

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**KOLOREKTAL KANSERLİ OLGULARDA MORFOLOJİK VE
İMMUNHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE TÜMÖR
BUDDINGİNİN (TOMURCUKLANMASININ)
DEĞERLENDİRİLMESİ, DİĞER MORFOLOJİK
BULGULARLA VE PROGNOZLA İLİŞKİSİ**

Dr. Elif ÖCAL

**TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Berna SAVAŞ**

**ANKARA
2019**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**KOLOREKTAL KANSERLİ OLGULARDA MORFOLOJİK VE
İMMUNHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE TÜMÖR
BUDDİNGİNİN (TOMURCUKLANMASININ)
DEĞERLENDİRİLMESİ, DİĞER MORFOLOJİK
BULGULARLA VE PROGNOZLA İLİŞKİSİ**

Dr. Elif ÖCAL

**TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Berna SAVAŞ

“Bu çalışma Tubitak
114S496 nolu proje (yürütücüsü Prof. Dr. Hakan Akbulut) tarafından kısmen
desteklenmiştir.”

**ANKARA
2019**

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Dr.Elif ÖCAL	Sınav tarihi: 20 / 05 / 2019
Anabilim/Bilim Dalı	: Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı	: Prof.Dr.Berna SAVAŞ	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı: Kolorektal Kanserli Olgularda Morfolojik ve İmmünohistokimyasal Yöntemlerle Tümör Buddinginin (Tomucuklanmasının) Değerlendirilmesi, diğer Morfolojik Bulgularla ve Prognozla İlişkisi	
Tezin Niteliği:	☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☐ 1 ☒ 2 ☐ 3

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

IV. AÇIKLAMALAR	



Prof.Dr.Aylin OKÇU HEPER

Başkan

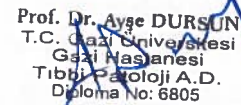
Tıbbi Patoloji Anabilim/Bilim Dalı



Prof.Dr.Berna SAVAŞ

Tez Danışmanı

Tıbbi Patoloji Anabilim/Bilim Dalı



Prof.Dr.Ayşe DURSUN

Jüri Üyesi

Gazi Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim/Bilim Dalı

ÖNSÖZ

Tezimin tüm aşamalarında ve uzmanlık eğitimimde yardımını ve deneyimlerini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Berna SAVAŞ'a, uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde katkısı olan, beni patoloji ailesine kabul eden ve her zaman destek olan A.Ü.T.F Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında görevli değerli hocalarıma teşekkür ederim. Tezim sürecine tanıdığım ve tezime büyük katkı sağlayan Prof. Dr. Hakan AKBULUT'a teşekkür ederim.

Asistanlık sürecimde beraber çalışmaktan son derece mutluluk duyduğum ve asistanlığım boyunca hep yanımda olan uzman ve asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim. Beni hiç yalnız bırakmayan, desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen Hilal Özakıncı, Ayşegül Şaşmaz Erol, Hale Kıvrak, Seda Aktürk, Fatma Altıntaş Güzel, Sonay Kuş Öztürk, Melahat Musayeva, Aslıhan Yavaş, Dilek Koyuncu Yamak, Fadime Gül Salman, Dilara Akbulut İpek, Merve Tural, Selim Sevim, Eda Nur Kozan, Zarifakhanım Gahramanlı' ya teşekkür ederim.

Ayrıca tezimin hazırlanması boyunca bana yardımcı olan A.Ü.T.F Patoloji ve İmmünopatoloji laboratuvarının tüm çalışanlarına; arşiv materyallerinin elime ulaşmasında ve çalışma ortamımın sağlanmasında yardımlarını esirgemeyen Yusuf ASLAN ve Alahattin ALPTEKİN'e, kesitlerin hazırlanmasında yardımını esirgemeyen Mahmut Demirkapı' ya teşekkür ederim.

Tüm asistanlığım boyunca hep yanımda olan ve hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı sekreteri Özlem Soyalp ve Tevhide ÇOBAN ve Anabilim Dalı görevlisi Dursun DAĞCI'ya teşekkür ederim.

Hayatımın her anında, asistanlığım ve tez hazırlama dönemimde hep yanımda olan, sonsuz sabır ve ilgi gösteren, beni bugünlere getiren anneme babama, hayatı paylaştığım canım eşime ve bu süreçte dünyaya merhaba diyen gün ışığım biricik kızım Ela'ya teşekkür ederim.

Elif ÖCAL

Mayıs 2019

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR	ix
RESİMLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. KOLONUN NORMAL YAPISI.....	3
2.1.1. Embriyoloji	3
2.1.2. Anatomi.....	4
2.1.3. Histoloji.....	9
2.1.4. Fizyoloji	11
2.1.5. Kolonda Hücre Proliferasyonu.....	11
2.2. KOLOREKTAL KARSİNOM	12
2.2.1. Epidemiyoloji.....	12
2.2.2. Etyoloji.....	13
2.2.2.1. Diyet ve Yaşam Tarzı.....	13
2.2.2.2. Genetik Faktörler	15
2.2.2.3. Lynch Sendromu (Hereditör Non-Polipozis Kolorektal Karsinoma - HNPCC)	16
2.2.2.4. Polipozis Sendromları	20
2.2.2.5. Kronik inflamasyon.....	23
2.2.2.6. Diğer faktörler	24
2.3. KOLOREKTAL KARSİNOGENEZ	25
2.3.1. Geleneksel Vogelstein Yolağı ve APC Gen Yolağı.....	25
2.3.2. Mikrosatellit İstabilite (MSI)	32
2.3.3. Epigenetik İstabilite (CpG Ada Metilasyon Fenotip “CIMP”)	33

2.3.4. Serrated Polip Yolağı	36
2.4. KOLOREKTAL KANSERLERDE MOLEKÜLER SINIFLANDIRMA.....	42
2.5. KOLOREKTAL KANSERİN ÖZELLİKLERİ.....	44
2.5.1. Karsinomlar.....	44
2.5.2. Lokalizasyon	44
2.5.3. Klinik Özellikler.....	45
2.5.4. Görüntüleme Yöntemleri	45
2.5.5. Tedavi.....	45
2.5.6. Makroskopi	46
2.6. KOLON VE REKTUM TÜMÖRLERİNDE TNM SINIFLAMASI.....	47
2.7. HİSTOPATOLOJİ	49
2.7.1. Histolojik “Grade” leme.....	51
2.8. TÜMÖR TOMURCUKLANMASI	51
2.8.1. Tarihçesi.....	51
2.8.2. Tümör tomurcuklanmasının değerlendirilmesi	54
2.8.3. Tümör tomurcuklanması ve Mikrosatellit stabilitesi ilişkisi.....	60
3. MATERYAL VE METOD.....	61
3.1. ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLEN OLGULARIN SEÇİMİ	61
3.2. MORFOLOJİK DEĞERLENDİRME	62
3.2.1. İnflamatuvar Hücre Reaksiyonunun Değerlendirilmesi:	63
3.2.2. Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyonun Değerlendirilmesi	64
3.2.3. Tümör Stroma Oranının Değerlendirilmesi	65
3.2.4. Tümör Nekroz Oranının Değerlendirilmesi	66
3.2.5. Tümör Tomurcuklanması (Budding) Değerlendirilmesi	66
3.3. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BOYAMA.....	67
3.4. İMMÜNHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME.....	67
3.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	70
4. BULGULAR	71
4.1. OLGULAR.....	71
4.1.1. Genel Bulgular	71

4.1.2. Makroskopik Bulgular	72
4.1.3. Tümör Grade ve Evresi	72
4.1.4. Tümör Stroma Oranı	74
4.1.5. İnflamatuar hücre reaksiyonu.....	74
4.1.6. Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyon.....	75
4.1.7. Tümör Nekroz Oranı	75
4.1.8. Tümör İnvazyon Paterni.....	76
4.1.9. Lenfovasküler ve Perinöral İnvazyon Durumu	76
4.1.10. Konvansiyonel Adenokarsinom Olgularında Ekstrasellüler Müsin Dağılımı	76
4.2. HİSTOLOJİK PARAMETRELERİN BİRBİRLERİ İLE İLİŞKİLERİ	76
4.2.1. Tümör Lokalizasyonu ile Diğer Histolojik Parametrelerin İlişkisi.....	76
4.2.1.1. Tümör Lokalizasyonu ile İnflamatuar Hücre Reaksiyonu İlişkisi.....	76
4.2.1.2. Tümör lokalizasyonunun Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyon ile Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyondaki En Büyük Lenfoid Agregatın Boyutu İlişkisi	77
4.2.2. Histolojik Alt Tip ile Diğer Morfolojik Parametrelerin İlişkisi	78
4.2.2.1. Histolojik Alt Tip ile Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyon ile Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyondaki En Büyük Lenfoid Agregatın Boyutunun İlişkisi	78
4.2.2.2. Histolojik Alt Tip ile İnflamatuar Hücre Reaksiyonu İlişkisi.....	78
4.2.2.3. Histolojik Alt Tip ile Tümör Makroskopik Görünümü ve Tümör Stroma Oranı İlişkisi	79
4.2.3. Müsinöz Adenokarsinomların Morfolojik Değerlendirilmesi	80
4.3. TÜMÖR TOMURCUKLANMASININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	81
4.3.1. Tümör Tomurcuklanmasının (Budding) Histolojik Parametreler ile İlişkisi	82
4.3.1.1. Tümör Tomurcuklanmasının (Budding) Tümörün Makroskopik Görünümü ile İlişkisi:	82
4.3.1.2. Tümör Tomurcuklanmasının Tümörün Histolojik Alt Tipi ile İlişkisi.....	83

4.3.1.3. Tümör Tomurcuklanması ile Tümörün İnvazyon Paterni İlişkisi	83
4.3.1.4. Tümör Tomurcuklanması ile Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyon ile İlişkisi.....	84
4.3.1.5. Tümör Tomurcuklanması ile T Evresi İlişkisi.....	87
4.3.1.6. Tümör Tomurcuklanması ve Tümör Stroma Oranı İlişkisi	88
4.3.1.7. Tümör Tomurcuklanması ve İnflamatuvar Hücre Reaksiyonu İlişkisi	90
4.3.1.8. Tümör Tomurcuklanması Nekroz İlişkisi.....	91
4.3.1.9. Tümör Tomurcuklanmasının Lenfovasküler İnvazyon ile İlişkisi	91
4.3.1.10. Tümör Tomurcuklanması Perinöral İnvazyon İlişkisi	92
4.3.1.11. Tümör Tomurcuklanması N Evresi İlişkisi	93
4.3.1.12. Tümör Tomurcuklanması Ekstrakapsüler İnvazyon İlişkisi.....	94
4.3.1.13. Tümör Tomurcuklanması Tümör Depoziti Varlığı İlişkisi	94
4.3.1.14. İntratümöral Tümör Tomurcuklanmasının Lenf Nodülü Metastazı ile İlişkisi	95
4.4. SAĞ KALIM VE KLİNİKOPATOLOJİK VERİLERİN GENEL ANALİZLERİ	96
4.4.1. Cinsiyet ve Sağ Kalım İlişkisi.....	96
4.4.2. Histolojik Alt Tip ve Sağ Kalım İlişkisi	96
4.4.3. Tümör Grade ve Sağ Kalım İlişkisi	97
4.4.4. Tümörün Makroskopik Görünümü ve Sağ Kalım İlişkisi	97
4.4.5. Tümörün Boyutu ve Sağ Kalım İlişkisi	98
4.4.6. Tümörün Lokalizasyonu ve Sağ Kalım İlişkisi.....	98
4.4.7. Tümörün T Evresi ve Sağ Kalım İlişkisi	98
4.4.8. Tümörün N Evresi ve Sağ Kalım İlişkisi	98
4.4.9. Metastatik Lenf Nodülünde Ekstrakapsüler Yayılım Varlığının Sağ Kalım ile İlişkisi	99
4.4.10. Tümör Stroma Oranı ve Sağ Kalım İlişkisi	100
4.4.11. İnflamatuvar Hücre Reaksiyonunun Sağ Kalım İlişkisi.....	101
4.4.12. Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyon ile Sağ Kalım İlişkisi.....	101

4.4.13. Nekroz ile Sağ Kalım İlişkisi	102
4.4.14. Tümör İnvazyon Paterni ve Sağ Kalım İlişkisi	103
4.4.15. Lenfovasküler İnvazyon ve Sağ Kalım İlişkisi	103
4.4.16. Perinöral İnvazyon ve Sağ Kalım İlişkisi	103
4.5. TÜMÖR TOMURCUKLANMASI VE SAĞ KALIM ANALİZLERİ.....	104
4.5.1. H&E Boyalı Kesitlerde Tümör Tomurcuklanması ile Sağ Kalım İlişkisi	104
4.5.2. İmmünohistokimya Boyalı Kesitlerinde Tümör Tomurcuklanması Sağ Kalım İlişkisi	105
4.5.3. Konvansiyonel Adenokarsinom Olgularında Tümör Tomurcuklanmasının Sağ Kalım ile İlişkisinin Değerlendirilmesi.....	106
4.5.4. Tümör Tomurcuklanmasının T Evresine Göre Sağ Kalım ile İlişkisinin Değerlendirilmesi	108
4.6. Tümör Tomurcuklanması ile Hastalıksız Sağ Kalım İlişkisi	110
4.6.1. Tüm Olgularda Tümör Tomurcuklanması ile Hastalıksız Sağ Kalım İlişkisi	110
4.6.2. Konvansiyonel Adenokarsinom Olgularında Tümör Tomurcuklanması Hastalıksız Sağ Kalım ilişkisi	112
4.6.3. İntratümöral Tümör Tomurcuklanmasının Sağ Kalım ve Hastalıksız Yaşam ile İlişkisi	115
5. TARTIŞMA	117
6. SONUÇLAR	137
ÖZET.....	142
SUMMARY	144
KAYNAKÇA	146

KISALTMALAR

AJCC	: American Joint Committee on Cancer
APC	: Adenomatöz polipozis coli
CH	: Crohn hastalığı
CIMP	: “CpG” ada hipermetilasyonu
CK	: Sitokeratin
CS	: Cowden sendromunu
DALM	: Dysplasia-associated lesion or mass
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EMT	: Epitelyal-mezenkimal geçiş
FAP	: Familial Adenomatöz Polipozis
H&E	: Hematoksilen-Eosin
HHT	: Hereditör hemorajik telenjektazi sendromu
HNPCC	: Hereditör Non-Polipozis Kolorektal Karsinoma
ITBCC	: International Tumor Budding Consensus Conference
İBH	: İnflamatuar barsak hastalığı
JPS	: Jüvenil Polipozis Sendromu
KRK	: Kolorektal karsinom
LOH	: Loss of heterozygosity
MAP	: MUTHY ilişkili polipozis
MLH1	: MutL homolog 1
MMR	: “Mismatch” onarım genleri
MSH2	: MutS homolog 2
MSH6	: MutS homolog 6
MSI	: Mikrosatellit İnstabilitesi
MSS	: Mikrosatellit Stabil
PJS	: Peutz-Jeghers Sendromu
SSA/P	: Sesil serrated adenoma/polip

