da ikinci bir tümör varlığının araştırılmasıdır (1,3, 32).

2.5.8. Mikroskopik Bulgular

Tüm kolorektal karsinomalar in situ lezyon olarak başlarlar ve farklı morfolojik paternler şeklinde gelişim gösterirler. Lezyonlar lamina propriyada sınırlı ise “Yüksek Grade İntraepitelyal Neoplazi” şeklinde isimlendirilir (1, 35).

Kolorektal karsinomlar değişik formda ve konfigürasyonda glandüler yapılardan oluşur. Bu glandüler yapılar submukoza ve kas tabakasını invaze eder. Neoplazik doku uzun kolumnar hücrelerden oluşabileceği gibi belirgin anaplastik kitleler oluşturan indiferansiye

hücrelerden de oluşabilir. Tümör dokusundaki desmoplastik stroma ise kitlenin sert bir kıvam almasına yol açar. İyi ve orta derece diferansiye kolon kanserlerinde gland lümenlerinde sellüler debriler izlenir (1, 35).

Adenokarsinom: Kolorektal karsinomların %85'ini oluşturur. Tümör dokusundaki glandüler yapıların yoğunluğuna ve hücrel dizilime göre derecelendirme yapılır. Grade I ya da iyi diferansiye olanlar %15–20, grade II ya da orta diferansiye olanlar %60–70, grade III ya da az diferansiye olanlar %15–20 oranında görülür. İndiferansiye karsinomlar ise grade IV olarak gruplandırılır (33, 36, 37).

Müsinöz adenokarsinom: Kolorektal karsinomların %10'unu oluşturur. Tümör kitlesinin %50'den fazlasını müsinöz komponent oluşturur. Genç erişkin ve çocuklarda görülen, villöz adenom zemininde gelişen, ülseratif kolitisli ve radyoterapi alan hastalarda gelişenler ile düşük kolorektal karsinom sıklığı olan ülkelerde görülen tümörler daha ziyade müsinöz adenokarsinom şeklindedir. Müsinöz adenokarsinomlar diğer kolorektal karsinoma göre daha ileri evrede saptanırlar ve daha kötü prognoz sergilerler (33, 36).

Taşlı yüzük hücreli karsinom: Tümör hücrelerinin %50'den fazlası belirgin intrasitoplazmik müsin içerdiğinde bu varyantdan söz edilir. Bu hücreler taşlı yüzük hücreleri olarak adlandırılır. Sitoplazmalarında geniş müsin vakuolleri görülür. Bu vakuoller neoplazik hücrelerin ekzantrik yerleşimli bir nükleusa sahip olmalarına neden olur. Taşlı yüzük hücreleri müsinöz adenokarsinomlarda geniş müsin gölcükleri çevresinde de izlenebilir (32, 35).

Küçük hücreli karsinom: Akciğerin küçük hücreli karsinomu ile aynı histopatolojik özellikleri taşıyan bu tümör kolorektal karsinomların %1'inden azını oluşturur. Tanı sırasında olguların tamamına yakınında lenf düğümü ve karaciğer metastazı vardır ve prognozu kötüdür. Küçük hücreli karsinom vakalarının %30'u adenom kaynaklıdır ve bu tür olgularda küçük hücreli karsinom ile birlikte adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom bulunabilir (33).

Adenoskuamöz ve Skuamöz hücreli karsinom: Çoğunlukla pelvik radyasyona, ÜK'e ve şistozomiazisli vakalara ikincil olarak gelişen kolorektal karsinomlar bu gruptadır. Tüm kolorektal karsinomlar dikkate alındığında çok seyrek görülür. Bu tanıyı vermek için vücudun başka bir bölgesinde skuamöz karsinom odağı bulunmamalıdır (33).

Medüller karsinom: Nadir görülen bir varyanttır. Veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü ve bol pembe sitoplazmalı tümör hücreleri malign hücre adaları oluştururlar. Tümör adaları çevresinde ve intraepitelyal alanda lenfositler izlenir (35).

İndiferansiye karsinom: Bu nadir görülen tümörler morfolojik diferansiasyonlarını yitirmiş olup değişik histolojik görünümler sergileyebilirler. MSI-H ile tipik olarak birlikte görülen bu tümörlerin genetik yapısı farklıdır (32, 35).

Diğer varyantlar: Kolorektal karsinomun şeffaf hücreli adenokarsinom, karsinosarkom, koryokarsinom alanları içeren adenokarsinom ve hepatoid adenokarsinom gibi nadir varyantları da vardır (33).

2.5.9. Histolojik Grade

Tümör dokusundaki glandüler yapıların yoğunluğuna ve hücreler dizilime göre derecelendirme yapılır (33). Karsinomlarda diferansiasyon heterojenitesi gözlemlendiğinde gradelendirmede en az diferansiye komponent dikkate alınır (35).

Grade I (iyi diferansiye) karsinomlarda tümör kitlesinin %95'ten fazlası glandüler yapılardan oluşur. Hücreler uniformdur. Polarite kaybı yok veya minimal olup adenom epitelini andırır (33, 35–37).

Grade II (orta diferansiye) karsinomlarda tümörün %50-95'ini glandüler yapılar oluşturur. Glandlar basit ya da kompleks olabilir. Nükleer polaritede hafif-orta derecede kayıp olur (33, 35–37).

Grade III (az diferansiye) karsinomlarda tümör kitlesinin %50'den azını glandüler yapılar oluşturur. Nükleer polarite tamamen bozulmuş olup hücreler belirgin şekilde pleomorfiktir (33, 35–37).

Grade IV (indiferansiye) karsinomlarda tümör kitlesinin %5'ten daha azını glandüler yapılar oluşturur veya hiç glandüler yapı yoktur (37).

Taşlı yüzük hücreli karsinom ve müsinöz adenokarsinom grade III olarak kabul edilir (35). Küçük hücreli karsinom ile indiferansiye karsinom ise grade IV olarak değerlendirilir (36).

2.5.10. Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Bulgular

Kolorektal karsinomların büyük bir çoğunluğu histokimyasal olarak müsin ile pozitif boyanırlar. İmmünohistokimyasal olarak ise keratin ile daima pozitif boyanırlar. Genel olarak keratin 20 ile immünoreaktivite gösterirken keratin 7 ile boyanma göstermezler ve bu özellikleri ile akciğer ve over gibi diğer adenokarsinomlardan kolaylıkla ayrılırlar. Kolorektal adenokarsinomlarda Karsinoembriyjenik Antijen (CEA) reaktivitesi kuraldır. Eğer adenokarsinomda CEA reaktivitesi görülmezse kolorektal adenokarsinom tanısından uzaklaşılır. CEA'nın immünohistokimyasal paterni ile serum seviyeleri arasında iyi bir korelasyon vardır, fakat tümörün evre ve diferansiasyonu ile bir ilişkisi yoktur (3).

2.5.11. Moleküler Genetik

Kolonun ailesel karsinomlarının çeşitli tiplerinin tanımlanmasıyla bu tümörlerle ilişkili bazı genetik değişiklikler de keşfedilmiştir. Bunu, sporadik kolorektal kanserlerde meydana gelen somatik mutasyonların gösterilmesi takip etmiştir. Bu genlerden önde gelenleri APC geni, k-ras, mismatch tamir genleri, p53 ve c-myc genleridir. Kolorektal karsinomların patogenezinde önemli olan diğer moleküller E-kaderin ve kateninlerdir. β -katenin, APC proteini ile ilişkilidir ve adenom-karsinom sürecinin tüm evrelerinde rol alır. Kolorektal karsinomlarda E-kaderin ve α -kateninin ekspresyonu lokal invazyon ve metastaz ile korelasyon gösterir (3).

2.5.12. Tümör Yayılımı ve Metastaz

Kolorektal kanserlerin tamamı lenfatikler ve kan damarları ile metastaz yaparak ya da komşu dokulara direkt invazyon yoluyla yayılım gösterirler (1, 3). Karaciğer ve bölgesel lenf nodları metastazın en sık görüldüğü alanlardır. Ayrıca akciğer, periton ve overlere de

metastazlar siktir. Daha seyrek olarak ise santral sinir sistemi, kemik, uterus, oral kavite ve testise metastaz yapar. Az diferansiye alanlar içeren ve yoğun infiltratif büyüme paterni gösteren tümörlerde lenf nodu metastazı daha sık olarak görülür. Lenf nodu tutulumlarında perinodal dokuların dikkatle incelenmesi gerekir. Çünkü bu durumda tümör dokusu kapsülü geçerek çevre venlere invazyon gösterebilir. Karaciğer metastazı yaygın kan damarı invazyonunun bir göstergesidir (3).

2.5.13. Evreleme

TNM sistemi

T= Primer tümör

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor

T0: Primer tümör bulgusu yok

Tis: Karsinoma insitu

T1: Tümör submukozaya invazedir

T2: Tümör muskularis propriyaya invazedir

T3: Tümör subseroza ya da nonperitonealize perikolik/perirektal dokuya invazedir

T4: Tümör komşu organ ya da yapılara invazyon göstermekte ve/veya visseral peritonu perforare etmektedir.

N= Bölgesel lenf bezleri

Nx: Bölgesel lenf bezleri değerlendirilememektedir

N0: Lenf nodu tutulumu yoktur

N1: 1–3 lenf nodu tutulumu vardır

N2: 4 ya da daha fazla lenf nodu tutulmuştur

M= Uzak metastaz

Mx: Uzak metastaz değerlendirilememektedir

M0: Uzak metastaz yoktur

M1: Uzak organ metastazı vardır.

Bu tanımlara göre evreler;

Evre 0: Tis, N0, M0

Evre I: T1, N0, M0
T2, NO, MO

Evre II: T3, N0, M0
T4, N0, M0

Evre III: Herhangi bir T, N1, M0
Herhangi bir T, N2, M0

Evre IV: Herhangi bir T, herhangi bir N, M1 olarak belirlenmiştir (2, 32, 36).

2.5.14. Tedavi

Kolorektal karsinomlarda primer tedavi cerrahi rezeksiyondur. Cerrahinin tipi tümörün yerleşim yerine göre farklılıklar gösterir. Yüksek oranda rezeke edilmesine rağmen, rezeke edilmiş vakaların yaklaşık yarısı nüks ve metastazlardan dolayı kaybedilmektedir. Bu riski azaltmak için kombine postoperatif kemoterapi ve radyoterapi uygulanır. Bazı vakalarda karaciğer ve diğer organlardaki izole uzak metastazların cerrahi eksizyonunun yaşam süresini artırdığı gözlenmiştir (2, 3).

2.5.15. Prognoz

Yapılan geniş kapsamlı çalışmalarda kolorektal karsinomun, küratif rezeksiyondan sonra 5 yıllık sağ kalım oranı %40–60 arasındadır. Rezeksiyon sonrası ilk 2 yılda %71, ilk 5 yılda ise %91 oranında rekürrensler ortaya çıkar (3). Kolorektal karsinomlarda klinikopatolojik prognostik faktörler şunlardır:

Yaş: Çok genç ve çok yaşlı bireylerde görülen kolorektal karsinomların prognozları çoğunlukla daha kötüdür. Gençlerdeki kötü prognozda gecikmiş tanı, zeminde ÜK varlığı, müsinoz ve taşlı yüzük hücreli karsinomların daha sık görülmesi etkilidir (3).

Cinsiyet: Erkeklerdeki kolorektal karsinomların prognozları kadınlardakine göre biraz daha kötüdür (3).

Serum CEA düzeyi: Serum CEA seviyelerinin 5,0 ng/ml'nin üzerinde olması tümörün evresinden bağımsız olarak prognozu kötü etkilediği gözlenmiştir (3).

Tümör lokalizasyonu: Prognoz üzerindeki etkisi net değildir. Sigmoid kolon, rektum karsinomlarının kötü ve sol kolon karsinomlarının ise daha iyi prognozlu olduğunu gösteren çalışmalar yanında lokalizasyonun, prognozu düşük oranda etkilediği sonucuna varan çalışmalar da mevcuttur (3).

Birden fazla tümör odağı varlığı: Senkron veya metakron malignitesi olan hastalardaki yaşam süresi, soliter kolorektal karsinomlu hastalardaki ile benzerdir (3).

Lokal yayılım: Polipte rastlantısal olarak ortaya çıkarılan fokal mikroskopik karsinomda, tümör çoğunlukla mukoza ve submukozaya sınırlı olduğundan prognoz mükemmeldir. Tümör, serozaya kadar yayıldığında ve bölgesel lenf bezlerini tuttuğunda prognoz kötüleşir (3).

Tümör boyutu: Tümör boyutu ve prognoz arasında korelasyon olmasına rağmen, bunun güvenilir bir prognostik faktör olmasını engelleyecek kadar çok istisna vardır. Benzer şekilde tümör boyutu ile lenf nodu metastazı arasındaki ilişki de zayıftır (3).

Obstrüksiyon: Dukes'e göre evrelenen bazı çalışmalarda obstrüksiyon, bağımsız kötü prognostik faktör olarak bulunmuştur (3).

Perforasyon: Barsak duvarında yaygın tümör invazyonu sonucu ortaya çıkan perforasyonda prognoz kötüdür (3).

Tümör sınırları ve inflamatuvar reaksiyon: Pushing tarzında sınırları olan ve tümör ile komşu doku arasında inflamatuvar yanıt görülen tümörlerde prognoz daha iyidir. Tümör stromasında eozinofiller ve S-100 protein pozitif dentritik hücrelerin infiltrasyonunun görülmesi de iyi prognoz lehinedir (3).

Vasküler invazyon: Vasküler invazyonun varlığı, 5 yıllık yaşam süresini belirgin derecede azaltır. Vasküler invazyon ektramural damarlarda görüldüğü zaman, barsak duvarında lokalize olanlara göre prognoz açısından daha önemlidir. Lenfatik invazyon ise kan damarı invazyonuna göre daha az önemli olmasına rağmen ileri evre hastalarda yaygın lenfatik invazyonun görülmesi prognozu kötü yönde etkiler (3).

Perinöral invazyon: Perinöral invazyon genellikle hastalığın ilerlemiş olduğuna dikkat çeker ve diğer kötü prognostik bulgulara eşlik etme eğilimindedir (3).

Tümörün mikroskopik tipi: Müsinöz karsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom ve anaplastik karsinom klasik adenokarsinomlara göre kötü prognozludur (3).

Asiner morfoloji: Mikroasiner büyüme paterni bağımsız bir prognostik faktör değildir ancak kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (3).

Nöroendokrin hücre varlığı: Bu hücrelerin varlığı prognozu olumsuz yönde etkiler (3).

Müsin ile ilişkili antijenler: Müsin ile ilişkili olan sialyl-Tn ve sialyl-lewis(x) antijenlerini ifade eden karsinomların klinik seyirleri daha agresiftir (3).

Hücre proliferasyonu: Hücre siklusunun S-fazında ölçülmüş yüksek proliferatif aktivitenin kötü prognozla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır (3).

Lenf nodu tutulumu: Tümörün lenf nodlarına yayılmış olması 5 yıllık yaşam süresini belirgin derecede azaltır. Tutulan lenf nodu sayısının fazla olması ve özellikle tümörün apikalindeki nodların tutulumu prognozu olumsuz etkiler. Pozitif lenf nodu sayısı 6'dan fazla ise 5 yıllık yaşam süresi %10'dan daha azdır. Metastatik mesenterik lenf nodu sayısı 16'dan fazla olan hastaların tamamı 5 yıl içinde ölür. Tümör boyutu ile tutulan lenf nodu sayısı arasında korelasyon vardır. İmmünohistokimyasal veya moleküler tekniklerle tespit edilen mikrometastazların da kötü prognozla ilişkilendirilmesine rağmen, bu konu netlik kazanmamıştır (3).

Evre: Kolorektal karsinomlarda prognozu belirlemede lokal yayılım, lenf nodu tutulumu ve uzak metastaz gibi kriterlerle belirlenen evreleme en önemli bulgudur (3).

Anjiogenez: Kolorektal karsinomlarda birbirinden bağımsız çalışmalarda anjiogenezin, rekürrensde ve yaşam süresinin azalmasında rol aldığı gösterilmiştir (5–8).

2.6. D2–40

D2–40 immün boyası, son zamanlarda kullanılmaya başlanılan immünohistokimyasal belirteçlerdendir. Sialoglikoprotein yapısında, 40 kDa ağırlığında monoklonal bir antikordur. Aslında onkofetal membran antijeni olup, embriyonik dönemdeki testis ile testiküler ve overian germ hücreli tümörlerden salınır. Embriyonik dönemden puberteye kadar testiste immatür sertoli hücrelerinden salınımı olurken erişkin testis dokusunda bulunmaz. D2–40

antikoru, müsin tipinde bir transmembran proteini olan ve lenfatik epitelden yoğun bir Şekilde salınan podoplanine bağlanır (12, 38–40).

Lenfatik endotelyal hücreleri göstermede D2–40 immün boyasının sensitifitesi ve spesifitesi yüksektir. Ancak arteriol, venül ve kapiller gibi vasküler yapıların endotellerini boyamaz. Sitoplazmik boyanma paterni gösterir. Lenfatik endotelleri boyadığı için lenfatik doku kökenli tümörleri ve lenfatiklerdeki tümör invazyonunu tanımada oldukça faydalıdır (41, 42).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada 2002 ve 2009 yılları arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında kolorektal adenokarsinom tanısı alan yaşları 32–87 arasında değişen, 17'si kadın, 43'ü erkek 60 olgu incelemeye alınmıştır.

3.1. Materyallerin Elde Edilmesi ve Uygun Parafin Blok Seçimi

Bölümümüzdeki kayıt defterleri ve bilgisayar arşivi taranarak çalışmada kullanacağımız olgular belirlenmiştir. İlk aşama olarak olgulara ait patoloji raporları arşivden çıkarılmış ve olguların patoloji protokol numaraları tespit edilmiştir. Ardından hematoksilien eozin (H&E) boyalı preparatlar arşivden çıkarılıp uygun olanlar seçildikten sonra, bu preparatlara ait bloklar blok arşivinden çıkarılmıştır. Çalışmamızda, araştırmanın amacına uygun olacak şekilde, her olgu için biri tümör ve peritümöral alanları içeren diğeri de normal kolon dokusunu temsil eden iki adet parafin blok seçilmiştir.

3.2. Boyasız Kesitler ve Deparafinizasyon

Uygun blokların seçiminden sonra, her bloktan, bir tanesi yedek olmak üzere 2'şer adet boyasız kesitler hazırlandı. Kesit aşamasında “Leica RM 2145” model mikrotom kullanılarak 4 mikron kalınlığında kesitler elde edildi. İmmünohistokimyasal boyamada dokuların dökülmemesi için kesitler “polysine” kaplı adezivli lamlara alındı. Kesit alma işlemi tamamlandıktan sonra, lamlar etüvde 65 santigrat derecede 15 dakika bekletilerek, parafinin erimesi sağlandı. Etüvden çıkarılan lamlar, ksilolde 10 dakika bekletildi ve deparafinizasyon işlemi tamamlandı.

3.3. İmmünohistokimyasal Boyama

Patolojide esas olarak ışık mikroskobunda, H&E boyalı preparatlara bakılarak tanı konulmaktadır. Fakat bazı durumlarda tanıya yardımcı olabilecek özel teknikler de kullanılmaktadır. İmmünohistokimyasal boyama yöntemi bu tekniklerden biridir. Düşünülen tanının desteklenmesi, ayırıcı tanıya gidilmesi ve tümör alt tiplerinin belirlenmesinde yardımcı olmaktadır.

Temelde antijen-antikor etkileşmesine dayalı olan immünohistokimyasal boyamada, uygulama sırasında antikor, enzim ve kromojen gibi değişik maddeler kullanılmaktadır. Bu maddeler günümüzde farklı firmalar tarafından, konsantre ya da kullanıma hazır olmak üzere iki formda piyasaya sürülmektedir. Çalışmamızda kullandığımız D2-40 antikoru, kullanıma hazır formda, DakoCytomation marka olup, klon D2-40 ve katalog numarası N1607'dir. İmmünohistokimyasal boyamada sırasıyla aşağıdaki işlemler takip edilmiştir.

1-Adezivli lamlara alınan dokular, antijeniteyi artırmak amacı ile 1/10 oranında distile su ile sulandırılmış sitrat tampon içerisine konuldu ve 10'ar dakikalık 2 periyot halinde, 360 santigrat derecedeki mikrodalga fırında, 20 dakika kaynatıldı. Bu işlem sırasında solüsyon düzeyinin eksilmemesine ve oda sıcaklığının 22 santigrat derece olmasına dikkat edildi.

2-Mikrodalga fırınından çıkarılan dokuların etrafı, özel antikor kalemi ile işaretlenerek üzerine uygulanacak maddelerin dağılması önlendi.

3-Lamlar, işlemin yapılacağı plastik kaplar üzerine dizilerek, üzerine "Phosphate Buffered Solution" (PBS) damlatıldı ve 5 dakika bekletildi.

4-PBS uzaklaştırıldıktan sonra %3'lük hidrojen peroksit damlatıldı ve 15 dakika bekletildi. Bu sayede zemin boyamasının engellenmesi hedeflendi.

5-PBS ile yıkandıktan sonra "Large volume ultra V blok" ile 5 dakika bekletildi ve tekrar PBS ile yıkandı.