TGF β : Transforming growth factor β
TSA : Traditional serrated adenoma
ÜK : Ülseratif kolit
WHO : World Health Organization



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Kolon anatomisi	6
Resim 2.	Rektum periton durumu	9
Resim 3.	Kolon makroskopisi	46
Resim 4.	Nakamura sınıflandırmasının şemasal gösterimi.	55
Resim 1.	Histiyositler dahil olmak üzere Peritümoral inflamatuvar hücrelerin, tümör tomurcuklarından ayrımının zor olduğu durumda PanCK boyalı kesit ile işaretlenen tomurcuklar	57
Resim 6.	Tümör büyüme paternleri.....	62
Resim 7.	İnflamatuvar hücre reaksiyonu değerlendirilmesi.....	63
Resim 8.	Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun derecelendirilmesi.....	65
Resim 2.	Tümör stroma oranı.....	65
Resim 10.	Tümör tomurcuklanmasının en yoğun olduğu alanların seçimi.....	68
Resim 11.	Aynı tümöre ait değişik düzeyde tümör tomurcuklanması alanları	69
Resim 12.	Tümör tomurcuklarının x40 büyütme ile gösterimi.	70

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Hereditör kalıtım bulunduran KRK Sendromları	16
Tablo 2.	Kolorektal karsinomda tarif edilen çeşitli moleküler değişiklikler	35
Tablo 3.	Kolorektal kanserlerde Jass moleküler klasifikasyonu	42
Tablo 1.	Kolorektal adenokarsinomlarda histolojik “Grade” kriterleri	
Tablo 5.	Olgularının dağılımı.....	71
Tablo 6.	Olguların TNM’ye göre dağılımı	73
Tablo 7.	Tümör lokalizasyonu ile inflamatuvar hücre reaksiyonu ilişkisi	77
Tablo 8.	Tümör lokalizasyonunun Crohn benzeri lenfoid reaksiyon ile Crohn benzeri lenfoid reaksiyondaki en büyük LA’nın boyutu ilişkisi.....	77
Tablo 9.	Histolojik tip ile Crohn benzeri lenfoid reaksiyon ve Crohn benzeri lenfoid reaksiyondaki en büyük LA’nın boyutunun ilişkisi	78
Tablo 10.	Histolojik tip ile inflamatuvar hücre reaksiyonu ilişkisi	79
Tablo 11.	Histolojik tip ile makroskopik görünüm ve tümör stroma oranı ilişkisi	79
Tablo 12.	Müsinöz ve Konvansiyonel adenokarsinomların lokalizasyon dağılımı.....	80
Tablo 13.	Müsinöz ve Konvansiyonel adenokarsinomlarda inflamatuvar hücre reaksiyonu ve Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun Grade dağılımı.....	81
Tablo 14.	Olguların tümör tomurcuklanması dağılımı	81
Tablo 15.	Tümör tomurcuklanmasının tümörün makroskopik görünümü ile ilişkisi	82
Tablo 16.	Tümör tomurcuklanmasının tümörün histolojik alt tipi ile ilişkisi	83
Tablo 17.	H&E boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının tümörün invazyon paterni ile ilişkisi	83
Tablo 18.	İHK boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının tümörün invazyon paterni ile ilişkisi	84
Tablo 19.	H&E boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun derecesi ile ilişkisi	85

Tablo 20.	İHK boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun derecesi ile ilişkisi	85
Tablo 21.	H&E boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının Crohn benzeri lenfoid reaksiyondaki en büyük lenfoid agregatın (LA) boyutu ile ilişkisi	86
Tablo 22.	İHK boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının Crohn benzeri lenfoid reaksiyondaki en büyük lenfoid agregatın (LA) boyutu ile ilişkisi	86
Tablo 23.	H&E boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının T evresi ile ilişkisi	87
Tablo 24.	İHK boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının T evresi ile ilişkisi	88
Tablo 25.	H&E boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının tümör stroma oranı ile ilişkisi	89
Tablo 26.	İHK boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının tümör stroma oranı ile ilişkisi	89
Tablo 27.	H&E boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının inflamatuvar hücre reaksiyonu ile ilişkisi	90
Tablo 28.	İHK boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının inflamatuvar hücre reaksiyonu ile ilişkisi	90
Tablo 29.	H&E boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının lenfovasküler invazyon ile ilişkisi	92
Tablo 30.	İHK boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının lenfovasküler invazyon ile ilişkisi	92
Tablo 31.	H&E boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının perinöral invazyon ile ilişkisi	93
Tablo 32.	İHK boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının perinöral invazyon ile ilişkisi	93
Tablo 33.	Tümör Tomurcuklanması N Evresi İlişkisi	94
Tablo 34.	Tümör tomurcuklanması ekstrakapsüler invazyon ilişkisi	94
Tablo 35.	Tümör tomurcuklanması tümör depoziti varlığı ilişkisi	95
Tablo 36.	İntratümöral tümör tomurcuklanmasının lenf nodülü metastazı ile ilişkisi	95

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	T.C Sağlık Bakanlığı 2014 Kadınlarda ve Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kanserin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları	12
Şekil 2.	KRK da adenom-karsinom sekansında izlenen moleküler değişiklikler	27
Şekil 3.	Kanonikal Wnt / β -catenin sinyal yolunun şematik gösterimi	30
Şekil 4.	Olguların yaş ve cinsiyet dağılımı	71
Şekil 5.	Olguların lokalizasyon dağılımı	72
Şekil 6.	Olguların tümör stroma oranlarına göre dağılımı	74
Şekil 7.	Olguların inflamatuvar hücre reaksiyonu varlığına göre dağılımı	75
Şekil 8.	Olgularda Crohn benzeri lenfoid reaksiyon dağılımı	75
Şekil 9.	Histolojik alt tip ve tümörün makroskopik özelliklerinin sağ kalım ile ilişkisi.....	97
Şekil 10.	Tümörün T evresi N evresi ve ektrakapsüler yayılım durumunun sağ kalım ile ilişkileri	100
Şekil 11.	Tümör stroma oranı ve inflamatuvar hücre reaksiyonun sağ kalım ile ilişkisi.....	101
Şekil 12.	Crohn benzeri lenfoid reaksiyon ile sağ kalım ilişkisi	102
Şekil 13.	Tümör büyüme paterni ve perinöral invazyon ile sağ kalım ilişkisi	103
Şekil 14.	Tümör tomurcuklanması sağ kalım ile ilişkisi	105
Şekil 15.	Tümör tomurcuklanması sağ kalım ile ilişkisi	112

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal karsinomlar (KRK) kanser ilişkili ölümlerin en önemli nedenlerinden biridir. Kolorektal kanser tüm dünyada akciğer, meme ve prostat kanserinden sonra sıklık olarak 4. sırada görülmekte olup, kolorektal adenokarsinom gastrointestinal kanalın en sık rastlanan kanseridir. Türkiyede de 2014 yılı Sağlık Bakanlığı kanser istatistiklerine göre kadın ve erkeklerde en sık görülen 3. kanser kolon kanseridir ve insidansı her geçen yıl artmaktadır. Erkeklerde yüz binde 22,8 ve kadınlarda ise yüz binde 13,8 sıklığında görülmektedir [1]. KRK riski yaşla birlikte artar; kolon kanseri tanısında medyan yaş erkeklerde 68, kadınlarda 72 iken; rektum kanseri için kadınlarda ve erkeklerde bu yaş 63' tür. Ülkemizde tanı anında kolorektal kanserlerin %35.3' ü lokal iken; %41.7' si bölgesel metastaz, %23'ü uzak metastaza sahiptir [2].

Kolorektal kanser olgularının çoğunluğu, ailesinde kolorektal kanser hikayesi bulunmayan veya eğilimli bir hastalığı olmayan kişilerde görülür. Buna ek olarak, kolorektal kanser gelişen olguların neredeyse üçte birinde bu hastalıktan etkilenen diğer aile üyeleri vardır [3]. Etkilenen aile bireylerinin yaşı gençleştikçe kolorektal kanser riski akrabalarında artmaktadır.

Kolon tümörlerinin çok büyük bir bölümünü adenokarsinomlar oluşturmaktadır. Kolon kanserleri genellikle intramukozal epitelyal lezyonlar olarak (intramukozal karsinom) başlar ve submukozaya ulaşarak invaziv kanser haline gelirler. Bölgesel yayılım yanında lenfatikler ve kan damarları ile yayılım da ortaya çıkabilir. Lokal yayılımda tümörün barsak katları boyunca yayılarak serozaya doğru ilerlemesi söz konusudur. Serozaya ulaşan tümör komşu organlara ilerleyebileceği gibi boyut olarak büyüyen tümörün lenfovasküler invazyon yapma olasılığında artış yanı sıra çevresel faktörlerle yeni etkileşimler ortaya çıkacaktır.

Tümör tomurcuğu (budding) oluşumu kolorektal kanseri olguların seyrinde bağımsız bir prognostik faktördür. Ayrıca yüksek TNM evresi, yüksek tümör derecesi, lenfovasküler invazyon ve dolayısıyla lenf nodülü metastazı ve uzak

metastaz gelişimi ile ilişkilidir [4]. Kolorektal kanserli olgularda tümör tomurcuklanmasının potansiyel olarak hasta yönetimini kolaylaştırmak için prognostic faktör olarak kullanıldığı durumlar bildirilmektedir. Endoskopik olarak rezeke edilen pT1 kolorektal kanserli olgularda, tümör tomurcuklanması varlığında lenfovasküler invazyon yapma olasılığında artış söz konusudur. Bu sonuçlar nedeniyle tümör tomurcuklanması bulunan hastalara rezeksiyon uygulanması gündeme gelmektedir. Evre II kolorektal kanserlerde tümör tomurcuklanması olan olguların hastalıksız sağ kalımın daha kısa olduğu bildirilmektedir. Ayrıca ameliyat öncesi biyopsilerde değerlendirilen tümör tomurcuklanması neo-adjuvan tedaviye hak kazanabilecek hastaların seçilmesinde önemli olabilir.

Anti-insan Pan Sitokeratin (AE1/AE3) antikorı donmuş veya formalin fikse insan dokularında ve hücrelerinde asidik ve bazik sitokeratin protein ekspresyonunun tespiti için kullanılır. Sitokeratin, insan epitel dokularının ana bileşeni olan çözünmez ve fibröz proteinlerin geniş bir ailesindendir. Epitelyal malignitelerde tümör belirteci olarak kullanılırlar. Tüm epitelyal hücrelerde boyanma oluştururlar ve lezyonların ve hücrelerin epitelyal kökenini ortaya koyarlar. Epitelyal tümörlerde yaygın boyanma beklenir. Bu sayede tümörde tomurcuklanma varlığını değerlendirmede kullanılabilir. Tümör tomurcuklanmasının değerlendirilmesinde (H&E) ile boyanmış kesitlerle karşılaştırıldığında tüm epitelyal hücrelerde pozitif reaksiyon veren PanCK immünohistokimya boyalı kesitlerde yapılan tümör tomurcuklanması değerlendirmesinin için daha güvenilir sonuç verdiğine yönelik çok sayıda yayın bulunmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KOLONUN NORMAL YAPISI

2.1.1. Embriyoloji

Embriyo, erken dönemlerde ektoderm, mezoderm ve endodermden oluşan üç tabakalı yassı disk şeklindedir. Endodermle kaplı ventral kısmı vitellus kesesiyle ilişkilidir. Lateral ve sefalokaudal yöndeki katlantılardan daha ileriki dönemlerde embriyo boyunca uzanan endodermal tüp oluşur. Bu tüpten primitif bağırsak tüpü gelişir ve ön bağırsak (foregut), orta bağırsak (midgut) ve arka bağırsak (hindgut) olarak farklılaşır. Foregut'dan farinks ve ilişkili yapılar (ağız boşluğu, dil, bademcikler, tükürük bezleri), solunum sistemi, özefagus, mide, duodenumun ilk yarısı, karaciğer, safra kesesi, safra kanal kistemi, pankreas, mide gelişir. Midgut, duodenum distal bölümü ile ince bağırsaklar, apendiks ve transvers kolonun 2/3 proksimal kısmına kadar olan kolon segmentini oluşturur. Beşinci haftada yolk sak ile midgut arasındaki bağlantı dar bir duktus (duktus omfalomezenterikus) ile olur. Midgut ventralinde, yolk salkın hemen posteriorundaki şişlik çekumun yerini belirleyerek ince ve kalın bağırsak arasındaki sınır ortaya çıkar. Başlangıçta orta bağırsak kısa bir mezenter ile posterior abdominal duvara tutunmuştur ve orta bağırsağın gelişimi ile mezenter de uzar (18).

Fetal karın boşluğu hızla büyüyen bağırsaklara küçük gelmeye başlar ve karın içi basınç artar. Altıncı haftada midgut hızla büyüyerek umbilikal kord içine herniye olur (fizyolojik herniasyon). Bağırsaklar 10. haftada, abdominal kaviteye geri dönmeye başlarlar. Orta bağırsak bu sırada kan damarları etrafında saatin tersi yönünde 270 derecelik bir dönüş yapar. Arka bağırsaktan, transvers kolonun 1/3 distalinden anal kanalın üst kısmına kadar olan bağırsaklar gelişir (anal kanalın distal parçası ektodermal anal çukurdan gelişir). Arka bağırsağın kaudal kısmı, ürorektal septum tarafından arkada rektum ve anal kanal; önde de mesane ve üretra olacak şekilde ikiye bölünür.

2.1.2. Anatomi

Kalın bağırsak (intestinum crassum) ileoçekal valvden anüse kadar uzanır ve yaklaşık 150 cm uzunluğunda lüminal bir organdır. İleum ile çekum birleşme yerinde ileoçekal valv adında kolonik barsak içeriğinin ince barsağa reflüsüne engel olan valv bulunur. Kalın barsak anslarının görünümü ve yapısı ince barsak anslarına göre daha geniştir ve daha büyük bölümü sabittir. Bölümlerine göre çapı 2-8 cm arasındadır. En geniş yeri başlangıçtaki çekum bölümüdür. Buradan itibaren çapı anüse doğru gittikçe azalır. Sadece rektumun son kısımlarında anal kanaldan önce ampulla rekti adı verilen bir genişleme bulundurulur. İnce barsaklardan farklı olarak; daha geniş çaplıdır, büyük bir kısmı sekonder retroperitonealdir ve karın arka duvarına yapışıklık gösterir. Ayrıca longitudinal kas lifleri 3 ayrı yerde kalınlaşarak “taenia coli” denilen şeritleri oluşturur. Taenia kolilerin toplam uzunluğu barsak uzunluğundan kısa olduğu için barsakları büzerek haustra coli denen keselenmeleri oluşturur. 0.5-1 cm çapında olan ve tamamı periton ile sarılı subserozal yağ doku ceplerinin üzüm şeklinde çıkıntı yapmasıyla apendiks epiploikalar oluşur.

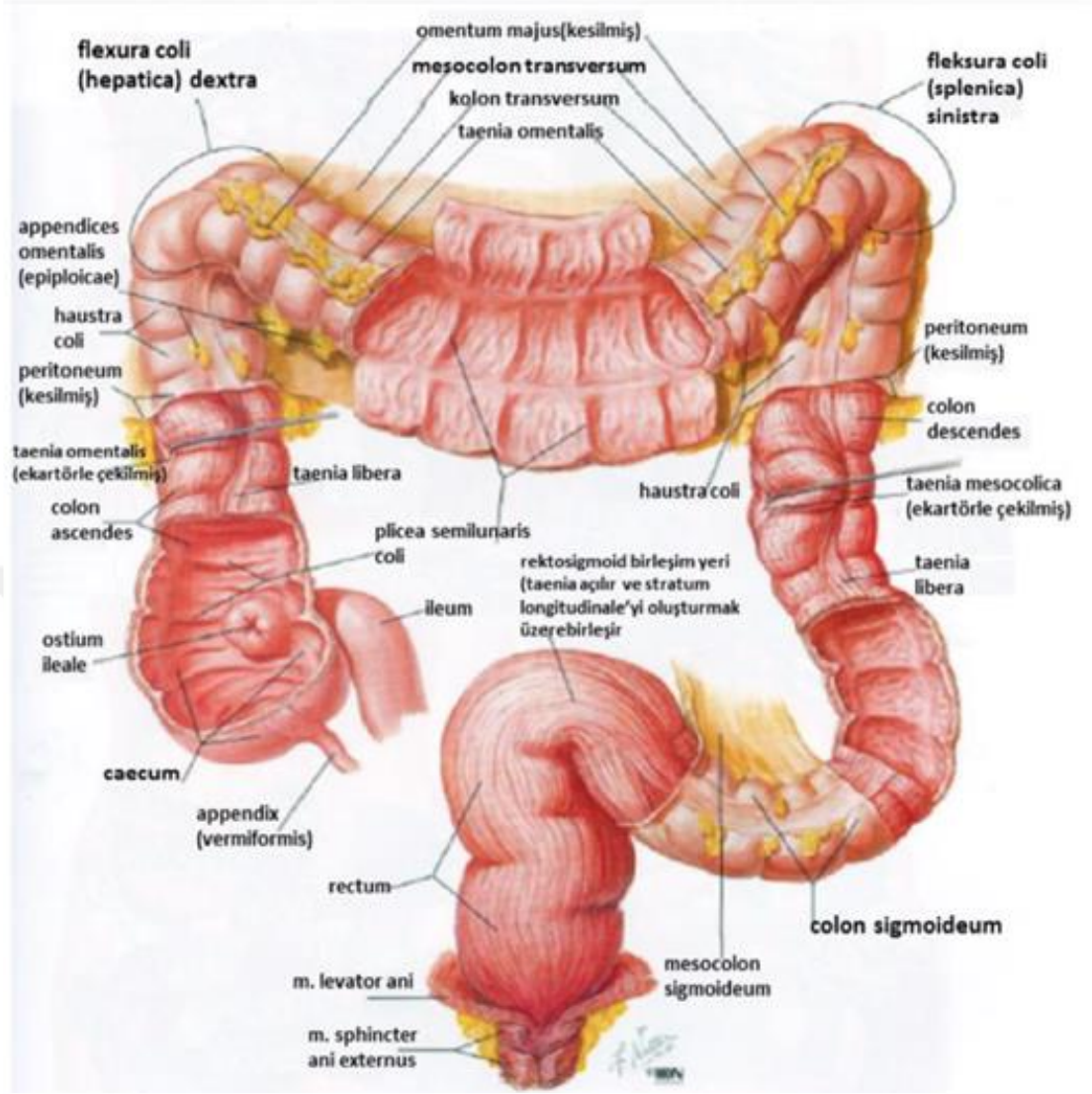
Kalın bağırsaklar ince bağırsağın etrafında bir çerçeve yaparak karın boşluğunun üst kısmında, sağ yan, sol yan ve pelvis boşluğu içinde bulunurlar. Sol yan tarafta bulunan kısım diğerlerine göre daha derin yerleşimlidir. Sağ fossa iliyaka dekstradan başlayan kalın bağırsak, karın boşluğunun sağ tarafından karaciğerin altına kadar çıkar. Burada fleksura coli dekstra adı verilen bir bükümle kıvrılarak sola doğru döner. Konveksliği aşağıya ve öne bakan bir kavis çizerek regio hipokondrika sinistraya gelir. Burada tekrar yön değiştirerek aşağı iner. Bu kıvrım yerine fleksura coli sinistra denilir. İnen bölüm, çıkan bölüme göre daha derinde olduğu için ince bağırsak kıvrımları ile örtülüdür. Sol fossa iliakaya gelince pelvis içinde “S” harfi gibi kıvrım yapar. Daha aşağıda düz bir seyir takip ederek anüsle son bulur. Sırasıyla çekum, kolon, rektum, kanalis analis olmak üzere 4 bölüme ayrılır. Pelvis boşluğunda sakrumun ön yüzü ile komşuluk yaparak koksigeal kemik önünde anüs ile son bulur.

Kalın bağırsaklar periton içinde ve retroperitoneal alanda karaciğer, dalak, mide, duodenum, ince barsaklarla komşuluk halindedir. Kalın bağırsak ile ince bağırsak arasındaki geçiş yerinde olan kapağa, bouhin kapağı veya ileoçekal valv denir. Bu kapak alt ve üst dudaktan oluşur. Dudaklar çift kat mukoza ve sirküler kas

liflerinden meydana gelmiştir. Bu kapak bir sfinkter vazifesi görerek ince bağırsaktan kalın bağırsağa içeriğin hızlı boşalması ve reflüye engel olur.

Kalın bağırsak çekum, kolon (çıkan, transvers inen, sigmoid) ve rektum olmak üzere 3 bölüme ayrılmıştır.

Çekum, kalın barsağın ilk parçası olup sağ ilik fossa yerleşimlidir. Ortalama uzunluğu 6 cm, genişliği 7,5 cm'dir. Kör bir kese olan çekum yukarıda colon ascendens ile devam eder. Çekum insanların yaklaşık %95'inde tamamen periton ile örtülüdür. Arka yüzü iliak kas ve psoas majör kası ile komşu olup kaslardan fasya ve periton ile ayrılmıştır. Çekum ön yüzü dolu iken karın öndüvarı ile boş iken ince barsak kıvrımları ile komşudur. Tenyalar çekumun arka yüzünün iç tarafında apendiks vermiformisin yapıştığı yerden başlar. Kolonun çapı en geniş olan bölgesi olduğu için bu segmentteki malign lezyonlar nadiren obstrüksiyon semptomları oluşturmakta, daha çok kanama ve anemiye bağlı halsizlik ve kilo kaybı semptomları vermektedir [5]. Ayrıca çekum geniş çapa sahip olması, duvarının ince olması nedeniyle ve Laplace kanunu nedeniyle, kolonda tıkaçıcı bir patoloji olduğu zaman ileoçekal valv patent ise kolonun perfore olduğu bölgedir [6]. Çekumun arterleri, A. mezenterika süperiorun bir dalı olan A. ileokolikanın A. çekalis anterior ile A. çekalis posterior ve dallarıdır. Venleri de aynı isme sahip olup arterlerin yanında yer alır ve V. mezenterika süperiora drene olur. İnnervasyonu süperior mezenterik pleksustan gelen sempatik ve parasempatik (N. vagus) dallar ile olur. Çekumun lenfatik drenajı ileokolik lenf bezleri ve süperior mezenterik bezlerine olur [7].



Resim 3. Kolon anatomisi [8]

Çıkan kolon; çekumdan daha dar olan çıkan kolon yaklaşık 15-20 cm uzunluğundadır. Bu düzeyde sola ve öne doğru kıvrılarak hepatik fleksurayı oluşturur. Ön yüzü ve yan yüzü periton ile çevrili olup arka yüzü ise gevşek bağ dokusu ile karın arka duvarına tutunmaktadır. Ön yüzü ileum kıvrımları, omentum majusun sağ kesimi ve karın ön duvarı ile komşudur. İçte duodenum, ince barsaklar ve psoas majör kası; dışta karın yan duvarı ile komşudur. Arkada quadratus lumborum kası, transversus abdominalis kasının aponevrozu ve sağ böbreğin alt dış kısmı ve sağ üreter ile komşudur. Karaciğer sağ lobunun alt yüzeyinde fleksura coli dekstrayı yaparak sola kıvrılır ve transvers kolon adını alır. Çıkan kolonun arterleri A. mezenterika superiorun dalları olan A. iliokolika ve A. kolika dekstradır. Venleri de aynı isme sahip olup

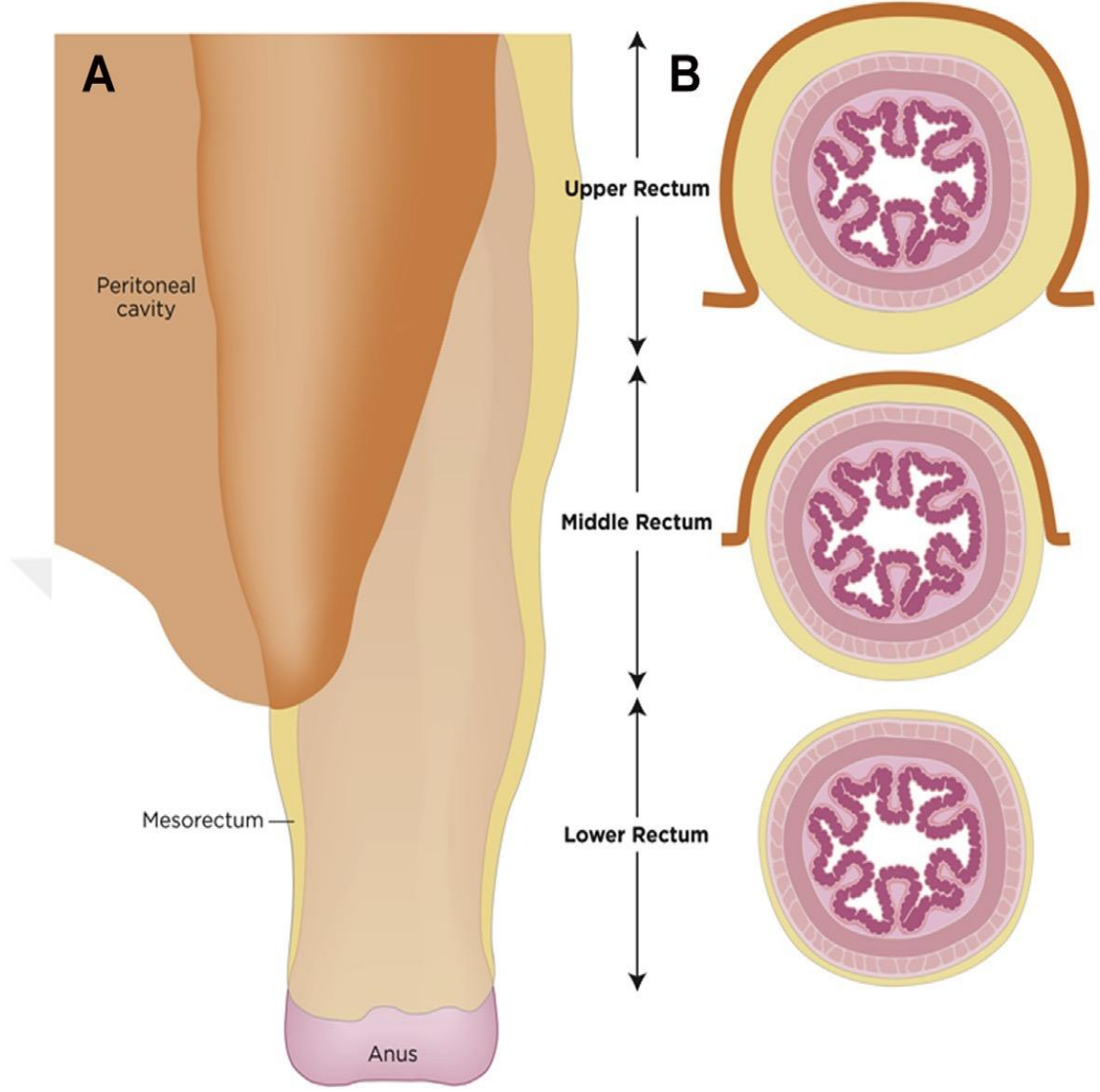
arterlerin beraberinde seyreder ve V.mezenterika süperiora drene olur. Lenf drenajı nodi lymphatici dextri aracılığı ile süperior mezenterik lenf bezlerine olur. İnnervasyonu çölyak ve süperior mezenterik gangliyonlardan gelen sempatik ve parasempatik (N. vagus) dallar ile gerçekleşir [7].