6-PBS uzaklaştırılıp kullanıma hazır D2-40 antikoru dokulara damlatıldı ve oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. Yeniden PBS ile yıkandı.

7-PBS uzaklaştırıldıktan sonra "Biotinylated goat antipolyvalent" ile 15 dakika bekletildi, PBS ile yıkandıktan sonra "Large volume streptavidin peroxidase" 15 dakika uygulandı. Tekrar PBS ile yıkandı.

8-Bu aşamada 1 cc “DAB substrate” içerisine 2 damla “DAB chromogen” damlatılarak hazırlanan kromojen solusyonu ile 5 dakika bekletildi.

9-Son aşamada ise preparatlar çeşme suyunda yıkandı ve 1 dakika hematoksilin ile boyandı. Tekrar çeşme suyunda yıkandı ve sırası ile 5 dakika alkolden, 5 dakika ksilolden geçirilerek lamlar entellam ile kapatıldı.

3.4. Skorlama

İmmünohistokimyasal değerlendirmede intratümöral, peritümöral alandaki ve normal barsak dokusundaki submukozal lenfatik sayıları, Olympus marka BX51 mikroskopta yoğun oldukları 3 büyük büyütme alanında (0,66 milimetrekare) sayıldı ve sayı olarak ifade edildi. Ayrıca olgulara ait H&E boyalı tüm preparatlar gözden geçirilerek lenfatik invazyon varlığı açısından olgular değerlendirildi.

3.5. İstatistik

Peritümöral ve intratümöral alandaki lenfatik damar sayılarının ortalaması alındı ve ortalama değerini altı ve üstü olmak üzere 2 grup yapıldı. Ayrıca normal barsak dokusunda submukozal alandaki lenfatikler de sayıldı ve ortalamaları alındı. Mevcut verilerin analizi için Ki-kare testi kullanıldı. Veriler, Windows işletim sistemi altında çalışan SPSS programı kullanılarak analiz edildi. Bu değerlendirmede 0,05’den küçük p değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Genel Bulgular

Çalışmamızda değerlendirmeye aldığımız 60 olgunun 43'ü (%71,7) erkek, 17'si (%28,3) kadındır. Olguların yaş aralığı 32–87 olup, yaş ortalaması 58'dir (Tablo 4.1). Vakaların %26,7'si 50 yaşından küçük olup en sık görüldüğü yaş grubu %25'lik oran ile 50–59 yaşları arasındadır.

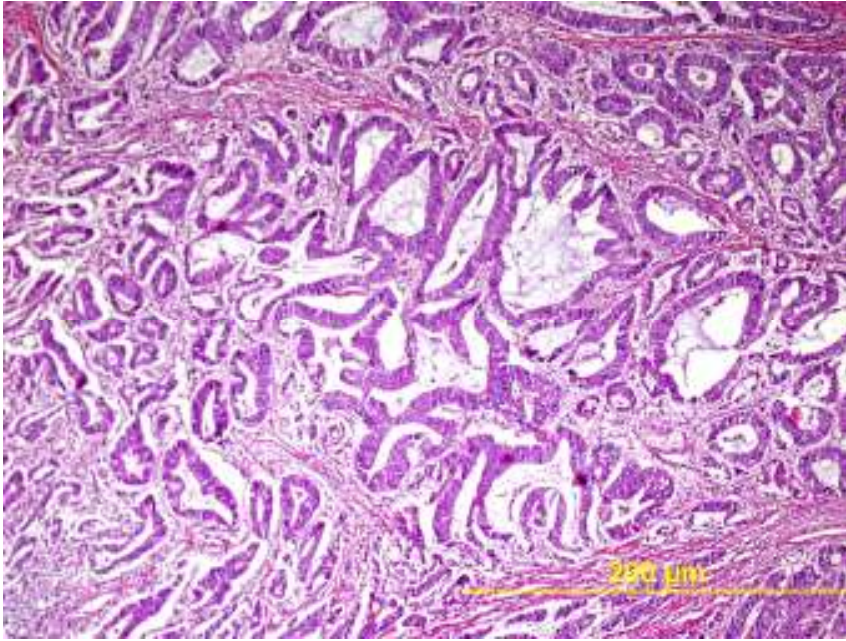
Tablo 4.1. Olguların yaş gruplarına göre dağılımı

| Yaş grupları | 30–39 | 40–49 | 50–59 | 60–69 | 70–79 | 80–89 | Toplam |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| Olgu sayısı | 4 | 12 | 15 | 12 | 12 | 5 | 60 |
| % | 6,7 | 20 | 25 | 20 | 20 | 8,3 | 100 |

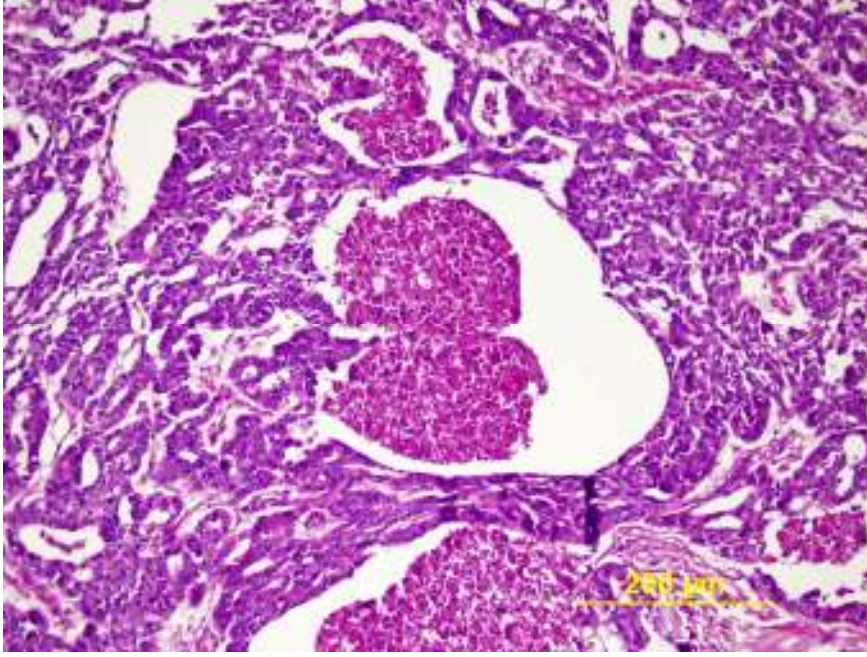
Yapılan histomorfolojik inceleme sonucunda olguların 19'u (%31,7) iyi diferansiye, 20'si orta (%33,3) ve 21'i (%35) az diferansiye olarak değerlendirilmiş olup indiferansiye vakamız yoktur (Tablo 4.2, Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3).

Tablo 4.2. Olguların histolojik gradelerine göre dağılımı

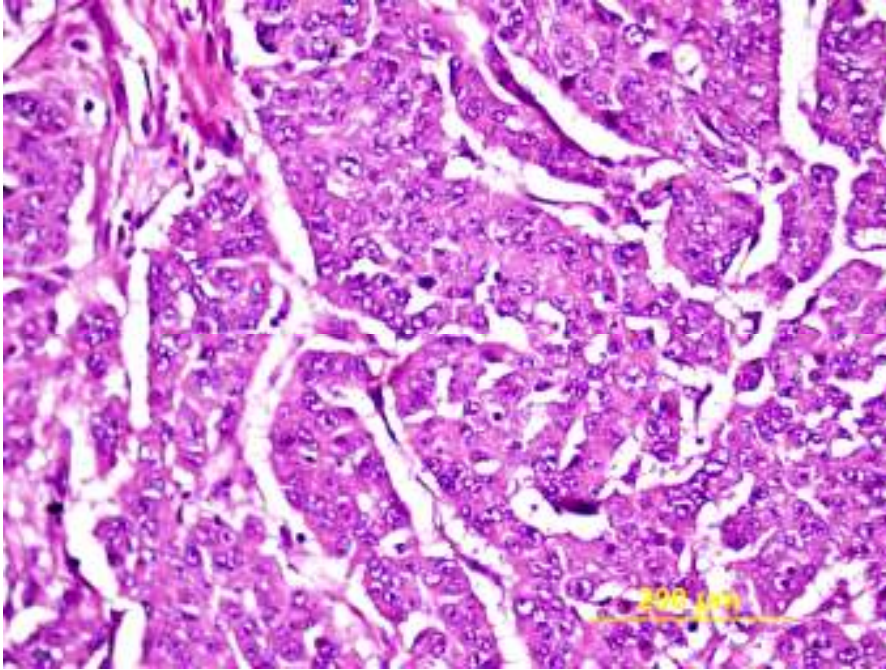
| Grade | İyi (I) | Orta (II) | Az (III) | İndiferansiye (IV) | Toplam |
|-------------|------------|--------------|-------------|-----------------------|--------|
| Olgu sayısı | 19 | 20 | 21 | 0 | 60 |
| % | 31,7 | 33,3 | 35 | 0 | 100 |



Şekil 4.1. İyi diferansiye kolon adenokarsinomunda neoplastik gland yapıları (H&E, x100)



Şekil 4.2. Orta diferansiye kolon adenokarsinomunda neoplastik glandüler yapılar ve lümenlerindeki nekrotik selüler materyal (H&E, x200)



Şekil 4.3. Az diferansiye kolon adenokarsinomunda atipik tümöral hücrelerin bir araya gelmesinden oluşan solid tümöral alanlar (H&E, x400)

Çalışmamızdaki olguların 28'inde (%46,7) lenf nodu metastazı izlenirken, 32'sinde (%53,3) lenf nodu metastazı saptanmamıştır (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Lenf nodu metastazı olan ve olmayan olguların sayı ve yüzdeleri

| Lenf nodu metastazı | Pozitif | Negatif | Toplam |
|---------------------|---------|---------|--------|
| Olgu sayısı | 28 | 32 | 60 |
| % | 46,7 | 53,3 | 100 |

Olguların tümör evresine bakıldığında; 5 olgu evre 1 (%8,3), 27 olgu evre 2 (%45) ve 28 olgu evre 3 (%46,7) olarak değerlendirilmiş olup evre 4 olgumuz mevcut değildir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Çalışmamıza aldığımız kolon adenokarsinomlarının evrelerine göre dağılımı

| Evre | 1 | 2 | 3 | 4 | Toplam |
|-------------|-----|----|------|---|--------|
| Olgu sayısı | 5 | 27 | 28 | 0 | 60 |
| % | 8,3 | 45 | 46,7 | 0 | 100 |

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

Lenfatik damar invazyonu pozitif olan olgu sayısı D2–40 immün boyası ile boyanan olgularda H&E kesitlerine oranla daha yüksek çıkmıştır. Ancak bu inceleme, olgulardan yalnızca 1 adet seçilmiş parafin bloktan hazırlanan D2–40 immün boyalı lam değerlendirilerek yapılmıştır. H&E boyalı preparatlarda 20 vakada (%33,3), D2–40 boyalı

preparatlarda ise 27 vakada (%45) lenfatik tümör invazyonu pozitif olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.5). Yapılan istatistiksel analiz sonucunda anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,001$).