Transvers kolon, kolonun en uzun (50cm) ve en hareketli kısmıdır. Regio lateralis dextrada bulunan flexura koli dextradan başlar. Regio umbilicalis'ten geçerek region lateralis sinistra' ya, buradan da yukarı doğru uzanarak, region hypocondriaca sinistra' da sonlanır. Burada dalağın ön alt ucunun altında birden aşağı ve arkaya doğru dönerek Flexura koli sinistra' yı oluşturur. Batın boşluğunu sağdan sola katederken açıklığı yukarı ve arkaya bakan bir kavis çizer. Pankreas başından splenik fleksuraya kadar tamamı peritonla örtülüdür ve mezokolon ile karın arka duvarına tutunur. Transvers kolonun başlıca arteri A. kolika media olup sağ tarafı A. kolika dekstradan, sol tarafı A. kolika sinistradan beslenir. A. kolika media ve A. kolika dekstra A. mezenterika süperiorun, A. kolika sinistra ise A.mezenterika inferiorun dalıdır. Venöz dolaşım ise medial kolik ven ile süperior mezenterik vene doğrudur. A.mezenterika süperiorun beslediği alanlar süperior mezenterik plexus ile A.mezenterika inferiorun beslediği alanlar ise inferior mezenterik plexus ile innerve olur. Transvers kolonun lenfatik drenajı A. colika media boyunca sıralanan nodi lymphatici colici medii' ye, buradan da nodi lymphatici mesenterici süperiores'e açılırlar. Sinirleri ise plexus mesentericus süperior ve plexus mesentericus inferior' dan innerve olur.

İnen kolon, Flexura koli sinistradan başlar, region kolika sinistrada aşağı uzanır. Yaklaşık 25 cm uzunluğunda ve 3 cm genişliğindedir. Kolonun en dar lümene ve en kalın kas tabakasına sahip kısmıdır. Sol böbreğin ön yüzünün dış kenarını izleyerek psoas majör ve kuadratus lumborum kası arasındaki olukta ilerleyerek crista iliyakaya kadar inerek küçük pelvis girişinde sigmoid kolonla sonlanır. Ön ve her iki yan yüzü periton ile çevrili olan inen kolonun arka yüzü gevşek bağ dokusu ile karın arka duvarına yapışır. İnen kolonun arterleri A. mezenterika inferiordan köken alır. Büyük bir kısmı A. kolika sinistradan, son kısımları A. sigmoidea'dan beslenir. Venleri de aynı isme sahip olup V. mezenterika inferiora açılır. İnnervasyonu inferior mezenterik plexus gerçekleştirir. Lenfatik drenajı kolika sinistra lenf düğüm aracılığı ile inferior mezenterik lenf bezine olur [7].

Sigmoid kolon, yaklaşık 40 cm uzunluğundadır; fakat boyu varyasyonlar gösterir. İnen kolonun sol krista iliyaka seviyesinde pelvise doğru kıvrılması ile başlar ve üçüncü sakral vertebra seviyesinde rektumda son bulur. “S” harfi şeklinde kıvrım bulunduran kolonun bu segmentinin ortalama çapı 5-6 cm’dir. Tamamen peritonla sarılı ve uzunluğu değişebilen mezokolonu olup tümü intraperitoneal yerleşimlidir. Sigmoid kolonun arterleri A. mezenterika inferiorun dalı olan A. Sigmoidea’ dır. Venleri de aynı ismi alırlar ve arterlerini takip ederler. İnnervasyonu inferior hipogastrik pleksusdan gelen sempatik ve parasempatik lifler aracılığı ile gerçekleşir. Lenfatik drenajı sigmoidal lenf düğümü aracılığı ile inferior mezenterik lenf bezine olur [9].

Rektum, yaklaşık 12 cm uzunluğundadır. Kalın bağırsağın son kısmı olup 3. sakral vertebra hizasından başlayıp, sakrum eğilimini takip ederek koksigeal kemiğin 3-4 cm aşağısında anüs ile son bulur. Sakrum ve koksiksin kavislerine uyucak şekilde kavisler yapar. Sakrumun önünde konkavitesi öne doğru bakan flexura sakralis’i oluşturur. Bundan sonra önce aşağı ve arkaya doğru seyrederek diafragma pelvisten geçerek Canalis analis olarak uzanır. Rektumda haustralar, appendiks epiploikalar, mezenter ve tenyalar yoktur. Rektumun sadece üst 2/3’ü peritonla örtülüdür. Bununda üst yarısının ön ve yan tarafları; alt yarısının ise sadece ön tarafı periton ile örtülüdür. Alt 1/3’ünde periton bulunmaz. Ön yüzü örten periton mesaneye geçerek erkekte “excavatio rectovezicalis”i, uterusu geçerek kadında “excavatio rectouterina”yı oluşturur. Arka yüzde ise sigmoid kolona kadar retroperitonealdir. Retroperitoneal rektumun önünde ise erkekte mesaneye, kadında vajinaya uzanan Denonvilier fasyası bulunur. Rektumun iç kısmını döşeyen mukoza diğer kalın barsak bölümlerine göre daha kalın, damardan zengin ve alttaki tabakaya daha gevşek olarak tutunmuştur. Bu özelliği ile özefagusu benzetmektedir. Anorektal hattın üstünde kalan rektumun dolaşımı A. mezenterika superiorun uç dalı olan A. rektalis superior ile aşağısında kalan kısım A. pudenda internanın dalı olan A. rektalis inferior, orta kısmı A. iliyaka internanın dalı olan A. rektalis media’dan beslenir. Ayrıca rektuma A. sakralis mediadan da ince dallar gelir. Venöz dolaşımı V. rektalis superior ile V. mezenterika inferiora, V. rektalis media ile V. iliyaka internaya, V. rektalis inferior ile V. pudenda internaya açılır. İnnervasyonu ise rektum ve anal kanalın üst kısımlarında bulunan superior, inferior ve medial rektal pleksuslar ile gerçekleşir. Parasempatik lifleri ise sakral parasempatik merkezlerden gelir. Lenfatik drenaj inferior mezenterik lenf bezine olur [7, 9].



Resim 4. Rektum periton durumu [10]

2.1.3. Histoloji

Tüm kolon; mukoza, submukoza, müsküler tabaka, seroza olmak üzere dört kısımdan oluşur. Tunika mukoza; yüzey epiteli, kriptler, lamina propria ve muskularis mukozadan oluşmaktadır. Kolon mukozası villusdan yoksundur. Yüzey epiteli basit tek sıralı kolumnar veya küboidal epitel ile döşelidir. Kriptler çok sayıda goblet hücresi, absorbtif hücre, nöroendokrin hücre içerir. Absorbtif hücreler su ve elektrolitleri absorbe ederler. Bu hücreler oval, bazalde yerleşik nükleuslu, eozinofilik ve uniform görünümde hücrelerdir. Goblet hücreleri müsin sentezi, depolanması ve salınımından

sorumludur. Kolonun goblet hücrelerinin enterositlere oranı kalın bağırsakta ince bağırsaktan daha fazladır. Bu oran çekumdan rektuma gittikçe artar. Kriptlerin bazaline inildikçe daha az olgunlaşmış kök hücreler görülür. Lamina propria yüzey epiteli ve muskularis mukoza arasında kalan gevşek bağ doku, sinir uçları ve immun sistem hücrelerinden oluşan katmandır. Lamina propriada temel olarak fibroblastlar, inflamatuvar hücreler, düz kas, damar ve sinirler bulunur. Lenfatikler lamina propria alt 1/3 kısmında yer alır. Kolonun temel görevi intestinal içerikten sızan zararlılara karşı lokal immün cevabı oluşturmaktır. Normalde mevcut olan inflamatuvar hücreler lenfositler, plazma hücreleri, mast hücreleri, eozinofil ve histiyositlerdir. Lamina muskularis mukoza kapillerle ve lenfatiklerle çevrili ince kas ve sinir liflerinden oluşur. Muskularis mukoza, mukozayı daha derin submukozadan ayırır.

Tunika submukoza; lamina propria ve epitelden ince bir kas tabakası olan muskularis mukoza ile ayrılır. Lamina propriadaki hücrel içerik benzer şekilde submukozal stromada da bulunur. Meissner ve derin submukozal plexus burada yer alır.

Tunika muskularis içte sirküler, dışta longitudinal kas tabakalarından oluşur. Auerbach sinir plexusu iki kas tabakası arasında uzanır. Dış longitudinal tabaka lifleri tenia coli denilen üç kalın longitudinal bant halinde toplanmıştır.

Tunika seroza, tek sıralı yassılaştırmış veya küboidal mezotelyal hücreleri ile döşeli peritondan ve fibroelastik dokudan oluşur. Kan damarları ve lenfatikler içerir. Çekum, apendiks, transvers kolon ve sigmoid kolonu tam olarak sarar (intraperitoneal). İnen kolon, çıkan kolon ve rektumun distali ile anal kanal peritonun arkasında kalır (retroperitoneal) [11].

Kolonun tüm kısımları hemen hemen aynı histolojik özelliğe sahiptir. Bağırsak içeriği boşalmadan önce depolanır ve su, elektrolitler, safra asitleri ve bazı vitaminler emilir. Aynı zamanda koruyucu ve kayganlaştırıcı mukus salgılar ve besinlerin enzimatik olmayan bakteriyel sindirimini sağlar.

2.1.4. Fizyoloji

Kolonun başlıca işlevleri kimustan su ve elektrolitlerin emilimi ve fekal maddenin dışarı atılncaya kadar depolanmasıdır. Kolonun üst yarısı temel olarak emilim ile, son yarısı ise depolama ile ilgilidir. Kolon mukozasında Lieberkühn kriptleri hemen hemen hiç enzim içermeyip sadece alkali mukus salgılayan müköz hücrelerden oluşur. Mukus salınımı motilite arttıkça artar. Mukus dışkıdaki asit ve bakterilerin etkilerine karşı bariyer vazifesi görerek bağırsak duvarını korur.

Bu işlevler için güçlü hareketler gerekmediğinden kolon hareketleri normalde ileri derecede yavaştır. Segmenter kontraksiyonlar en sık gözlenen hareketler olup longitudinal ve sirküler kaslarda spontan olarak oluşur. Retrograd hareketler transvers kolondan çekuma doğru ilerleyen dalgalardır ve bunlar sayesinde sağ kolonda hareketler yavaşlatılarak emilim süresi uzatılır. Kitle hareketleri ise en az görülen tip olup uzun bir segmenti kapsar. Kolon içeriği dakikada 0,5-1 cm hızla ilerler. Temel olarak bu hareketler karıştırıcı ve itici olmak üzere ikiye ayrılabilir. Karıştırıcı hareketler, haustraların sırasıyla kasılmasıyla içeriğin karıştırılması ve sıvı-elektrolit emilimi için mukoza ile temasını sağlar. İtici hareketler ise birden fazla haustranın bir arada kasılmasıyla içeriğin distale doğru transportunu sağlar. Ağızdan alınan bir gıda yaklaşık 20 saatte rektosigmoid bölgeye ilerler. Ayrıca kolon ve rektumda bulunan bakteriler bazı vitaminlerin (K vitamini, riboflavin gibi) sentezinde görev alırlar. Kolon mukozasında en çok bulunan anaerob bakteri *Bacteriodes Fragilis*'tir [12].

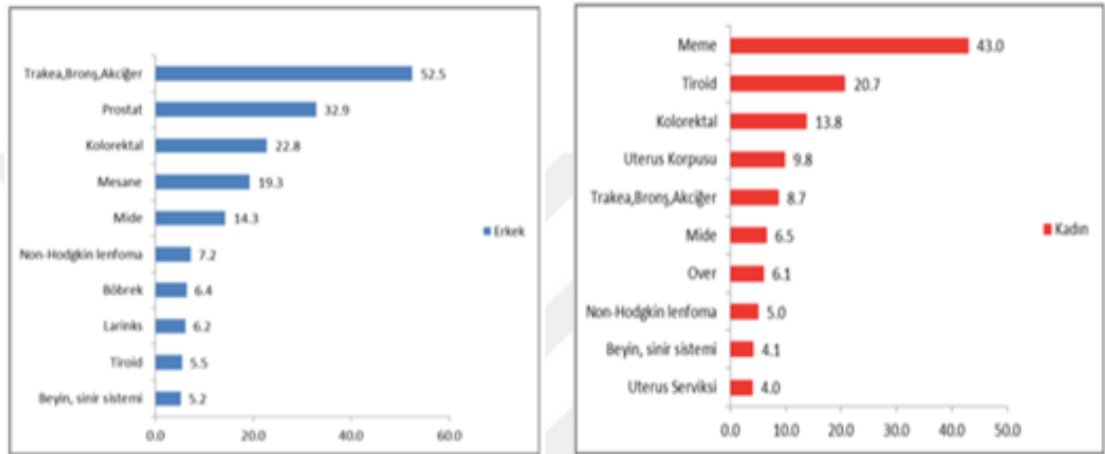
2.1.5. Kolonda Hücre Proliferasyonu

Kolon epiteli aktif olarak proliferasyon bulunduran ve kendi kendini yenileyen sisteme sahiptir. Normal koşullarda proliferasyon zonu; kolonik epitelin 1/3 alt kısmında bulunur. Epitelin üst kısmında proliferasyon zonu bulunmaz. Prolifere olan hücreler glandın daha yüzeyel kısımlarına göç ederler ve mukozal yüzeye itilirler. Bu süreç yaklaşık 4-6 gün almaktadır [13].

2.2. KOLOREKTAL KARSİNOM

2.2.1. Epidemiyoloji

Kolorektal kanserler hem kadınlarda hem de erkeklerde en sık görülen üçüncü kanserdir. Erkeklerde yüz binde 22,8 ve kadınlarda ise yüz binde 13,8 oranında görülmektedir [1]. 2018 yılında kanser tanısı alan olguların %6.1'ini oluşturmaktadır.



Şekil 1. T.C Sağlık Bakanlığı 2014 Kadınlarda ve Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kanserlin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları

(Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2014) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide)

KRK görülme sıklığı toplumlara göre değişmektedir. En yüksek kolon kanseri insidans oranları, Avrupa, Avustralya / Yeni Zelanda, Kuzey Amerika ve Doğu Asya'da bulunur. Hem kolon hem de rektum kanseri insidans oranları, Afrika'nın çoğu bölgesinde ve Güney Asya'da düşük olma eğilimindedir [14]. Bu coğrafi insidans farklarından yaşam biçimi, çevresel faktörler ve özellikle diyet sorumlu tutulmaktadır.

T.C Sağlık Bakanlığı'nın Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığının 2014 verilerine göre ülkemizde kanser sıklığı giderek artmaktadır. KRK kadınlarda meme ve tiroid kanserinden sonra; erkeklerde akciğer kanserinden sonra 3. en sık görülen kanserdir (T.C 2014) (Şekil 1).

KRK görölme insidansı yaşla birlikte belirgin artış göstermektedir ve 40 yaşından önce KRK oldukça nadir görölmektedir. 40 yaşın altında görülen KRK'ların büyük kısmından genetik predispozisyon durumları ve idiopatik inflamatuvar barsak hastalığı gibi durumlar sorumlu tutulmaktadır.