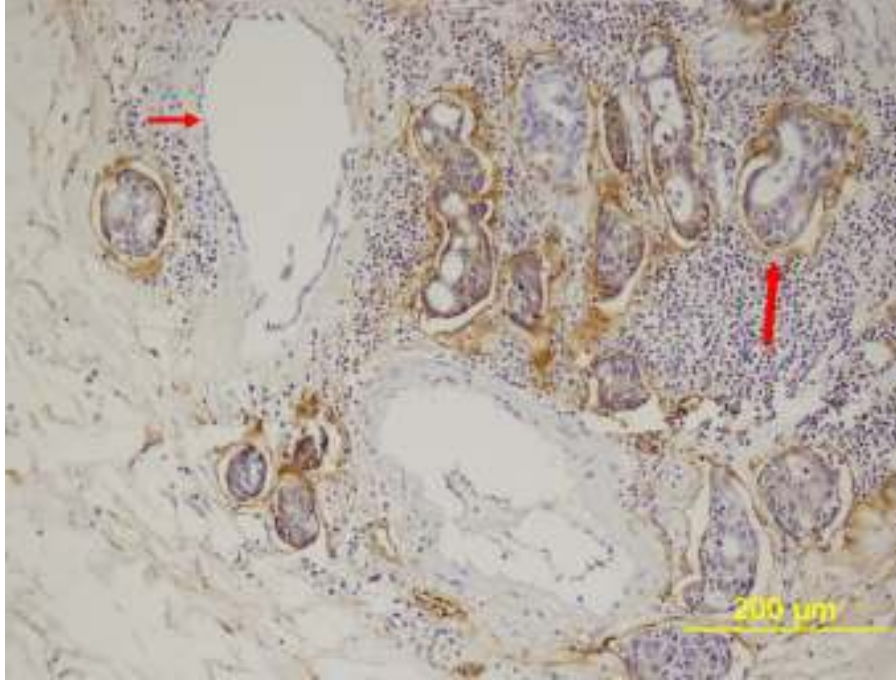
Tablo 4.5. H&E boyalı kesitler ile D2–40 immün boyası kullanılarak hazırlanan kesitlerin incelenmesi sonucu belirlenen lenfatik tümör invazyonu negatif ve pozitif olan olgu sayılarının karşılaştırılması ($p=0,001$)

| Lenfatik tümör invazyonu | H&E | D2–40 |
|--------------------------|------------|-----------|
| Negatif | 40 (%66,7) | 33 (%55) |
| Pozitif | 20 (%33,3) | 27 (%45) |
| Toplam | 60 (%100) | 60 (%100) |

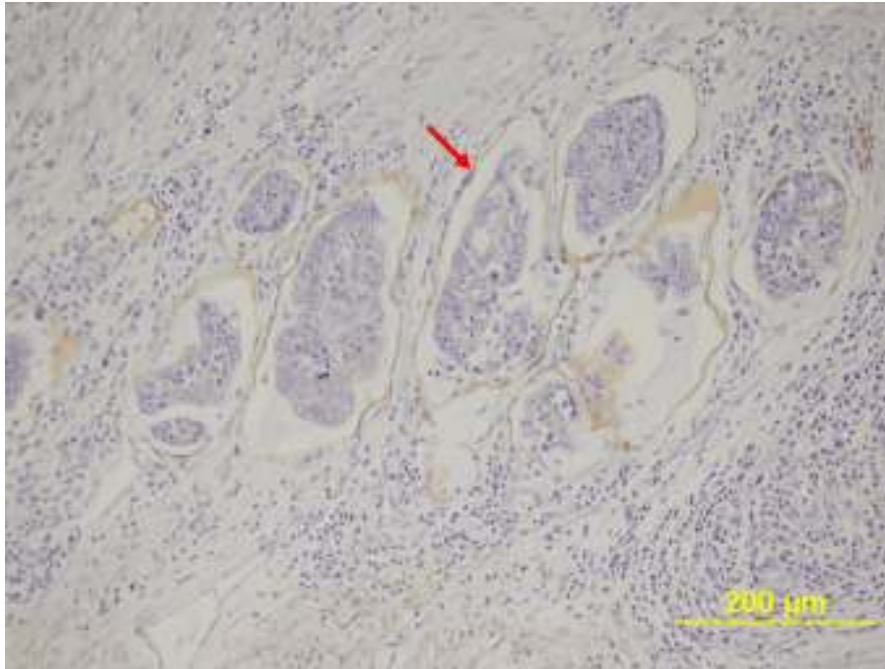
D2–40 immün boyası ile boyanan preparatlarda lenfatik damarlara tümöral hücre invazyonu negatif ve pozitif olan gruplar ile peritümöral alandaki lenfatik sayılarının karşılaştırılmasında, lenfatik damarlara tümöral hücre invazyonu negatif olan gruptaki 20 olguda (%60,6) lenfatik sayısı 24 ve altında, 13 olguda (%39,4) ise 24'ün üzerinde saptandı. Lenfatik damarlara tümöral hücre invazyonu pozitif olan grupta ise 10 olguda (%37) ortalama değer ve altında, 17 olguda (%63) ortalama değer üzerinde tespit edildi ve aralarında anlamlı bir istatistiksel farklılık bulunamadı ($p=0,059$), (Tablo 4.6, Şekil 4.4, Şekil 4.5).

Tablo 4.6. D2–40 immün boyası kullanılarak belirlenen lenfatik tümör invazyon durumu ile peritümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması ($p=0,059$)

| Lenfatik tümör invazyonu | 24 ve altı | 24 üzeri | Toplam |
|--------------------------|------------|------------|--------|
| Negatif | 20 (%60,6) | 13 (%39,4) | 33 |
| Pozitif | 10 (%37) | 17 (%63) | 27 |
| Toplam | 30 (%50) | 30 (%50) | 60 |



Şekil 4.4. D2–40 immün boyası ile pozitiflik gösteren lenfatikler içindeki tümöral hücreler (büyük ok), yanısıra kan damarlarında D2–40 immünoreaktivitesinin yokluğu (küçük ok), ayrıca orta derece yoğunlukta inflamatuvar infiltrasyon (IHK, x200)



Şekil 4.5. D2–40 immün boyası ile pozitiflik gösteren lenfatik damarlar içerisindeki tümöral hücreler (ok) (IHK, x200)

D2–40 immün boyası ile boyanan preparatlarda lenfatik damarlara tümöral hücre invazyonu negatif ve pozitif olan gruplar ile intratümöral alandaki lenfatik sayılarının karşılaştırılmasında, lenfatik damarlara tümöral hücre invazyonu negatif olan gruptaki 23 olguda (%69,7) lenfatik sayısı 10 ve altında, 10 olguda (%30,3) ise ortalama değer üzerinde saptandı. Lenfatik damarlara tümöral hücre invazyonu pozitif olan grupta ise 12 olguda (%44,4) ortalama değer olan 10 ve altında, 15 olguda (%55,6) ortalama değer üzerinde tespit edildi (Tablo 4.7) ve aralarındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,043$).

Tablo 4.7. D2–40 immün boyası kullanılarak belirlenen lenfatik tümör invazyon durumu ile D2–40 immünoaktivitesi gösteren intratümöral lenfatik damar sayılarının karşılaştırılması ($p=0,043$)

| Lenfatik tümör invazyonu | 10 ve altı | 10 üzeri | Toplam |
|--------------------------|------------|------------|--------|
| Negatif | 23 (%69,7) | 10 (%30,3) | 33 |
| Pozitif | 12 (%44,4) | 15 (%55,6) | 27 |
| Toplam | 35 (%58,3) | 25 (%41,7) | 60 |

D2–40 immün boyası ile pozitif boyanan peritümöral yerleşimli lenfatik damar sayıları ile grade karşılaştırılmasında, iyi diferansiye 8 olguda (%42,1), orta diferansiye 11 olguda (%55) ve az diferansiye 11 olguda (%52,4) boyanan lenfatik sayısı, ortalama değer olan 24 ve altında izlendi. Ortalama değer üzerinde boyanan lenfatik sayısı ise iyi diferansiye 11 olguda (%57,9), orta iferansiye 9 olguda (%45) ve az diferansiye 10 olguda (%47,6) saptandı (Tablo 4.8) ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p=0,697$).

Tablo 4.8. Histolojik grade ile peritümöral alanda D2–40 immün boyası tarafından boyanan lenfatik damar sayılarının karşılaştırılması (p=0,697)

| Grade | 24 ve altı | 24 üzeri | Toplam |
|--------|------------|------------|--------|
| İyi | 8 (%42,1) | 11 (%57,9) | 19 |
| Orta | 11 (%55) | 9 (%45) | 20 |
| Az | 11 (%52,4) | 10 (%47,6) | 21 |
| Toplam | 30 (%50) | 30 (%50) | 60 |

Histolojik grade ile D2–40 immüoreaktivitesi gözlenen intratümöral yerleşimli lenfatik damar sayılarının karşılaştırılmasında, iyi diferansiye 8 olguda (%42,1), orta diferansiye 15 olguda (%75) ve az diferansiye 12 olguda (%57,1) boyanan lenfatik sayısı ortalama değer ve altında izlendi. Ortalama değer üzerinde boyanan lenfatik sayısı ise iyi diferansiye 11 olguda (%57,9), orta diferansiye 5 olguda (%25) ve az diferansiye 9 olguda (%42,9) saptandı (Tablo 4.9). İstatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki görülmedi (p=0,113).

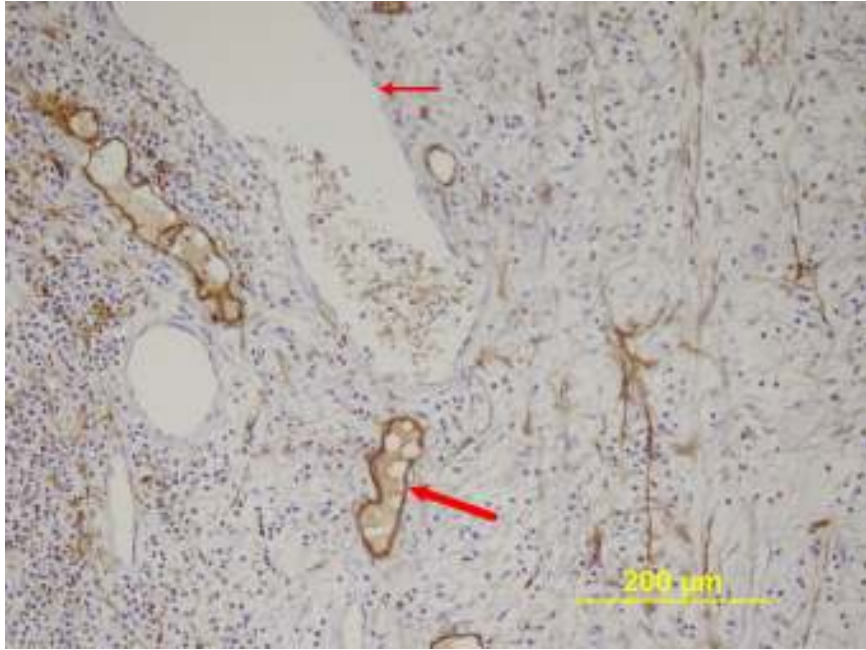
Tablo 4.9. Histolojik grade ile D2–40 immüoreaktivitesi gözlenen intratümöral lenfatik damar sayılarının karşılaştırılması (p=0,113)

| Grade | 10 ve altı | 10 üzeri | Toplam |
|--------|------------|------------|--------|
| İyi | 8 (%42,1) | 11 (%57,9) | 19 |
| Orta | 15 (%75) | 5 (%25) | 20 |
| Az | 12 (%57,1) | 9 (%42,9) | 21 |
| Toplam | 35 (%58,3) | 25 (%41,7) | 60 |

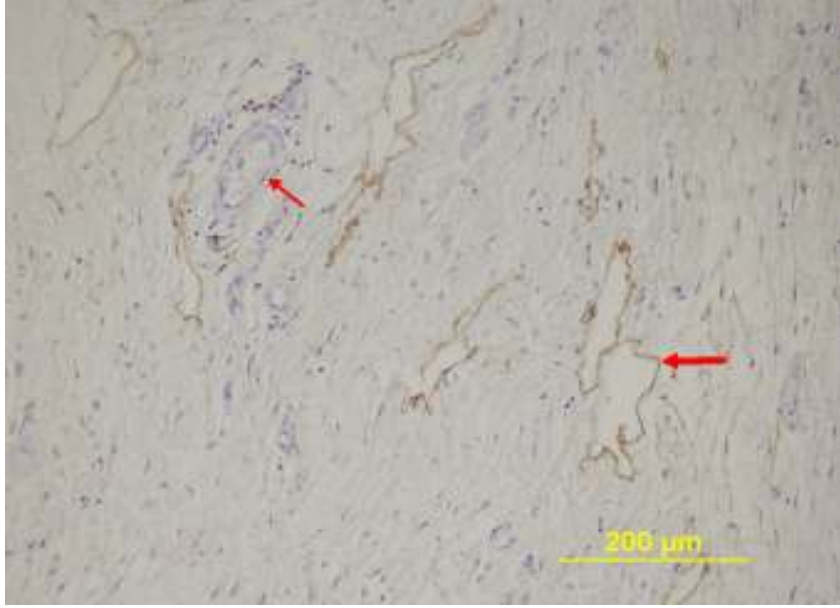
Lenf nodu metastazı negatif olan 32 olgu ve pozitif olan 28 olgunun, D2–40 immün boyası ile boyanma gösteren peritümöral alandaki lenfatik sayıları karşılaştırıldığında, negatif olan gruptaki 16 olguda (%50) peritümöral lenfatik sayısının ortalama değer olan 24 ve altında, 16'sında ise (%50) 24'ün üzerinde saptandı. Lenf nodu metastazı pozitif olan grupta ise 14 olguda (%50) 24 ve altında, diğer 14 olguda (%50) ise 24 üzerinde izlendi (Tablo 4.10, Şekil 4.6, Şekil 4.7) ve bu iki gruptaki peritümöral lenfatik sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (p=0,602).

Tablo 4.10. Lenf nodu metastazı negatif ve pozitif olan gruplarda D2-40 immün boyası ile belirlenen peritümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması (p=0,602)

| Lenf nodu metastazı | 24 ve altı | 24 üzeri | Toplam |
|---------------------|------------|-----------|--------|
| Negatif | 16 (%50) | 16 (%50) | 32 |
| Pozitif | 14 ((%50) | 14 ((%50) | 28 |
| Toplam | 30 (%50) | 30 (%50) | 60 |



Şekil 4.6. Peritümöral alanda D2-40 immün boyası ile boyanan lenfatikler (büyük ok) ve D2-40 immünoreaktivitesi izlenmeyen kan damarları (küçük ok) (İHK, x200)

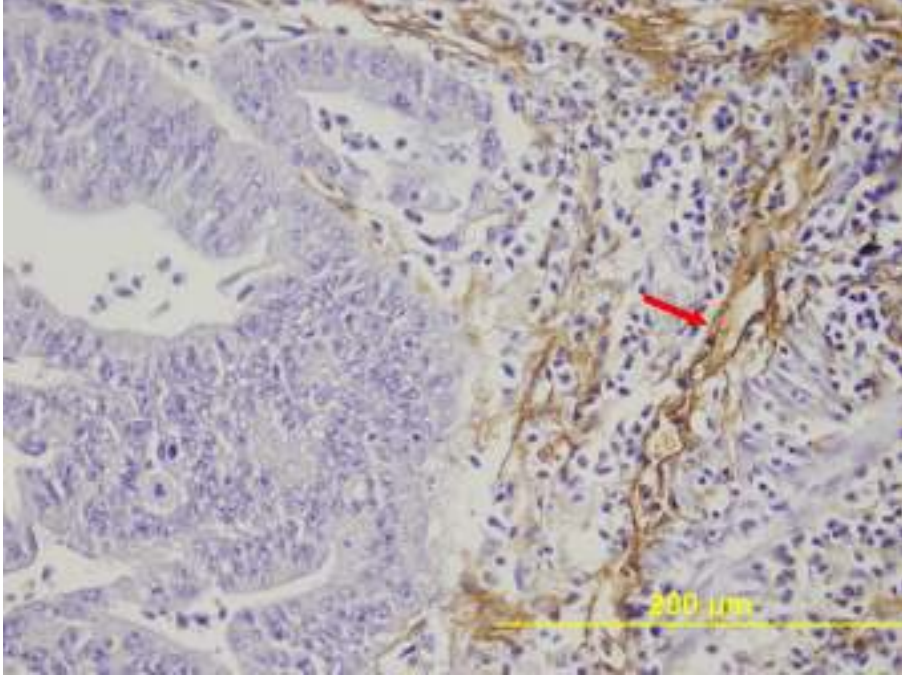


Şekil 4.7. D2-40 immün boyası ile boyanma gösteren peritümöral lenfatik damarlar (büyük ok) ve boyanma göstermeyen kan damarları (küçük ok) (İHK, x200)

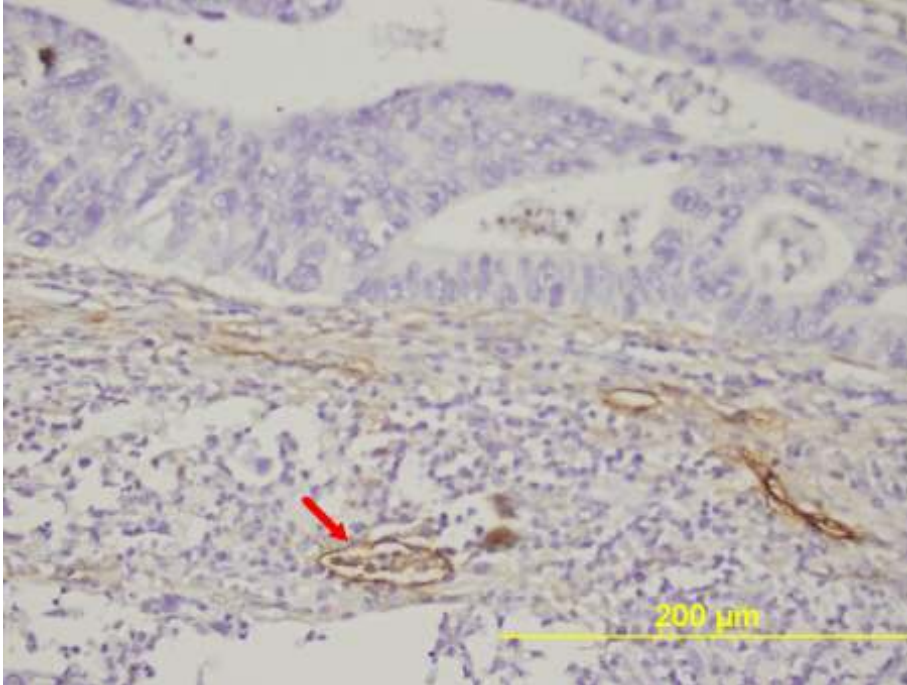
Lenf nodu metastazı negatif olan 32 olgu ve pozitif olan 28 olgunun, D2-40 immün boyası ile boyanma gösteren intratümöral alandaki lenfatik sayıları karşılaştırıldığında, negatif olan gruptaki 18 olguda (%56,3) intratümöral lenfatik sayısının ortalama değer olan 10 ve altında, 14'ünde ise (%43,7) 10'nun üzerinde saptandı. Lenf nodu metastazı pozitif olan grupta ise 17 olguda (%60,7) 10 ve altında, 11 olguda (%39,3) ise 10'nun üzerinde tespit edildi (Tablo 4.11, Şekil 4.8, Şekil 4.9) ve bu iki gruptaki intratümöral lenfatik sayıları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,466$).

Tablo 4.11. Lenf nodu metastazı negatif ve pozitif olan gruplarda D2-40 immünoreakifliği gösteren intratümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması ($p=0,466$)

| Lenf nodu metastazı | 10 ve altı | 10 üzeri | Toplam |
|---------------------|-------------|-------------|--------|
| Negatif | 18 (%56,3) | 14 (%43,7) | 32 |
| Pozitif | 17 ((%60,7) | 11 ((%39,3) | 28 |
| Toplam | 35 (%58,3) | 25 (%41,7) | 60 |



Şekil 4.8. D2-40 immün boyası ile boyanma gösteren intratümöral lenfatik damarlar (ok) (İHK, x400)



Şekil 4.9. D2-40 immün boyası ile boyanma gösteren intratümöral lenfatik damarlar (ok) (İHK, x400)

Tümör evresi ile D2–40 immün boyalı preparatlarda belirlenen peritümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılmasında evre 1’deki 4 olguda (%80), evre 2’deki 12 olguda (%44,4) ve evre 3’teki 14 olguda (%50) boyanan peritümöral lenfatik sayısı ortalama değer olan 24 ve altında bulunmuştur. Ortalama değer üzerinde boyanan lenfatik sayısı ise evre 1’deki 1 olguda (%20), evre 2’deki 15 olguda (%55,6) ve evre 3’teki 14 olguda (%50) izlenmiştir (Tablo 4.12). Evrelere göre peritümöral lenfatik sayıları arasında istatistiksel bir ilişki görülmemiştir (p=0,344).