KRK'lerin en sık görülen tümör yerleşimi proksimal kolondur (%41), bunu rektum izler (%28). Bununla birlikte, lokalizasyon dağılımında cinsiyet ve yaşa göre çarpıcı değişiklikler vardır. Proksimal yerleşimi tümör kadınlarda erkeklere göre daha fazladır ve yaşla birlikte artar. Örneğin, 80 yaş ve üstü kadınlarda KRK'ların %57'si proksimal kolonda görülürken, 50 yaşından küçük erkeklerde ise sadece %26'sı proksimal kolonda görülür. KRK 50 yaşından küçük kadın ve erkeklerde, en sık rektumda tanı alır (sırasıyla %41 ve %36) [15].

KRK sağ kalım oranları, erkekler ve kadınlar için, cinsiyete göre büyük ölçüde değişmediği için kombine edilerek sunulmaktadır. 2006-2012 yılları arasında tümü (2013 yılına kadar takip eden) tanı alan hastalar için 5 yıllık sağ kalım oranı %65 bulunmuştur. Genel olarak beş yıllık sağ kalım, rektal tümörlü hastalarda (%67), diğer kolon tümörlülere göre (%64), biraz daha yüksektir, çünkü rektal kanser daha erken bir aşamada teşhis edilir [16].

2.2.2. Etyoloji

2.2.2.1. Diyet ve Yaşam Tarzı

KRK gelişme riski kişiye bağlı yapısal farklılıklar ve çevresel etkenlerden etkilenmektedir. Küresel çapta KRK olgularındaki farklılıklar ve Amerika Birleşik Devletleri'ndeki göçmen popülasyonlar arasındaki riskteki belirgin değişiklikler, diyetin KRK oluşumunu kuvvetle etkilediğini öne sürmektedir [17]. Diyetin etkisi riski artıran gıdaların alımı ya da aşırı beslenme ile obezite üzerinden etkili olabilir. Ayrıca diyet kolondaki mikroorganizmalar üzerinde de büyük bir etkiye sahiptir [18]. Bu farklı ortamın kompozisyonunun, immün yanıt ve enflamasyon etkisiyle tümör gelişiminde

hem olumlu hem de olumsuz bir rol oynadığı düşünülmektedir [19, 20]. Çalışmaların çoğu süt gıdalarından ve takviyelerinden elde edilen kalsiyum tüketiminin adenom ve KRK gelişme riskinin azalması ile ilişkili olduğunu bildirmektedir [21].

Yeterli kalsiyum alımı, daha fazla tüketim için sınırlı ek fayda sağlayacak şekilde KRK'dan korunma sağlamıştır. Diyetteki lif miktarı, yüksek dışkı hacmi ve daha hızlı geçiş süresi nedeniyle kanserojenlere daha az maruz kalma da dahil olmak üzere birçok nedenden ötürü KRK riskini azaltması oldukça makul olsa da, randomize kontrollü çalışmalardan elde edilenler verilerde dahil olmak üzere çalışma sonuçlarında belirgin bir fark görülmemiştir [22]. Ancak, yüksek lifli bir diyetin genel sağlık yararı, Amerikan Kanser Topluluğu ve Dünya Kanser Araştırma Fonu, kanserin önlenmesi için tam tahıllarda, meyvelerde ve sebzelerde yüksek bir diyetin önemini savunmaktadır [23]. Kasım 2009'da, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı, sigara kullanımının KRK ile ilişkili olduğunu bildirmiştir [24]. Rektal kanserin sigara ile ilişkisi daha belirgin olarak bulunmuştur [24]. Sigara içen bireylerde KRK daha düşük sakalım ile ilişkili bulunmuştur [25].

Orta ve ağır alkol kullanımı, (hafif kullanım: günde <12.5 gram, yaklaşık bir içki), artan KRK riski ile ilişkilidir [26]. Ara sıra alkol alanlarla kıyaslandığında, ömür boyu günde ortalama 2 ila 3 alkollü içecek tüketen bir kişi yaklaşık %20 oranında daha yüksek KRK riski taşır ve günde 3'ten fazla içki tüketenler yaklaşık %40 artmış riske sahiptir [27]. Uzun süreli düzenli aspirin ve diğer nonsteroidal antienflamatuar ilaçların (NSAIDs) kullanımının KRK riskini azalttığına dair geniş kanıtlar vardır [28]. KRK geliştiren hastalarda Aspirin kullananların, aspirin kullanmayanlara göre daha az agresif tümörlere ve daha iyi sağ kalımlara sahip gibi görünmektedir [29]. ABD Önleyici Hizmetler Görev Birimi şu anda 50 yaşlarındaki kardiyovasküler hastalık riski taşıyan belirli bireyler için kalp damar hastalığı ve CRC'nin önlenmesi için günlük düşük doz aspirin kullanımını önermektedir [30].

Özetle KRK'lerin çoğu batı tip diyet ve sedanter yaşam birlikteliği ile ilişkilidir. Obezite, kırmızı et tüketimi, sigara ve alkol tüketimi değiştirilebilir önemli risk faktörlerindendir. Meyve-sebze tüketimi, tam tahılların kullanımı, kalsiyum ve D

vitamini, uzun süreli non-steroid anti-inflamatuar ilaç (NSAİD) kullanımı, kadınlarda östrojen replasman tedavisi ve fiziksel aktivitenin KRK gelişim riskini azalttığı bildirilmektedir. C vitamini, tokoferol, selenyum barsak epitelini kuvvetli mutajenlerden ve karsinojenik tahribattan korumaktadır [31].

2.2.2.2. Genetik Faktörler

KRK büyük oranda sporadik gelişmekle birlikte, hastalarının yaklaşık %30'unun ailesinde hastalık öyküsü vardır ve bunların yaklaşık %5'i kalıtsal genetik anomaliden kaynaklanmaktadır [32]. KRK tanısı almış birinci derece akrabaları olan (ebeveyn, kardeş veya çocuk) insanlar da bu tanı öyküsüne ve etkilenen akraba sayısına bağlı olarak, bu aile öyküsü olmayan insanlara kıyasla KRK gelişme riski 2 ila 4 kat artmaktadır [33, 34]. Son çalışmalar, aile riskinin birinci derece akrabaların ötesine geçtiğini göstermektedir [35]. Adenom tanısı konan bireylerle birinci veya ikinci dereceden akraba olan kişilerde de risk biraz artar. KRK' un kümелendiği ailelerin çoğunda riski belirgin arttıran faktörün nadir kalıtsal sendromların aksine, hastalık riskini artıran nispeten yaygın genetik varyasyonların yaşam tarzı faktörleri ile kümülatif etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir [36]. Karakterize edilmiş kalıtsal sendromlar, tüm KRK'ların yaklaşık %5'ini oluşturur ve spesifik gen mutasyonları ile ilişkilidir [32]. En yaygın kalıtsal KRK sendromu, eskiden Hereditör nonpoliposis kolorektal karsinoma (HNPCC-Lynch Sendromu) tüm olguların yaklaşık %2 ila %4'ünü oluşturur. Lynch sendromlu bireyler, endometrium, over, ince bağırsak ve mide de dahil olmak üzere çok çeşitli başka organ kanserleri için de risk altındadır.

Poliposis sendromlarında yüksek gastrointestinal ve diğer organ kanser riskleri mevcuttur. Polip tiplerinde çeşitlilik (adenomatöz, serrated) mevcuttur. İzlenen polip tipi, prezentasyon yaşı, poliplerin üst/alt gastrointestinal sistem dağılımı, polip sayısı, ekstraintestinal bulgulara göre kategorilere ayrılır. Bu sendromlar otozomal dominant kalıtım gösterirken, MUTHY-ilişkili poliposis (MAP) otozomal resesif kalıtım göstermektedir. Poliposis olgularında ekstra gastrointestinal olarak konjenital retinal

hipertrofi, osteoma, perioral pigmentasyon, multipl epidermoid kist, multipl subkutanöz lipoma, sebace gland tümörü, medulloblastoma ve hepatoblastoma görülebilir.

Polipozis sendromları; Herediter (adenomatöz polipozis sendromları, hamartomatöz polipozis sendromları, vb.) ve non herediter polipozis sendromları olarak gruplanabilir. Adenomatöz polip bulundurmayan gastrointestinal polipozis sendromlarında çoğunlukla hiperplastik, hamartomatöz veya inflamatuvar tipte polipler görülür (örneğin; “Serrated” polipozis sendromu, Peutz-Jeghers sendromu). Normalde hiperplastik, hamartomatöz veya inflamatuvar tipte polipler de displazi veya karsinom gelişimi beklenmezken; polipozis sendromuna eşlik eden olgularda görülebilmektedir.

Tablo 2. Herediter kalıtım bulunduran KRK Sendromları

SENDROMLAR
Otozomal dominant kalıtmı KRK
Polip bulundurmayan veya birkaç adenomatöz polip içeren - Lynch Sendrom Adenomatöz polip bulunduranlar -FAP ve Atenu FAP(AFAP) -Gardner Sendromu, Turcot Sendromu Hamatomatöz / mikst /hiperplastik polipler bulunduran -Peutz-Jeghers Sendromu (PJS) -Jüvenil Polipozis Sendromu (JPS) -Herediter hemorajik telenjektazi sendromu (HHT)* -“Serrated” polipozis sendromu* -Herediter mikst polipozis sendromu (HMPS)* -PTEN hamartoma sendrom (Cowden Sendrom/ Bannayan-Ruvalcaba - Riley Sendromları)* -Birt-Hogg-Dube Sendromu*
Otozomal resesif kalıtmı KRK
Adenomatöz, serrated adenoma ve hiperplastik polipler -MUTHY ilişkili polipozis (MAP) ²

¹Turcot sendromu: Lynch Sendromu varyantı veya beyin tümörlerinin FAP’e eşlik etmesi

²Muir-Torre Sendromu: Lynch Sendromu varyantı veya sebace gland tümörlerinin MAP’e eşlik etmesi

*KRK riski belli değil

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

Herediter non-polipozis kolorektal karsinoma (HNPCC-Lynch Sendrom) olarak adlandırılan bu sendrom adının da desteklediği şekilde çok sayıda polipler ile

karakterli tipik bir polipozis sendromu değildir. Bununla birlikte Lynch sendromlu hastalarda adenomatöz polip insidansı aynı yaş grubuna göre daha fazladır [37]. Lynch sendromu kalıtsal kolorektal kanser sendromlarından en sık görülenidir ve tüm kolorektal kanserlerin %3'ünü oluşturur [38]. Hastalar tipik olarak 40 ve 60 yaşları arasında kolorektal ve endometrial kanserler geliştirir. Ortalama tanı yaşı 42'dir. Ayrıca mide, ince bağırsak, üst üriner sistem, over, pankreatobiliyer sistem ve beyinde malignensi gelişimi riski de vardır. Tümörleri sıklıkla senkron veya meta-senkronudur. Lynch sendromu otozomal dominant bir şekilde kalıtılır, ancak olguların%5'ine kadarı yeni mutasyonlara bağlı olabilir [39]. Sendrom, dört DNA yanlış eşleşme onarım geninden birinde ya da MSH2 geni yakınındaki EPCAM geninin yapısal epigenetik susturulmasına yol açan patojenik bir “germline” mutasyondan kaynaklanır. “Germline” mutasyon sonucunda zigottan oluşan tüm embriyoner hücrelerde DNA tamir genlerinden biri mutant, diğeri ise doğal (“wild”) olarak bulunur. İlerleyen dönemlerde çevresel faktörlerin etkisiyle ikinci vuruş (“second hit”) gerçekleşir. Böylece doğal allel gende inaktivasyon veya mutasyon oluşmasıyla hücre neoplastik sürece girmiş olur. HNPCC ilişkili tümörlerde DNA “mismatch” onarım genlerinde oluşan defektin neden olduğu MSI karakteristiktir. Bu genler;

Kromozom 3p21' da lokalize **MLH1** (MutL homolog 1),

Kromozom 2p21-22' da lokalize **MSH2** (MutS homolog 2),

Kromozom 7p22' da lokalize **PMS2** (postmeiotic segregation 2),

Kromozom 2p16' da lokalize **MSH6** (MutS homolog 6)'dır.

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

Mikrosatellitler insan genomu boyunca serpiştirilmiş dağılım bulunduran, 1-5 baz arasında, kısa ve çiftler halinde tekrar eden DNA dizileridir [40]. DNA bölünmesi sırasında mikrosatellit allellerinin insersiyon veya delesyonla uzunluğu değişebilmekte, ortaya çıkan hatalar normal koşullarda DNA “mismatch” onarım genleri (MMR) tarafından düzeltilmektedir. DNA “mismatch” onarım sisteminde

defekt olması sonucunda kodlanan genin egzonunda oluşan tekrarlayan nükleotid dizileri tamir edilememekte, “frame-shift” mutasyonlar meydana gelmekte ve bunun sonucunda MSI gelişmektedir.

Lynch sendromu kolorektal kanserleri baskın olarak proksimal kolonda görülür. Histolojik olarak sıklıkla az differansiye ve müsinöz farklılaşma gösterirler. Medüller büyüme paterni, Crohn benzeri lenfositik reaksiyon ile karakterlidir. İntratümöral lenfositler de sıklıkla öne çıkan bir özelliktir. Birçok olgu, hiçbir gland oluşumu kanıtı olmadan az differansiye olmasına rağmen, tümör hücrelerinin minimal nükleer pleomorfizm gösterdiği ve monomorfik olma eğiliminde olduğu belirtilmelidir. 50 yaşın altındaki bir hastada sağ kolonda adenokarsinom teşhisi, her zaman, özellikle tipik Lynch tümör morfolojisi bulunduran durumlarda, Lynch sendromu olasılığını arttırmalıdır [41, 42]. Lynch sendromu hastalarında ortaya çıkan tümörler, tümör hücrelerinde değişmiş DNA onarım mekanizmalarına bağlı olarak yüksek seviyelerde mikrosatellit instabilitesi (MSI) göstermektedir. DNA MMR proteinleri için immünohistokimyasal ekspresyon kaybı olması, yalnızca şüpheli Lynch sendromunun teşhisini destekler.