Tablo 4.12. Tümör evresi ile D2–40 immün boyalı preparatlarda belirlenen peritümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması (p=0,344)

| Evre | 24 ve altı | 24 üzeri | Toplam |
|--------|------------|------------|--------|
| 1 | 4 (%80) | 1 (%20) | 5 |
| 2 | 12 (%44,4) | 15 (%55,6) | 27 |
| 3 | 14 (%50) | 14 (%50) | 28 |
| Toplam | 30 (%50) | 30 (%50) | 60 |

Tümör evresi ile D2–40 immünoaktivitesi gösteren intratümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılmasında evre 1’deki 3 olguda (%60), evre 2’deki 15 olguda (%55,6) ve evre 3’teki 17 olguda (%60,7) boyanan lenfatik sayısı ortalama değer olan 10 ve altında bulunmuştur. Ortalama değer üzerinde boyanan lenfatik sayısı ise evre 1’deki 2 olguda (%40), evre 2’deki 12 olguda (%44,4) ve evre 3’teki 11 olguda (%39,3) izlenmiştir (Tablo 4.13). Evrelere göre intratümöral lenfatik sayıları arasında istatistiksel bir ilişki saptanmadı (p=0,925).

Tablo 4.13. Tümör evresi ile D2–40 immünoaktivitesi gösteren intratümöral lenfatik sayılarının karşılaştırılması (p=0,925)

| Evre | 10 ve altı | 10 üzeri | Toplam |
|--------|------------|------------|--------|
| 1 | 3 (%60) | 2 (%40) | 5 |
| 2 | 15 (%55,6) | 12 (%44,4) | 27 |
| 3 | 17 (%60,7) | 11 (%39,3) | 28 |
| Toplam | 35 (%58,3) | 25 (%41,7) | 60 |

D2-40 immün boyası kullanılarak saptanan ortalama lenfatik sayısı, normal kolonda submukozal alanda 7, peritümöral alanda 24 ve intratümöral alanda 10 olarak belirlenmiştir. Normal kolonda submukozal alandaki lenfatik sayısı ile sırasıyla peritümöral ve intratümöral alandaki lenfatik sayıları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında sonuç anlamlı bulunmuştur ($p=0,000$, $p=0,000$). Ayrıca intratümöral ve peritümöral lenfatik sayıları arasındaki farklılık da istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p=0,013$).

5. TARTIŞMA

Kolorektal karsinomlar başta Birleşik Devletler, Avustralya, Yeni Zelanda ve Doğu Avrupa ülkeleri olmak üzere tüm dünyada görülmektedir (2). Amerika Birleşik Devletlerinde kanser nedenli ölümler arasında üçüncü sırada yer alır (1).

Kolorektal kanser etyolojisi multifaktöriyeldir. Başta diyet olmak üzere çevresel faktörler, hastanın yaşı, kolonda adenom varlığı, CH ve ÜK gibi kronik inflamatuvar barsak hastalıkları, aile öyküsü, pelvik bölgeye radyasyon uygulanması sayılabilir (4). Bu neoplaziler 7. ve 8. dekatta pik yapar. Kadın ve erkeği eşit oranda tutar (1, 3). Ortalama görülme yaşı ise 62'dir. Olguların %20'den daha azını 50 yaş altı hastalar oluşturur (1). Çalışmamızda yer alan olguların yaş ortalaması 58 olup bu bulgu literatürle benzerlik göstermektedir. Elli yaşın altındaki olgu sayımız (%26,7) ve erkeklerde görülme oranımız (%71,7) literatürde belirtilen oranlardan daha yüksektir.

Kolorektal karsinomların %15-20'si grade I (iyi diferansiye), %60-70'i grade II (orta diferansiye) ve %15-20'si grade III (az diferansiye) olarak izlenir (33). Bizim olgularımızın ise %31,7'si grade I, %33,3'ü grade II ve %35'i grade III olarak değerlendirilmiştir. Buna göre literatürdeki oranlarla kıyaslandığında çalışmamızdaki grade I ve grade III olgular daha yüksek, grade II olgular ise daha düşük seviyede kalmaktadır.

Kolorektal kanserlerin yayılımı lenfatik damarlar başta olmak üzere, kan damarları, direkt komşu dokulara invazyon ya da periton içine ekilme ile gerçekleşir (1, 3). Literatürde birçok çalışmada kolorektal karsinomlarda anjiogenezin tümör rekürrensi ve hastanın hayatta kalım süresini etkilediği gösterilmiştir (5-8). Rutin H&E boyalı preparatlarda lenfovasküler invazyonun varlığı araştırılarak patoloji raporlarında belirtilir. Ancak bazen invazyon olduğu düşünülen histolojik görüntünün damar yapısı olup olmadığı, şayet damar yapısı ise lenfatik mi yoksa kan damarı mı olduğunu belirlemede yardımcı immünohistokimyasal yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla kullanılan immünohistokimyasal belirteçlerden birisi de D2-40'tır. D2-40, siyaloglikoprotein yapısında, 40 kDa ağırlığında monoklonal bir antikordur (12). H&E boyalı preparatların değerlendirilmesinde gözden kaçan lenfatik tümör invazyonlarının D2-40 immün boyası uygulandıktan sonra fark edildiği yönünde çalışmalar

mevcuttur. Kolon karsinomlarında bu doğrultuda yapılan bir çalışma literatürde tespit edilemedi ancak Urabe ve arkadaşları ile Dumoff ve arkadaşları tarafından uterin serviksiz skuamöz hücreli karsinomunda yapılan çalışmada H&E kesitlerinde görülemeyen tümöral lenfatik invazyonların D2-40 immün boyası ile boyandıktan sonra görüldüğü ortaya çıkmıştır. Buna göre D2-40 immün boyasının servikal biyopsilere uygulanmasının rekürrens riskinin azaltılmasında faydalı olabileceğine dikkat çekilmiştir (40,43). Ayrıca Ito ve arkadaşları, invaziv meme karsinomlarında D2-40 immün boyasını kullanarak yaptıkları çalışmada D2-40'ın, H&E kesitlerinde görülemeyen lenfatik tümör invazyonunu göstermede yardımcı önemli bir immünohistokimyasal belirteç olduğu sonucuna varmışlardır (17). Bizim serimizde H&E boyalı preparatlarda 20 vakada (%33,3), D2-40 immün boyalı preparatlarda ise 27 vakada (%45) lenfatik tümör invazyonu pozitif olup D2-40 immün boyası kullanılarak lenfatik invazyon tespit edilen olgu sayısı daha yüksektir. Bu değerler literatür bilgileri ile paralellik göstermektedir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda farklılığın anlamlı olduğu görüldü ($p=0,001$). Bu durum ekonomik nedenler düşünülerek her olgudan tümör içeren yalnızca bir parafin bloktan elde edilen kesitlere D2-40 immün boyası uygulandığı göz önünde tutulduğunda daha da anlam kazanmaktadır. Çünkü rutin incelemelerde lenfovasküler invazyonun varlığı H&E boyalı preparatların hepsi incelenerek yapılmaktadır.

D2-40 immün boyalı preparatlarda tespit edilen lenfatik tümör invazyonu negatif ve pozitif olan olgu sayısı ile yine D2-40 immün boyalı preparatlarda sayılan peritümöral ve intratümöral lenfatik damar miktarlarının karşılaştırıldığı bir çalışma literatürde bulunamamıştır. Serimizde D2-40 immün boyalı preparatların değerlendirilmesiyle oluşturulan lenfatik tümör invazyonu negatif olan 33 (%55) olguluk gruptaki vakalardan 20'sinde (%60,6) peritümöral lenfatik damar sayısı ortalama değer olan 24 ve altında, 13'ünde ise (%39,4) 24'ün üzerinde tespit edildi. Lenfatik damar invazyonu pozitif olan 27 (%45) vakadan ise 10 tanesinde (%37) 24 ve altında, 17 tanesinde (%63) 24'ten fazla sayıda peritümöral lenfatik damar yapıları sayıldı. Yapılan istatistiksel çalışma sonucunda anlamlı bir farklılık ortaya çıkmadı ($p=0,059$). Çalışmamızda D2-40 immün boyalı preparatlarda lenfatik tümör invazyonu izlenmeyen 33 olgudan 23'ünde (%69,7) ortalama değer olan 10 ve altında, 10'unda (%30,3) ortalama değer üzerinde intratümöral lenfatik damar sayıldı. Lenfatik tümör invazyonu görülen olguların ise 12'sinde (%44,4) 10 ve altı, 15'inde (%55,6) 10'un üstünde intratümöral yerleşimli lenfatik damarlar tespit edildi. Elde edilen farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p=0,043$). Başka bir ifade ile bizim çalışmamızda lenfatik

invazyon saptanan olgularda ortalama intratümöral lenfatik sayısı daha fazladır. Bu konuda literatür bulunamaması daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu desteklemektedir.

Literatürde çeşitli tümörlerde grade ile D2-40 immün boyası kullanılarak belirlenen peritümöral ve intratümöral lenfatik sayıları arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar mevcuttur. Miyahara ve arkadaşları oral skuamoz hücreli karsinomlarda lenfatik sayıları ile grade arasında bir ilişki tespit edememişlerdir (44). Franchi ve arkadaşları da baş-boyun skuamoz hücreli karsinomlarını iyi, orta ve kötü diferansiye olarak gruplandıkları çalışmalarında peritümöral ve intratümöral lenfatik sayıları ile grade arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır (45). Ancak mesanenin invaziv transizyonel hücreli karsinomlarında Fernandez ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada intratümöral alanlardaki lenfatikler D2-40 immün boyası ile boyanarak sayılmış ve çıkan sonuç ile kötü histolojik diferansiasyon arasında ilişki olduğu ileri sürülmüştür (10). Bizim çalışmamızda intratümöral alandaki lenfatik sayısı, iyi diferansiye 19 adet olgunun 11'inde (%57,9), orta diferansiye 20 adet olgunun 5'inde (%25) ve az diferansiye 21 adet olgunun ise 9 tanesinde (%42,9) ortalama değer olan 10'un üzerindedir ve bu farklılık istatistiksel açıdan bir anlam ifade etmemektedir ($p=0,113$). Roma ve arkadaşlarının prostat adenokarsinomlarında D2-40 immün boyasını kullanarak yaptıkları çalışmada ise Gleason skoru arttıkça peritümöral lenfatik sayısının da arttığı tespit edilmiştir (46). Çalışma grubumuzdaki 19 adet iyi diferansiye vakanın 11'inde (%57,9), orta diferansiye 20 adet vakadan 9 tanesinde (%45) ve az diferansiye 21 adet vakanın ise 10'unda (%47,6) peritümöral lenfatik sayısı ortalama değer olan 24'ün üzerinde belirlenmiştir ve yapılan istatistiksel analizde anlamlı bir farklılık yoktur ($p=0,697$). Yaptığımız çalışmada tümör grade'i ile peritümöral ve intratümöral lenfatik yoğunlukları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlam ifade etmese de iyi diferansiye olgularda intratümöral ve peritümöral lenfatik sayıları eşit izlenirken orta ve az diferansiye vakalarımızda peritümöral alandaki lenfatik sayılarının intratümöral alandakilerden daha yüksek olduğu görülmüştür. Yapılan literatür taramasında kolon karsinomlarında D2-40 immün boyası kullanılarak tespit edilen peritümöral ve intratümöral lenfatik damar yoğunlukları ile tümör diferansiasyonu arasındaki ilişkiyi esas alan çalışmaya rastlanmamıştır.

Fernandez ve arkadaşlarının D2-40 immün boyasını kullanarak mesanenin invaziv transizyonel hücreli karsinomlarında yaptıkları çalışmada peritümöral lenfatik sayısının lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (10). Bizim çalışmamızda peritümöral lenfatik sayısı lenf nodu metastazı olmayan 32 olgudan 16'sında (%50) ortalama değer olan

24 ve altında, diğer 16'sında ise (%50) 24'ün üzerinde bulundu. Lenf nodu metastazı olan grupta ise 14 olguda (%50) 24 ve altında, diğer 14 olguda (%50) 24'ün üzerinde izlendi. Elde edilen verilerin yapılan istatistiksel analizinde anlamlı bir farklılığa ulaşılamamıştır ($p=0,602$). Saad ve arkadaşları kolon karsinomları ile yaptıkları çalışmada D2-40 immün boyasının lenfatik tümör invazyonunu göstermede önemli bir belirteç olduğunu, lenfatik invazyon, lenf nodu ve karaciğer metastazı ile intratümöral lenfanjiogenez arasında korelasyon olduğunu vurgulamışlardır (47). Serimizde ise lenf nodu metastazı olmayan gruptaki ortalama intratümöral lenfatik sayılarına bakıldığında 18 olguda (%56,3) 10 ve altında, 14 olguda (%43,7) 10'nun üzerinde görülmüştür. Lenf nodu metastazı olan grupta ise 17 olguda (%60,7) 10 ve altında, 11 olguda (%39,3) 10'nun üzerinde tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel analizde anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p=0,466$).

Kolon karsinomlarında tümör evresi ile D2–40 immün boyalı kesitlerde belirlenen peritümöral ve intratümöral alandaki lenfatik yoğunluklar arasındaki ilişkiyi sorgulayan çalışmaya literatürde rastlanmamış ancak Franchi ve arkadaşları baş-boyun tümörlerini içeren çalışmalarında evre 3 ve evre 4 tümörlerde hem peritümöral hem de intratümöral lenfatik sayılarının artmış olduğunu gözlemlemişlerdir (45). Serimizde ise kullandığımız vakalardan 5 tanesi evre 1, 27 tanesi evre 2, 28 tanesi ise evre 3 olarak gruplandırılmış olup peritümöral ve intratümöral alanlarda D2–40 immün boyası ile boyanan lenfatikler sayılarak tümör evreleri ile olan ilişkileri araştırılmıştır. Evre 1 tümörlerin 4 tanesinde (%80) 24 ve altı, 1 tanesinde (%20) 24 üzeri, evre 2 tümörlerin 12'sinde (%44,4) 24 ve altı, 15'inde (%55,6) 24 üzeri, evre 3 tümörlerin 14 tanesinde (%50) 24 ve altı, 14 tanesinde ise 24 üzeri peritümöral lenfatik damar sayıldı. İstatistiksel analiz sonucunda anlamlı bir farklılık izlenmemesine rağmen evre 2 ve 3'teki peritümöral lenfatik sayısı evre 1'den daha yüksek oranda gözlenmiştir ($p=0,344$). İnatümöral alandaki lenfatik sayıları ise evre 1 olgulardan 3'ünde (%60) ortalama değer olan 10 ve altında, 2'sinde (%40) ortalama değer olan 10 üzerinde, evre 2 tümörlerden 15'inde (%55,6) ortalama değer ve altında, 12'sinde (%44,4) ortalama değer üzerinde, evre 3 tümörlerin 17'sinde (%60,7) ortalama değer ve altında, 11'inde (%39,3) ortalama değer üzerinde sayılmıştır. Buna göre evre 1 ile 3'teki intratümöral lenfatik sayısının yaklaşık olarak birbirine eşit ve evre 2'deki intratümöral lenfatik sayısından daha düşük oranda olduğu gözlenmiştir. Yapılan istatistiksel analizde anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p=0,925$).

Literatürde birçok çalışmada, kolon karsinomları ve pek çok malign epitelyal tümörde D2–40 immün boyası ile normal, peritümöral ve intratümöral alanlarda belirlenen lenfatik

damar yoğunlukları arasında karşılaştırmalar yapılmıştır. Roma ve arkadaşları D2–40 immün boyası ile prostat adenokarsinomlarında yaptıkları çalışmada peritümöral alanda intratümöral alandan daha fazla lenfatik olduğunu, peritümöral lenfatik invazyonun lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğunu ve Gleason skoru yüksek olan olgularda peritümöral lenfatik sayısının yüksek olduğunu belirlemişlerdir (46). Ito ve arkadaşları, invaziv meme karsinomlarında D2–40 immün boyasını kullanarak yaptıkları çalışmada intratümöral alanda hiç lenfatik göremezken peritümöral alanda %87 oranında lenfatik tespit etmişler ve D2-40 immün boyasının, H&E boyalı kesitlerde görülemeyen lenfatik tümör invazyonunu göstermede yardımcı önemli bir immünohistokimyasal belirteç olduğuna dikkat çekmişlerdir (17). Mesanenin invaziv transizyonel hücreli karsinomlarında Fernandez ve arkadaşlarının D2–40 immün boyasını kullanarak yaptıkları bir çalışmada ise peritümöral alandaki lenfatik sayısının intratümöral alan ve normal dokudaki lenfatik sayısına göre daha yüksek oranda olduğu, intratümöral alandaki lenfatik sayısının kötü histolojik diferansiasyon ile peritümöral alandaki lenfatik sayısının ise lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır (10). Xuan ve arkadaşları D2–40 immün boyasını kullanarak oral skuamöz hücreli kanserlerle yaptıkları çalışmada, peritümöral ve intratümöral alandaki lenfatik damar sayılarını karşılaştırılmışlar ve peritümöral alandaki lenfatik sayısının intratümöral alandan daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (48). Sako ve arkadaşları ise, D2-40 immün boyasını kullanarak yaptıkları çalışmada erken gastrik karsinomlarda muskularis mukozadaki lenfatik sayısının normal gastrik alanlara göre çok daha fazla olduğunu ve bu alandaki lenfatik invazyon tespitinin nodal metastazları önlemede faydalı olabileceğini bildirmişlerdir (18). Kenney ve arkadaşları yaptıkları çalışmada normal kolon, inflame kolon, hiperplastik polip, inflamatuvar polip, adenomatöz polip, intramukozal karsinom içeren adenomatöz polip ve invaziv kolonik karsinom olgularından hazırladıkları preparatlara D2–40 immün boyasını uygulayarak lenfatik damarları değerlendirmişlerdir. Bu çalışma sonucunda lenfatik yapıları lamina propria içinde normal kolonda göremezken, neoplazi ve/veya inflamasyon durumlarında var olduğunu gözlemlemişlerdir (14). Gao ve arkadaşları, D2–40 immün boyası ile kolorektal karsinomlarda anjiogenezis ve lenfanjiogenezisin normal mukozaya göre daha fazla olduğunu göstermişler ve bu artışın hastanın yaşam süresini etkilemediğini vurgulamışlardır (49). Çalışmamızda ise D2–40 immün boyası kullanarak ortalama lenfatik sayısı normal kolondaki submukozal alanda 7, peritümöral alanda 24 ve intratümöral alanda ise 10 olarak saptanmıştır. Mide ve kolonda yapılmış olan çalışmalara paralel olarak (18, 14, 49) bizim çalışmamızda da

normal kolonda submukozal alandaki lenfatik damar miktarına göre hem peritümöral hem de intratümöral yerleşimli lenfatikler daha yüksek orandadır. Yine literatüre paralel olarak (10) serimizde peritümöral alandaki lenfatik yoğunluk hem normal kolonda submukozal alanda izlenen lenfatiklerden hem de intratümöral alandaki lenfatiklerden daha yüksektir. Yapılan istatistiksel analizde normal kolon submukozasındaki ile peritümöral ve yine normal kolon submukozasındaki ile intratümöral alandaki lenfatik sayıları arasındaki farklılık anlamlıdır ($p=0,000$, $p=0,000$). Kolon dışı organ yerleşimli tümörlerde yapılan çalışmalarda (17, 46, 48) lenfatik damar sayıları intratümöral alana göre peritümöral alanda daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Ancak Filho ve arkadaşları (50) kolon karsinomlarında intratümöral lenfatiklerin peritümöral lenfatik sayılarından daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Bu sonuç, bizim çalışmamızdaki bulgularla uyuşmamaktadır. Çalışmamızda ortalama lenfatik damar sayıları peritümöral alanda intratümöral alana göre daha yüksektir ve istatistiksel açıdan da anlamlıdır ($p=0,013$).

6. SONUÇ

Bu çalışmada, D2–40 immün boyası ile kolon karsinomlarında belirlenen intratümöral alandaki ortalama lenfatik sayısından peritümöral alandaki lenfatik sayısının daha yüksek olduğu görülmüş olup aralarındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,013$). D2–40 immün boyası kullanılarak gösterilen normal kolon submukozasındaki ortalama lenfatik sayısından hem peritümöral hem de intratümöral alandaki ortalama lenfatik sayılarının daha yüksek olduğu izlenmiş ve aralarındaki istatistiksel ilişki anlamlı olarak bulunmuştur ($p=0,000$, $p=0,000$). D2–40 immün boyası ile lenfatik tümör invazyonu tespit edilen vakalardaki ortalama intratümöral lenfatik sayısı daha yüksektir ve farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,043$). H&E boyalı preparatlarda görülemeyen lenfatik tümör invazyonları D2–40 immün boyalı preparatlarda görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p=0,001$).

D2–40 immün boyasıyla tespit edilen peritümöral ve intratümöral alandaki lenfatik yoğunluk ile grade, lenf nodu metastazı ve tümör evresi arasında anlamlı bir ilişki kurulamamıştır ($p > 0,05$).