Amsterdam I kriterleri 1991’de, o sırada bilinen diğer polipozis sendromlarından (FAP ve hamartomatöz polipozis sendromlarından) ayırmak için tanımlanan bir terim olan non-polipozis KRK’yı (HNPCC) tanımlamak için geliştirilmiştir [43]. Ancak, tüm HNPCC bireylerine Lynch sendromu tanısı konmaz ve tüm Lynch sendromu bireyleri HNPCC için klinik kriterleri yerine getirmez. HNPCC bireylerinin %50’ sinde gerçekte Lynch sendromu yoktur [44]. Diğer yarısı MSI KRK’lı hastaları, MMR geninde (Lynch benzeri sendrom) germline değişikliği olmayan hastalar ve Ailesel kolorektal kanser tip X (FCCTX) olarak adlandırılan MSS KRK’lu hastaları içerir. Lynch sendromu ilişkili tümörler, tümör hücrelerindeki değişmiş DNA onarım mekanizmalarına bağlı olarak yüksek seviyelerde mikrosatellit instabilitesi (MSI) göstermektedir. KRK’ da MMR eksikliğinin belirlenmesi için immünohistokimya ilk tarama testi olarak kullanılmaktadır [45]. MSI değerlendirmesi için “Bethesda” paneli uygulanmakta; tümörde bakılan 4 belirteçten 2 veya daha fazlası ile ekspresyon kaybı görülüyorsa MSI-H, 1 belirteçte kayıp var ise MSI-L, tüm belirteçler stabil ise MSS olarak adlandırılır.

HNPCC tanısı aile hikayesi, patolojik bulgular, MMR genlerindeki mutasyon analizlerinin ortak değerlendirilmesi ile konur. HNPCC hastalarında aile hikayesi araştırmaları halen önemini korumaktadır. Genetik testlerin yapılmasına uygun KRK'lı olguların seçiminde Amsterdam kriterleri kullanılmaktadır. Hastalarda HNPCC riskini değerlendirmek için daha sonra Amsterdam II [46] ve revize edilmiş Bethesda kriterleri [47] kullanılmıştır. Mikrosatellit testlerinin uygulanmaya başlanması ile Amsterdam II kriterlerinin HNPCC tanısı için yetersiz kaldığı saptanmış, Bethesda kriterleri geliştirilmiştir. Amsterdam II ve Bethesda kriterlerinden en az 3'ünü taşıyan hastalar HNPCC grubuna dahil edilmektedir.

Amsterdam II Kriterleri:

1. Üç ya da daha fazla aile üyesinde HNPCC ilişkili kanser olması ve bunlardan birisi diğer ikisinden birisi ile birinci derece akraba olması,
2. En az iki jenerasyonun hastalıktan etkilenmesi,
3. HNPCC ilişkili kanser tanısı alanlardan bir veya daha fazlasının 50 yaşın altında olması,
4. FAP' ın dışlanması,
5. Tümörlerin patolojik olarak doğrulanması

Revize Edilmiş Bethesda Kriterleri:

1. KRK tanısının 50 yaşından önce konulmuş olması,
2. Yaştan bağımsız, senkron-metakron kolorektal ve diğer HNPCC ilişkili tümörlerin gelişmesi,
3. MSI-H histolojisi bulunduran KRK tanısının 60 yaşından önce konulması,
4. Bir veya birden fazla birinci derece akrabasında KRK ve HNPCC ilişkili tümör bulunan hastaların olması ve hastaların birinde kanserin 50 yaştan önce saptanması
5. KRK'lı hastada, yaşa bakılmadan, birinci veya ikinci derece akrabalarında iki veya daha fazla HNPCC ilişkili tümör bulunması.

2.2.2.4. Polipozis Sendromları

Famlyal Adenomatöz Polipozis (FAP): Yüzlerce veya binlerce kolorektal adenomatöz polip varlığı ile karakterli otozomal dominant kalıtılan bir sendromdur. FAP yeni tanı almış KRK'lı hastaların %1'den azında görülür. 5. kromozomun uzun kolunda (5q21-22) bulunan Adenomatöz polipozis koli (APC) geninde “germline” mutasyon sonucu meydana gelir. FAP, yüksek penetrasyonlu otozomal dominant bir şekilde kalıtımla alınsa da, yeni mutasyonlar olguların belki de %25'ini oluşturabilir [39]. APC geninin mutasyonu, Klasik tip FAP için tanısal kriterler 2010 WHO klasifikasyonuna göre; 100'den fazla kolorektal adenoma varlığı, APC geninde “germline” mutasyon, Ailede FAP öyküsü ve genç yaşta herhangi bir sayıda adenom varlığıdır. Daha hafif formu olan Atenu FAP ise yine klasik FAP'a benzer şekilde APC geninde mutasyon bulunduran, otozomal dominant kalıtım bulunduran, kolonda yaklaşık 20-30 kadar adenom ile karakterize bir sendromdur. Hem FAP hem de atenu FAP'ta adenomlar genellikle ergenlik döneminde gelişir ve klasik FAP'lı hastalar tipik olarak 20'li ve 40'lı yaşlarda, atenu FAP'lı hastalar ise ortalama 55 yaşında kolorektal kanser geliştirirler.

FAP; 2 veya 3. dekatta oluşur. Yaş arttıkça poliplerin sayısı ve boyutu artar. 50 yaşlarında, tedavi edilmeyen FAP olgularında KRK gelişme oranı %90'ın üzerindedir. Polipler küçük (genellikle <5 mm), sesil ve yuvarlak özelliktedir. Bu poliplerin çoğu tübüler adenom, daha az kısmı villöz ve tübülovillöz adenomdur. Ayrıca “flat” veya deprese adenomlar da sık görülür. Bununla birlikte, FAP hastalarının arka plan kolorektal mukozasının incelenmesi tipik olarak, tekli displastik kriptler (unikriptal adenomlar) dahil olmak üzere birçok mikroskobik adenom (mikroadenomlar) gösterir. Unikriptal adenomun bulunması neredeyse FAP' için patognomoniktir. FAP'ta görülen adenomlar ve karsinomlar sporadik olanlarla histopatolojik olarak aynıdır.

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

(papiller, cribriform-moruler varyantı), hepatoblastomlar, epidermoid kistler ve osteomalar dahil çeşitli ekstra-intestinal belirtiler geliştirebilir tümörler,.

FAP Varyantları:

Gardner Sendromu; APC mutasyonu sonucu oluşan, epidermoid kist, osteomalar, diş anomalileri, desmoid tümörler ve gastrointestinal poliplerle karakterli FAP varyantıdır

Turcot Sendromu; İntestinal polipler ve beyin tümörlerinin birlikte görülmesi ile karakterlidir.

Diğer Polipozis Sendromları:

MUTYH-ilişkili polipozis (MAP); 2002 yılında tanımlanan diğer polipozis sendromlarından farklı olarak otozomal resesif kalıtmalı olan bu sendrom; farklı histolojik tipte ve değişken sayıda, malignite potansiyeli taşıyan kolorektal polipler ile karakterizedir. Polipler kolonda, ince barsak (sıklıkla duodenum) ve midede yerleşim gösterebilirler. Poliplerin çoğu konvansiyonel adenom iken, bir kısmı hiperplastik polip ve “sesil serrated” adenom/polipten oluşur. MAP olgularının %60’ında tanı kolorektal kanser ile konulmaktadır. 40-70 yaşlarında (ortalama 45 yaş), >10 polip ve biallelik MUTHY mutasyonu olması ile tanı konulmaktadır. MUTYH geni, 1p34.1’de bulunan oksidatif DNA hasarı onarımında yer alan bir DNA glikosilazıdır.

Juvenil polipozis (JPS); otozomal dominant kalıtım bulunduran, nadir görülen kolon, mide ve ince barsakta multipl juvenil poliplerle karakterize ailesel bir kanser sendromudur. WHO tanısal kriterleri arasında kolorektumda 4 veya 5 adet juvenil polip bulunması veya gastrointestinal sistem boyunca juvenil poliplerin bulunması veya juvenil polipozis aile hikayesi olanlarda juvenil poliplerin bulunması yer almaktadır. İlk 2 dekatta gelişir. Juvenil polipozis sendromlu hastaların %11-15’inde konjenital anomaliler (kalp, santral sinir sistemi, yumuşak doku, gastrointestinal ve ürogenital sistem ile ilişkili) görülebilir [48]. Juvenil polipler makroskopik olarak genellikle saplıdır; ancak midede sesil görünümde de olabilir. 5 cm uzun çapa kadar ulaşabilirler ve multilobe görünümündedirler. Mikroskopik olarak yüzeyi erode görünümde, inflamatuvar hücrelerin yer aldığı ödemli stroma içeren, reaktif epitelle döşeli kistleşmiş

dilate glandlar yer alır. Primer etki epitelden ziyade stromal da olsa nihayetinde üstteki epitelde neoplastik dönüşüm olabilir. Diğer yandan juvenil polipler gerçek hamartomlar olarak da kabul edilir. Olguların %50-60'ında juvenil polipozise SMAD4 veya BMPR1A “germline” mutasyonu neden olmaktadır [49]. SMAD4 mutasyonları, BMPR1A mutasyonu olan hastalara göre daha fazla kolonik adenom ve karsinom insidansı ve daha sık üst gastrointestinal polip ve mide kanseri içeren daha agresif bir gastrointestinal fenotip ile ilişkilidir [50-52]. Ayrıca, kombine JPS sendromu ve kalıtsal hemorajik telenjiyektazi (Osler-Weber-Rendu sendromu) SMAD4'teki germline mutasyonları ile ilişkilidir [53]. Yakın tarihli bir kanser riski analizi, JPS'da kolorektal kanser için toplam yaşam boyu riskini %39 olduğunu göstermiştir [54]. Ek olarak, literatürde JPS'de birkaç mide, duodenal ve pankreas kanseri olgusu tanımlanmıştır, ancak bu maligniteler için resmi bir risk analizi yoktur [54]. Juvenil polipozis sendromlu olgularda tipik olarak kolon kanseri 35-45 yaşları arasında, üst gastrointestinal sistem kanseri 21-73 yaşları arasında geliştiği bildirilmektedir [48].

Peutz-Jeghers sendrom (PJS); nadir görülen, tipik pigmentli perioral maküller, hastaların %90'ında mevcut olan bukkal mukozadaki pigmentli lekeler ve baskın olarak gastrointestinal sistemde ve nadiren 20'den daha fazla sayıda hamartomatöz polip ile karakterize otozomal dominant kalıtım bulunduran bir sendromdur. Polipler bazen mevcut olmayabilir. Poliplerin boyutları birkaç milimetre ile 7 cm arasında değişir, makroskopik olarak lobüle görünümündedir. Mikroskopik olarak santral korda yer alan düz kasın ağaç benzeri dallanması ve bunu normal görünümde mukozanın örtmesi tanısal özelliktedir. Hastaların çoğunda çoğunlukla gastrointestinal polipler ince bağırsakta bulunmakla birlikte gastrointestinal sistemin herhangi bir bölgesinde gelişebilir. Ayrıca mide ve kalın bağırsakta da bulunabilirler [55]. Çoğu hasta tekrarlayan polip kaynaklı barsak tıkanıklığı ve kanama bölümlerinin karakteristik bir klinik seyrine sahiptir. Polipozisin yanı sıra, PJS hastalarında gastrointestinal ve ekstra gastrointestinal malignite riski de önemli derecede artmaktadır. PJS'li olgular over, uterin serviks, testis, pankreas ve meme kanserlerinde artmış riske sahiptirler. Tanı kriterleri arasında 3 veya daha fazla histolojik olarak doğrulanmış Peutz-Jeghers polibinin bulunması veya aile öyküsünde PJS olan bir olguda, herhangi bir sayıda Peutz-Jeghers polibinin olması ya da aile öyküsünde PJS olan bir olguda, karakteristik, belirgin mukokutanöz pigmentasyonun olması veya

karakteristik mukokutanöz pigmentasyon ve herhangi bir sayıda Peutz-Jeghers polibinin bulunması yer almaktadır [48]. PJS olgularının bir kısmında 19p13.3 bölgesinde yer alan LKB1/STK11 geninde “germline” mutasyon saptanmaktadır [56]. PJS ilişkili kanserlerin daha agresif olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır.

PTEN-hamartoma tümör sendromu; 10q23 kromozomunda (PTEN) bulunan tümör baskılayıcı fosfataz ve tensin homologundaki germline mutasyonlarının neden olduğu otozomal dominant kalıtım bulunduran klinik sendromlar için kullanılan terimdir. Bu terim Cowden sendromunu (CS) ve nadir görülen Bannayan-Riley-Ruvalcaba (BRRS), PTEN ile ilişkili Proteus sendromu (PS) ve Proteus benzeri sendromu içerir. PTEN hamartoma tümör sendromu hastalarının çoklu organ sistemlerinde hamartomlar geliştirdikleri ve memenin karsinomları, tiroid, endometrium, böbrek ve muhtemelen melanomları içeren malignite riskinin arttığı söylenmektedir [57]. Yaklaşık hastaların %95'i tipik olarak karışık tipte bir polipozis geliştirir ve hiperplastik, adenomatöz, hamartomatöz, ganglionöromatöz ve inflamatuvar tip polipleri içerebilir. Kolonik tutulum tipik olarak görülür, ortalama kolorektal kanser tanısı yaşı 47, KRK prevalansı yaklaşık %14 olacak şekilde KRK riskinde artış görülür [58]. Tanı genellikle 3. dekatta konur. Hamartomatöz polipler mide, duodenum, ince barsak ve kolonda gelişebilir. Mikroskopik olarak muskularis mukoza ile devamlılık halindeki düz kas lifleri, distorsiyone glandlar, lipomatöz ve ganglionöromatöz lezyonlar ve lenfoid hiperplazi izlenebilmektedir. Cowden sendromlu olguların %85'inde 10q23.3 bölgesinde yer alan PTEN geninde “germline” mutasyon izlenir [48].