Sonuç olarak, D2–40 immün boyası kullanılarak kolon karsinomlarında intratümöral ve peritümöral alan ile normal kolon submukozasında belirlenen ortalama lenfatik damar sayılarının birbirlerine göre istatistiksel değerlendirilmeleri literatürdeki birçok çalışma ile paralellik göstermektedir. Ayrıca lenfatik damarların tümör invazyonunun belirlenmesinde D2–40 immün boyasının kullanımının özellikle invazyon açısından şüpheli olan olgularda daha yararlı olacağı kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

- 1- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins ve Cotran Hastalığın Patolojik Temeli. Ankara; Güneş Tıp Kitabevi. 2009; 797–875.
- 2- Aykan NF. Kolon Kanseri. Türkiye Klinikleri J Med Oncol-Special Topics, 2008; 1(3): 1–9.
- 3- Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. Ninth ed. New York: Elsevier Inc, 2004; 776–855.
- 4- Erarslan E, Türkay C. Kolorektal Kanser Etyolojisi ve Predispozan Faktörler. Güncel Gastroenteroloji, 2007; 11(1): 19–26.
- 5- Banner BF, Whitehouse R, Baker SP, Swanson RS. Tumor angiogenesis in stage II colorectal carcinoma association with survival. Am J Clin Pathol, 1998; 109: 733.
- 6- Lindmark G, Gerdin B, Sundberg C, Pahlman L, Bergstrom R, Glimelius B. Prognostic significance of the microvascular count in colorectal cancer. J Clin Oncol, 1996; 14: 461.
- 7- Engel JC, Bennett ST, Chambers AF, Doig GS, Kerkvliet N, O'Malley FP. Tumor angiogenesis predicts recurrence in invasive colorectal cancer when controlled for Dukes staging. Am J Surg Pathol, 1996; 20: 1260.
- 8- Takebayashi Y, Akiyama S, Yamada K, Akiba S, Aikou T. Angiogenesis as an unfavorable prognostic factor in human colorectal carcinoma. Cancer. 1996; 78: 226–231.
- 9- Koskinen WJ, Bono P, Leivo I, Vaeheri A, Aaltonen LM, Joensuu H. Lymphatic vessel density in vocal cord carcinomas assessed with LYVE-1 receptor expression. Radiother Oncol. 2005; 77: 172–175.
- 10- Fernandez MI, Bolenz C, Trojan L, Steidler A, Weiss C, Alken P et al. Prognostic implication of lymphangiogenesis in muscle-invasive transitional cell carcinoma of the bladder. Eur Urol. 2007 Aug 24 (Epub ahead of print).
- 11- Zeng Y, Opeskin K, Horvath LG, Sutherland RL, Williams ED. Lymphatic vessel density and lymph node metastasis in prostate cancer. The Prostate. 2005; 65: 222–230.
- 12- Gomaa AH, Yaar M, Bhawan J. Cutaneous immunoreactivity of D2–40 antibody beyond the lymphatics. Am J Dermatopathol. 2007; 29: 18–21.
- 13- Saad RS, Lindler JL, Lin X, Liu YL, Silverman JF. The Diagnostic utility of D2–40 for malignant mesothelioma versus pulmonary carcinoma with pleural involvement. Diagn Cytopathol. 2006; 34: 801–806.
- 14- Kenney BC, Jain D. Identification of lymphatics within the colonic lamina propria in inflammation and neoplasia using the monoclonal antibody D2–40. Yale Journal of Biology and Medicine. 2008; 81: pp.103–113.
- 15- Ohno F, Nkanishi H, Abe A, Seki Y, Kinoshita A, Hasegawa Y et al. Regional difference in intramural lymphangiogenesis of oral squamous cell carcinomas evaluated by immunohistochemistry using D2–40 and podoplanin antibody in

- comprasion with angiogenesis. *J Oral Pathol Med.* 2007; 36: 281–289.
- 16- Giorgadze TA, Zhang PJ, Pahsa T, Coogan PS, Acs G, Elder DE et al. Lymphatic vessel density is significantly increased in melanoma. *J Cutan Pathol.* 2004; 31: 672–677.
 - 17- Ito M, Moriya T, Ishida T, Usami S, Kasajima A, Sasano H et al. Significance of pathological evaluation for lymphatic vessel invasion in breast cancer. *Breast Cancer.* 2007; 14: 381–387.
 - 18- Sako A, Kitayama J, Ishikawa M, Yamashita H, Nagawa H. Impact of immunohistochemically identified lymphatic invasion on nodal metastasis in early gastric cancer. *Gastric Cancer.* 2006; 9: 295–302.
 - 19- Gombos Z, Xu X, Chu CS, Zhang P, Acs G. Peritumoral lymphatic vessel density and vascular endothelial growth factor C expression in early-stage squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Clin Cancer Res.* 2005; 11 (23): 8364–8371.
 - 20- Alemdaroğlu K, Akçal T, Buğra D. Kolon, Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları. 2. baskı, İstanbul; Türk Kolon ve Rektum Cerrahisi Derneği. 2004; 17–20.
 - 21- Corman LM, Allison S.I, Kuehne JP. Kolon ve Rektal Cerrahinin El Kitabı. Adana: Nobel Tıp Kitabevi. 2004: 1–20.
 - 22- Alıcı A. Distal yerleşimli kolon kanserlerinin tedavisinde inferior mezenterik arterin yüksek bağlaması: Onkolojik ve yaşam kalitesi sonuçlarına yönelik prospektif bir analiz. T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi I. Genel Cerrahi Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2007; 7–27.
 - 23- Yıldırım M. Temel Anatomi. İstanbul; Nobel Tıp Kitabevi. 2000: 254–256.
 - 24- Buğra D. Kolon, Rektum, Anal Bölge Anatomisi. Türkiye Klinikleri Journal of Surgery, 2004; 9 (1): 1–10.
 - 25- Ekem T.U. Kolorektal Adenokarsinomlar: Klinikopatolojik inceleme, östrojen ve progesteron reseptör ekspresyonları ilişkisi. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2006; 19–20.
 - 26- Sadler TW. Langman's Medikal Embriyoloji. 7. baskı, Ankara: Palme kitabevi. 1996; 231–259.
 - 27- Petorak İ. Medikal Embriyoloji. 2.baskı, İstanbul; Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş. 1996; 196.
 - 28- Cengiz FT. Kolorektal kanserlerde c-erbB2, nm23, p27 ekspresyonu ile klasik prognostik parametrelerin karşılaştırılması. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum, 2008; 2.
 - 29- Erdoğan D, Hatiboğlu MT, Görgün M, Ilgaz C. Özel Histoloji. Ankara; SBAD Yayınları. 1996; 91–93.
 - 30- Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji Text & Atlas. 10. baskı, İstanbul: Nobel Kitabevleri. 2006; 320–322.
 - 31- Murtazaoglu M. Kolorektal adenokarsinomlarda CD95 ekspresyonu ile EGFR amplifikasyonunun prognostik önemi ve diğer prognostik parametrelerle ilişkisi. T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2005; 7–8.
 - 32- Hamilton RS, Aaltonen L.A. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. Lyon: IARC Press, 2000; 103–143.
 - 33- Mills SE, Carter D, Reuter V. Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology, Fourth

- ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2004: 1543–1601.
- 34- Kuzey GM, Özdamar ŞO, Zergeroğlu S. Temel Patoloji. İstanbul; Güneş Kitabevi. 2007; 436–439.
 - 35- Doran F. Kolorektal karsinomda sınıflandırma ve prognostik faktörler. Gastrointestinal Sistem Patolojisi Günleri, Türk Patoloji Derneği, The Marmara Oteli, İstanbul, 2005: 47–56.
 - 36- Allen DC. Histopathology Reporting, Guidelines for Surgical Cancer. Springer-Verlag London Limited, 2006; 47–64.
 - 37- Damjanov I, Fan F. Cancer Grading Manual. Springer Science+Business Media, 2007: 40–42.
 - 38- Fukunaga M. Expression of D2–40 in lymphatic endothelium of normal tissues and in vascular tumors. *Histopathology*. 2005; 46: 396–402.
 - 39- Bhalla R, Siddiqui MT, Mandich D, Cartun RW, Fiel-Gan MD, Mandavilli SR, et al. Diagnostic utility of D2–40 and podoplanin in effusion cell blocks. *Diagn Cytopathol*. 2007; 35: 342–347.
 - 40- Urabe A, Matsumoto T, Kimura M, Sonoue H, Kinoshita K. Grading system of lymphatic invasion according to D2–40 immunostaining is useful for the prediction of nodal metastasis in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Histopathology*. 2006; 49: 493–497.
 - 41- Kim TH, Lee SH, Lee HM, Lee SH, Jung HH, Cho WS, et al. D2–40 Immunohistochemical assesment of lymphangiogenesis in normal and edematous sinus mucosa and nasal polyp. *Laryngoscope*. 2007; 117: 442–446.
 - 42- Mimura T, Ito A, Sakuma T, Ohbayashi C, Yoshimura M, Tsubota N, et al. Novel marker D2–40, combined with Calretinin, CEA and TTF–1. *Cancer*. 2007; 109: 933–998.
 - 43- Dumoff KL, Chu C, Xu X, Pahsa T, Zhang PJ, Acs G. Low D2–40 immunoreactivity correlates with lymphatic invasion and nodal metastasis in early-stage squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Mod Pathol*. 2005; 18: 97–104.
 - 44- Miyahara M, Tanuma JI, Sugihara K, Semba I. Tumor Lymphangiogenesis Correlates With Lymph Node Metastasis and Clinicopathologic Parameters in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Cancer*. 2007;110:1287–1294.
 - 45- Franchi A, Gallo O, Massi D, Baroni G, Santucci M. Tumor Lymphangiogenesis in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Cancer*. 2004;101:973–978.
 - 46- Roma AA, Magi-Galluzzi C, Kral MA, Jin TT, Klein EA, Zhou M. Peritumoral lymphatic invasion is associated with regional lymph node metastases in prostate adenocarcinoma. *Mod Pathol*. 2006; 19: 392–398.
 - 47- Saad RS, Kordunsky L, Liu YL, Denning KL, Kandil HA, Silverman JF. Lymphatic microvessel density as prognostic marker in colorectal cancer. *Mod Pathol*. 2006; 19: 1317–1323.
 - 48- Xuan M, Fang YR, Wato M, Hata S, Tanaka A. Immunohistochemical co-localization of lymphatics and blood vessels in oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med*. 2005; 34: 334–339.
 - 49- Gao J, Knutsen A, Arbman G, Carstensen J, Franlund B, Sun X.F. Clinical and biological significance of angiogenesis and lymphangiogenesis in colorectal cancer. *Digestive and Liver Disease*. 2009; 41: 116–122.
 - 50- Longatto-Filho A, Pinheiro C, Ferreira L, Scapulatempo C et al. Peritumoural, but not intramural, lymphatic vessel density and invasion correlate with

colorectal carcinoma poor-outcome markers. *Virchows Arch.* 2008; 452: 133–138.