2.2.2.5. Kronik inflamasyon

Crohn hastalığı (CH) ve Ülseratif kolit (ÜK) kronik ve ataklarla seyreden idiopatik inflamatuvar barsak hastalıklarıdır. Günümüzde CH ve ÜK'te kanser gelişim patogenezi henüz kesinlik kazanmamıştır. Kronik inflamasyonun oluşturduğu moleküler ve hücresel değişimler kanser gelişiminde rol almaktadır [48]. İnflamatuvar barsak hastalığı (IBH) ile kolorektal kanser (KRK) arasındaki ilişki 1925'ten beri bilinmektedir ve hala IBH'deki ölümlerin %10-15'i kanser nedenlidir. IBH ile ilişkili KRK, sporadik KRK'dan daha genç yaşta hastaları etkiler. Sporadik KRK ve IBH

ilişkili KRK'da prognoz benzer olup, sağ kalım 5 yılda yaklaşık %50' dir. Risk altındaki hastaları belirlemek ve bu hastalar için uygun sürveyans uygulamak, İBH'da kanser riskini yönetmek için çok önemlidir. Sonuç olarak ÜK için onaylanmış risk faktörleri splenik fleksura üstünü de içeren pankolit varlığı, “backwash ileitis” varlığı, ailede KRK, hastalığın genç yaşta başlaması, hastalığın süresi (>8yıl), sürekli aktif hastalık, hastalığın şiddeti, eşlik eden Primer Sklerozan Kolanjit varlığıdır. CH'da KRK gelişiminde risk faktörleri; ÜK'te tespit edilen risk faktörlerine ek olarak kolon striktürleri, bypass yapılan segmentin ve fistüllerin bulunmasıdır [59]. Kanıta dayalı kılavuzlar, tanıdan 8 ila 10 yıl sonra kolit hastaları için sürveyans kolonoskopisini, risk faktörleri varlığında önermektedir [60-62].

CH'da KRK gelişme riski ÜK'li hastalara oranla düşüktür. İleri yaş, uzun süreli hastalık ve kolonda yaygın tutulum KRK ve displazi görülmesinde etkilidir [59]. Crohn kolitinde %4-16 oranında striktür gelişimi olabilir ve bu alanlarda kanser gelişiminin 10 kat arttığı bildirilmektedir. Sporadik kolon karsinogenezinde rol alan kromozomal instabilite ve mikrosatellit instabilite yollarının kolit kaynaklı karsinogenezde de benzer olduğu düşünülmektedir. Epigenetik faktörlerde burada rol oynamaktadır. Ancak sporadik KRK'de erken görülen APC gen kaybı İBH'da daha geç, p53 mutasyonu ise daha erken ve displazi içermeyen mukozada görülmektedir [63].

İBH'da displazinin saptanması hastaların izleminde önemlidir; çünkü displazi ilişkili lezyon veya kitle (dysplasia-associated lesion or mass--DALM); inflame alanlar arasında odaklar halinde, plak veya polipoid lezyon şeklinde olabilir. DALM, kuvvetle karsinom varlığını düşündürür ve bu nedenle kolektomi için endikasyon oluşturmaktadır.

2.2.2.6. Diğer faktörler

Kolorektal adenom veya karsinom öyküsünün bulunması, diyabet hastalığı, terapötik pelvik radyoterapi, KRK için risk faktörleri arasında yer almaktadır [64].

2.3. KOLOREKTAL KARSİNOGENEZ

Kolorektal karsinomun patogenezi heterojendir ve genetik ve epigenetik olaylar tarafından başlatılan karmaşık çok aşamalı moleküler yolları içerir. Kolorektal karsinomun moleküler sınıflandırması, prognostik, prediktif markerların değerlendirilmesinde temel sağlar. Amaç, hasta yönetimi için moleküler testlerin kesin, verimli ve doğru uygulanmasıdır [65]. Kolorektal karsinogenez; normal hücrenin malign hücreye dönüşümünde onkogenlerin aktivasyonu, tümör supresör genlerinin kaybı sonucu oluşan bir dizi genetik ve epigenetik değişikliklerin rol aldığı çok basamaklı bir süreçtir. Genetik ve epigenetik değişiklikler, hücre metabolizma, proliferasyon, diferansiyasyon, yaşam ve apoptoz için gerekli olan sinyal iletiminin bozulmasına yol açar. Genomik instabilite, normal hücrenin malign hücreye dönüşüm sürecinin temelidir.

2.3.1. Geleneksel Vogelstein Yolağı ve APC Gen Yolağı

Geleneksel Vogelstein modeli klasik adenoma-karsinoma dizisini tanımlar ve sporadik kolon tümörlerinin yaklaşık %80'ini oluşturur. Patogenez, neoplastik sürecin başlarında APC geninin mutasyonunu içerir [66].

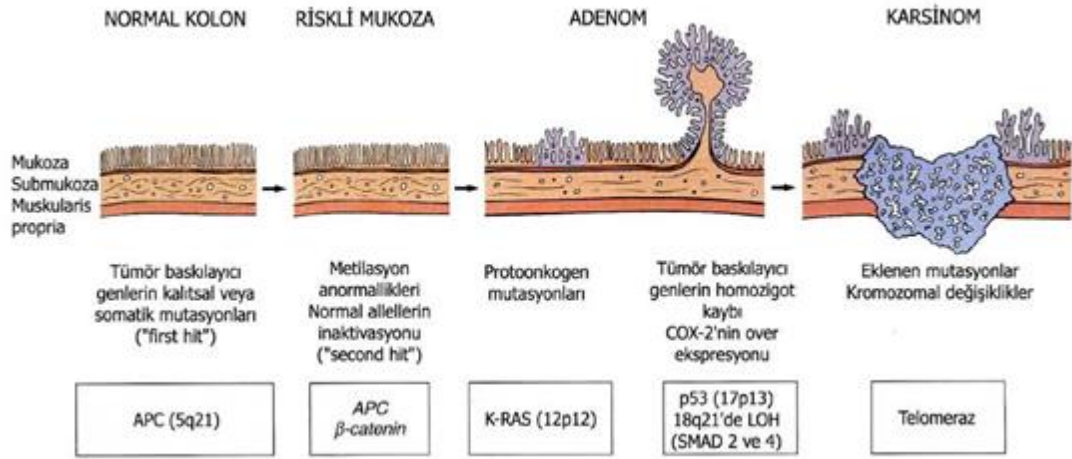
APC geni: 5. kromozomun uzun (q) kolu 21 ve 22 pozisyonları arasındaki bulunan bir tümör baskılayıcı gendir Hücre bölünmesi döngüsünün düzenlenmesinde anahtar bir rol oynar ve WNT / B-katenin sinyal yolunu düzenler. APC fonksiyonunun kaybı ile b-kateninin birikimi ve MYC ve siklin D1 genlerinin transkripsiyonunu hücrelerin çoğalmasını artırır. APC geninde 700'den fazla mutasyon, hem klasik hem de zayıflatılmış tipler olan Familial adenomatozis polipozisde (FAP) tanımlanmıştır. Bu bağlamda FAP kalıtsal bir APC mutasyonu ile hücre büyümesini baskılayamayan anormal derecede kısa nonfonksiyonel bir protein üretimi sonucu polip oluşumuna ve ardından ilerlemesine ve kansere yol açan bir sendromdur. Adenomların gelişimi için APC geninin her iki kopyası, mutasyonla veya epigenetik olaylarla fonksiyonel olarak inaktive edilmelidir; adenomlardaki ikinci alel, bir kayıp veya benzer bir mutasyona sahiptir; oysa APC'nin homozigot *delesyonları* nadirdir veya yoktur. Sporadik

kolorektal tümörlerde, mutasyon APC geninde alelik kaybına sahip bir mutasyon küme bölgesinde veya bu bölgenin dışında olabilir [65, 67].

Neoplastik ilerleme, aşağıdakilerin katılımıyla ek mutasyonlar ve kromozomal instabilite ile ilişkilidir:

- KRAS, büyümeyi artıran ve apoptozisi önleyen bir onkogendir.
- SMAD2 ve SMAD4 (DPC4), transforme büyüme faktörü-b sinyallerinin efektörleri olan ve sınırlandırılmamış hücre büyümesine izin veren tümör baskılayıcı genlerdir
- DCC, 18q2.3'te bulunan bir tümör baskılayıcı gendir.
- P53, KRK'da %7- 80 oranında mutant olan bir tümör süpresör gendir.
- Telomeraz: Lezyonlar ilerledikçe seviyesi artar.

Kromozomal instabilitenin diğer nedenleri heterojen olabilir ve birçok gen saptanmıştır. Bunlar arasında mitoz kontrol aşamalarında görev alan pek çok proteinleri kodlayan genler (hRod, hZwilch, hZw10, Ding, Bub R1, Sentromer ilişkili protein E (CENP-E), and MAD), sentrozom ilişkili kinazlar (Aurora Kinaz- AURK) ve Polo benzeri (Plk)), APC, TP53'ü kodlayan genlerdeki mutasyonlar yer almaktadır [69, 70]. Aurora A (AURKA) gen ürünlerinin, sentrozom fonksiyonu ve duplikasyonunda, hücrenin mitoz girmesinde ve kutuplaşma evrelerinde rol aldığı saptanmıştır. [71]. AURKA aşırı ekspresyonu, sentrozom amplifikasyonu, mitoz arresti ve multinükleasyona neden olur. Bu kinazlar ayrıca kromozomal instabilite derecesi ile ilişkilidir ve KRK'ların %73'ünde aşırı eksprese edilen ve zayıf prognoz ile ilişkili Plk'i aktive eder. Benzer şekilde, Aurora-B histon modifikasyonunu, kromozom ayrışmasını ve sitokinezini düzenler. Aurora-B ayrıca aşırı ekspresyonu ileri evre tümörlerle ilişkilidir. Aurora-C'nin aşırı ekspresyonu, tümörögenezise yol açan mitotik kontrol noktasının aktivasyonunu önler [72]. Kolorektal tümörlerdeki CIN derecesi ile doğru orantılı olarak AURKA geninin amplifiye olduğu saptanmıştır.



Şekil 2. KRK da adenom-karsinom sekansında izlenen moleküler değişiklikler [68]

BUB “budding uninhibited by benzimidazoles” gen ürünlerinin, kardeş kromatinlerin ayrılmasının kontrolünde denetleme sensörlerini ve sinyal dönüştürücülerini yönettikleri bildirilmektedir [71]. Bu genin aktivasyonu hücre siklusunu durdurmaktadır ve bu gende oluşan somatik mutasyon kromozomal instabiliteye neden olmaktadır.

Fearon’ a göre, klasik CIN yolu, adenomatous poliposis koli (APC) içindeki mutasyonların kazanılmasıyla başlar, bunu onkogen KRAS'ın mutasyonel aktivasyonu ve tümör baskılayıcı gen, TP53'ün etkisizleştirilmesi takip eder [73]. Aneuploidi ve heterozigosite (LOH) kaybı, sporadik tümörlerin çoğunda etkili olmakla birlikte (%85), aynı zamanda APC geninin [74], germline mutasyonları ile ilişkili ailesel adenomatoz poliposis olgularını da içeren CIN tümörlerinde ana aktörlerdir. CIMP yolu, en önemlisi MGMT ve MLH1 olmak üzere çeşitli tümör baskılayıcı genlerin promoter hipermetilasyonu ile karakterize edilir. Bu hipermetilasyon genellikle BRAF mutasyonu ve mikrosatellit instabilitesi ile ilişkilidir [75]. MSI yolu, kısa tekrarlanan dizilerinde oluşan genetik değişikliklerin inaktivasyonunu içerir. Bu MMR genlerinin aktivasyonu, DNA uyumsuzluğu onarımı (MMR) genlerinde CRC'lerde meydana gelir ve ailevi Lynch sendromunda (LS) sporadik CRC olgularının ~%15'inde de görülen bir özelliktir. Ek olarak, MMR genlerinin hipermetilasyonu MSI'ye yol açabilir. Bu mekanizma genellikle CIMP yolu5 ile ilişkilidir. MSI tümörleri sıklıkla proksimal kolon ve az diferansiyasyon ile ilişkilidir, ancak daha iyi prognoz gösterirler [76]. Geleneksel Vogelstein modeli klasik adenoma-karsinoma dizisini tanımlar ve sporadik

kolon tümörlerinin yaklaşık %80'ini oluşturur. Patogenez, neoplastik sürecin başlarında APC geninin mutasyonunu içerir [66].

Kromozomal instabilite arayolunun morfolojik karşılığı ise adenoma-karsinoma sekansıdır. Fearon ve Vogelstein'in tanımladığı bu modele göre erken dönemde, adenom gelişiminde APC tümör supresör gen mutasyonu gözlenirken, daha ileri dönemde KRAS ve maligniteye geçişte p53 ve 18q delesyonu saptanmaktadır [73]

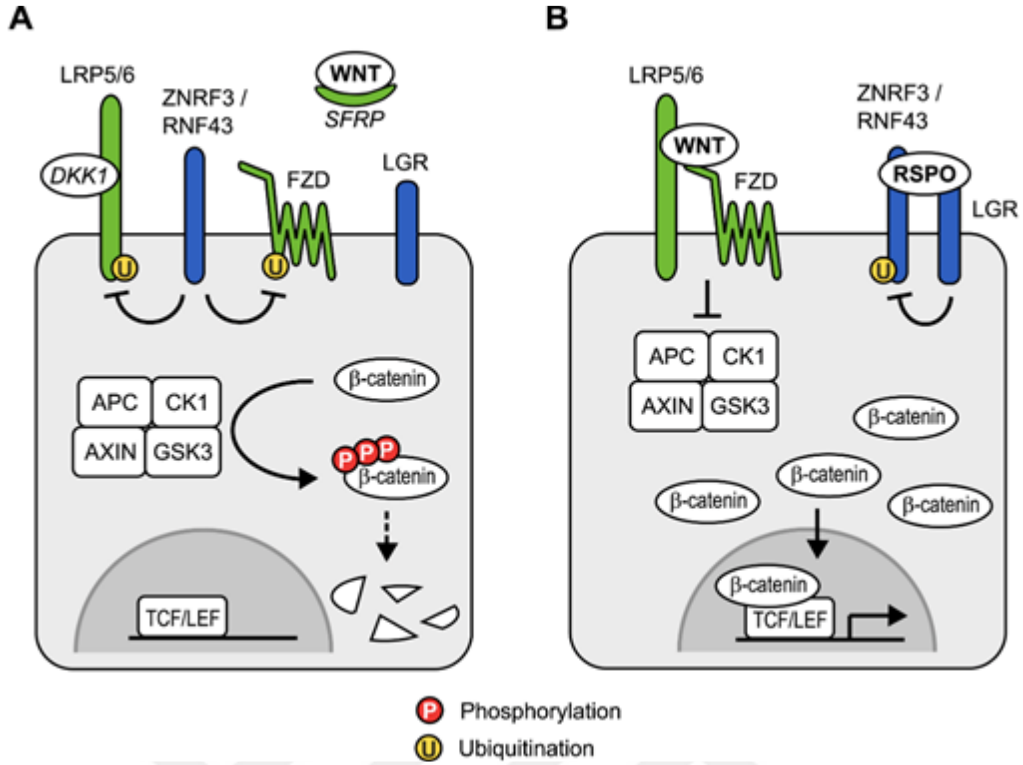
CIN ara yolunda 4 önemli sinyal ileti yolağı vardır: WNT, p53, K-RAS, TGFβ/SMAD.

WNT yolağı: WNT yolu, intestinal epitelyal yenilemenin desteklenmesinde merkezi bir rol oynar [77]. APC, tob-katenin'i bağlar ve bozulmasını indükler, böylece b-kateninin negatif regülatörü olarak görev yapar [78]. 5q21 lokusunda yerleşim bulunduran APC geninde oluşan mutasyon WNT sinyalinin aktivasyonuna neden olur ve sitoplazmik b-katenin birikimi ile sonuçlanır, nükleer translokasyona ve b-katenin T hücre faktörü (TCF) / lenfoid arttırıcı faktöre (LEF) bağlanmasına yol açar. Wnt hedef genleri, hücre döngüsü ilerlemesinin düzenleyicileri (c-myc ve siklin D1), hücre çoğalması, anjiyogenez ve apoptoz da dahil olmak üzere çoklu hücre fonksiyonları etkilemektedir [78] Bu nedenle, Wnt sinyal yolunun CRC'nin hem başlatılması hem de ilerlemesi için önemli olduğu belirtilmektedir. Diğer sinyal yolları bu yolla birleştiğinde ve etkileşime girdiğinde, "son ortak yolu" oluştururlar. APC fonksiyonunun kaybı, Wnt aktivasyonu için tek tetikleyici değildir; alternatifler arasında b-katenini bozulmaya (tüm CRC'nin %5'inden az bulunur) dirençli hale getiren b-katenin mutasyonları, AXIN1 ve AXIN2'deki mutasyonlar (b-katenin yıkımı için önemli olan) veya transkripsiyon faktörü TCF-4'teki mutasyonlar bulunur [79]. MCC geni, 5q21'de bulunur. Kolorektal kanserlerde yaygın olarak promotor hipermetilasyonu ile susturulur. [80, 81] MCC, bir fare modelinde kolorektal karsinogenezin "sürücü genlerinden" biri olarak tanımlanmıştır [82]. DNA hasarına cevaben hücre döngüsü durmasını tetikleyen bir hücre döngüsü düzenleyici proteindir [83]. Ek olarak, son zamanlarda yapılan bir araştırmada, MCC'nin APC'den bağımsız olarak Wnt / b-katenin sinyal iletimini de inhibe edebileceğini ileri sürülmektedir

FAP'ın oluşmasında APC genindeki “germline” mutasyon sorumlu tutulmaktadır. Somatik APC mutasyonları ise displastik aberran kript odaklarında %5, sporadik adenomlarda %30-70, sporadik kolorektal tümörlerde %72 oranında saptanmaktadır [71]. APC genindeki somatik mutasyonlar kodon 1286-1513 arasında bulunmaktadır. APC gen inaktivasyonunun alternatif mekanizması ise APC promoter bölgesinin hipermetilasyonudur ve bu yol primer kolorektal kanserlerde ve adenomlarda yaklaşık %18 oranında bildirilmiştir [71].

P53 Mutasyonu: p53 geni 17. kromozomun kısa kolunda yerleşimli bir tümör supresör gendir. Tüm kolorektal kanserlerin yaklaşık yarısı, p53 (TP53) gen mutasyonları gösterir, distal kolon ve rektal tümörlerde daha yüksek frekanslarda bulunurken; proksimal kolon tümörlerinde, mikrosatellit İnstabilite veya metilatör fenotiplerinde daha az oranda görülür. Bu gendeki değişikliklerin, sadece cerrahi ile tedavi edilen kolorektal kanserli hastalar için prognostik değerinin çok az olduğu veya hiç olmadığı; ancak kemoterapi ile tedavi edilen hastalar için daha kötü hayatta kalma ile ilişkili görülmüştür.

Kolorektal karsinogeneizde p53 mutasyonu genellikle adenomdan kanser gelişim basamağında oluşmaktadır. Adenomlarda %4-26, invaziv tümör bulunduran adenomlarda %50, KRK'de %50-75 oranında p53 mutasyonu saptandığı belirtilmektedir [71]. Buda tümör supresör gen p53'ü içeren bu segmentin kaybının kolorektal karsinogeneiz sürecinde geç bir olay olduğunu düşündürür [66]. Sporadik KRK'de %40-50 oranında p53 mutasyonu bildirilmiştir [85]. p53 mutasyonu yaklaşık %80 oranında “missense” mutasyon (GC-AT) şeklindedir. Bu mutasyonlar temel olarak beş kodonda (175, 245, 248, 273, 282) oluşmaktadır [71].



Şekil 3. Kanonik Wnt / β -catenin sinyal yolunun şematik gösterimi [84]

Genom muhafızı” olarak adlandırılan p53, spesifik bir DNA dizisine bağlanan ve hücre döngüsü durması, apoptozda yer alan bir dizi geni aktive eden, tümör baskılayıcı aktiviteye sahip bir transkripsiyon faktörüdür. P21 hücre siklus inhibitörü; GADD45, 14-3-3 (G2 duraklamasında görevli); BAX, FAS (APO1), PIG3 ve KILLER (DR5) (kaspaz aktivasyonu ve apoptozda görevli) p53’ün hedef genleridir [71] Ek olarak, genomik stabilitenin sürdürülmesi için önemli olan bir dizi transkripsiyondan bağımsız hücresel aktiviteye sahiptir [86]. Hücre siklusunda G1-S arasında oluşabilecek DNA hasarında p53 ekspresyonu artar ve p53 DNA’ya bağlanarak birçok genin transkripsiyonunu uyarır. Hücre siklusunun durdurulmasıyla p53 DNA onarımına yardımcı proteinlerin ekspresyonunu arttırır; eğer hasar onarılamadıysa hücrenin apoptoz ile ortadan kalkmasını sağlar.

K-RAS Yolağı: K-ras proto-onkogeni, KRK’un %30-60’ında ve büyük adenomlarda mutasyona uğrar [87]. K-RAS gen ürünü, 21 kDa ağırlığında, ekstrasellüler sinyallere cevapla aktive olan, sinyal iletimi ile ilişkili membran bağlı proto-onkogendir. RAS aktivasyonu; hücre büyümesi, diferansiyasyon, sağ kalım,

apoptoz, hücre iskeleti organizasyonu, hücre hareketliliği, çoğalma ve inflamasyonu kontrol eden birçok hücresel yolağı etkilemektedir [71].

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

RAS-GTP, RAF'ı aktive eder, RAF ise MEK-ERK yolağını aktifleştirir. Bunların sonucunda hücre proliferasyonu uyarılır. RAF ailesinden olan BRAF mutasyonu insan tümörlerinin %8'inde, kolorektal tümörlerin %5-12'sinde saptandığı belirtilmiştir [88] RAS-GTP, katalitik alt birim olan PI3K'a bağlanmaktadır. PI3K yolağının hedefi, hücre büyümesi, proliferasyonu ve bazı proapoptotik proteinlerin inaktivasyonu ile sağ kalımı düzenleyen AKT/PKB proteinin uyarılmasını kapsar. PI3K, KRK'lerin ortalama %20'sinde mutant olarak saptanmıştır. Bu mutasyonlar onkogenik olan ekzon 9 (E542K,E545K) ve ekzon 20 (H1047R)'de lokalizedir [71].

RAS, inflamatuvar, immün cevapları ve hücresel yaşamı düzenleyen nükleer faktör κB (NF- κB)'e bağlanmaktadır. Bu yolda mutasyon oluştuğunda antiapoptotik sinyal oluşturmaktadır. K-RAS'ın KRK ve büyük adenomların %30-60'ında mutant olduğu saptanmıştır [89]. Ekzon 2'nin 12 ve 13. kodonları, ekzon 3'ün 61. kodonunda oluşan nokta mutasyonu guanozin trifosfata bağlı enzimin kilitlemesine yol açarak RAS'ın aktive formda kalmasına ve sinyal iletiminin akışının devamlılığına neden olmaktadır. Non-displastik veya hiperplastik aberran kript odağında yaklaşık %60-95 oranında K-RAS mutasyonu saptanmış ve bu lezyonların adenom veya kanser öncüsü olabileceği savunulmuştur [90]

TGF β /SMAD Yolağı: Kromozom 18q'da yerleşim bulunduran SMAD2, SMAD4, DCC'nin içinde olduğu tümör supresör genleri barındırır. 18q heterozigote kaybı KRK'de %50-70 oranında bildirilmektedir [91]. KRK'lerde %65 oranında mutasyon veya promoter hipermetilasyonuna bağlı ekspresyonda azalma saptanmıştır [89]. DCC; 170-190 kDa ağırlığında, immünglobulin ailesinden proteini kodlar ve bu protein hücre adezyonu, hücre göçünde rol oynamaktadır. Ek olarak DCC ligandının

yokluğunda apoptozu indükler. SMAD2 ve SMAD4, transforming growth factor β (TGF β) yolağında intrasellüler mediatördür. TGF β yolağı ise hücre büyümesi, diferansiyasyonu ve apoptozun düzenlenmesi ile ilişkilidir [71]. SMAD2 ve SMAD4 mutasyonu kolon kanserlerinde yaklaşık %10 oranında saptandığı bildirilmektedir.

2.3.2. Mikrosatellit İnstabilite (MSI)

Sporadik KRK'lerin çoğu kromozomal instabilite yolağını takip ederken; HNPCC olgularının %90'ında, sporadik KRK'ların ise yaklaşık %15'inde gelişen tümörlerin mikrosatellit instabilitesi yolu üzerinden geliştiği bildirilmektedir. Mikrosatellitler, genom içinde dağılmış tekrar eden, 1-5 baz uzunluğunda, kısa DNA baz segmentleridir. Daha çok kodlanmayan DNA bölgelerinde bulunurlar. Tekrarlayan birimlerin bölünme sırasında delesyonu veya insersiyonu sonucunda segment uzunluğunun değişebilmekte ve ortaya çıkan hatalar normal koşullarda DNA "mismatch" onarım genleri (MMR) tarafından düzeltilmektedir. Mikrosatellit İnstabilitesi (MSI) bazı hücrelerin (kanser hücreleri gibi) DNA'larında görünen, bu hücrelerdeki mikrosatellitlerin aynı bireyin normal hücrelerinde var olan DNA'daki tekrarlarından farklılık gösterdiği durumdur. Mekanizmasında DNA "mismatch" onarım sisteminde defekt olması sonucunda kodlanan genin egzonunda oluşan tekrarlayan nükleotid dizileri tamir edilememekte, "frame-shift" mutasyonlar meydana gelmekte ve bunun sonucunda mikrosatellit instabilitesi (MSI) gelişmektedir.

DNA MMR genlerinde oluşan mutasyon sonucunda hata tamir mekanizmaları etkilenir ve tamir gerçekleşemez. Hata oluşan bölgede tekrarlayan nükleotid dizileri (mikrosatellit) oluşur, bunun sonucunda da çerçeve kayması mutasyonları meydana gelir ve mikrosatellit instabilitesi gelişir. Bu özellikleri ile MMR proteinleri immünohistokimyasal olarak değerlendirilebilmekte ve kayıpları durumunda MSI lehinde yorumlanabilmektedir. MSI değerlendirmesinde 1998 yılında referans bir panel belirlenmiştir [92]. Bu panelde 2 mononükleotid tekrarı (BAT25, BAT26), 3 dinükleotid tekrarı (D5S346, D2S123, D17S250) bulunmaktadır. Tümörde değerlendirilen 5 lokustan 2 ve daha fazlasında instabilite saptanması MSI-H ("high-level microsatellite instability"), bir lokusta instabilite saptanması MSI-L ("low-level

microsatellite instability”) ve herhangi bir lokusta instabilite saptanmaması MSS (“microsatellite stable”) olarak adlandırılmaktadır.

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

Epigenetik, DNA sekansını değiştirmeyip DNA, protein ve RNA’ların fonksiyonunun ve regülasyonunun değişimi ile sonuçlanan, mitoz ve/veya mayoz bölünme ile kalıtılabilen gen fonksiyonundaki değişiklikler olarak tanımlanır. Gen ifadesinde görülen bu değişiklikler, DNA’nın seçici olarak, farklı epigenetik durumlarda farklı kromatin yapılarına paketlenmesiyle meydana gelmektedir. Epigenetik fenomenin üzerinde en çok çalışma yapılmış olan tipleri DNA metillenmesi ve histon modifikasyonları, non-coding RNAların regülasyonunu içerir. Epigenetik süreçlerde, DNA sekansında değişiklikler olmaz, aksine epigenetik değişiklikler genetik bilgide değişiklik olmaksızın potansiyel olarak geri dönüşlü olan kendiliğinden yayılan moleküler imzalar [93]. Epigenetik sistemlere artan ilgi ile kanser gibi karmaşık hastalıklar hakkındaki anlayışımıza bir bakış açısı getireceği umulmaktadır.

CpG adaları, çok sayıda CpG (sitozin-fosfoguanin) dinükleotidlerinden oluşmakta, çoğunlukla genin promoter bölgesinde yer almaktadır. İnsan genlerinin nerdeyse yarısı, genin 5’ucunda promoter bölgelerinde CpG adaları bulundurmaktadır [94]. Promoter bölgelerde izlenen CpG adaları normal aktif bir gende metillenmemiştir. CpG adalarının hipermetilasyonu durumunda aberran DNA metilasyonu, tümör baskılayıcı genlerde transkripsiyonun baskılanması oluşur. Örneğin, yanlış eşleşme onarım geni MLH1’in promoter metilasyonu ile etkisizleştirilmesi, sporadik mikrosatellit instabil kolon kanserlerinde MSI’nın moleküler temelidir [95]. Bu, CpG adalarının yoğun hipermetilasyonu ile ilişkili epigenetik susturma yoluyla tümör değiştirme fenomeni ile bunların histon yapısındaki modifikasyonlarla kompleks etkileşimleri, tümör baskılayıcı genlerde kayıp veya mutasyon yoluyla genetik olarak inaktivasyon için alternatif bir mekanizma oluşturur [96]. Bir tümörde yaygın CpG ada metilasyonunun bulunması CpG ada metilasyon fenotipi veya CIMP olarak adlandırılır. Her ne kadar promotör

CpG adalarının kanser genlerinde ve ayrıca baskıcı kromatinde anormal DNA metilasyonu tümörögenезis sırasında genin etkisizleştirilmesinde sıkça yer alsa da, CIMP'nin altındaki mekanizmalar yeterince anlaşılmamıştır. Hipermetilasyon kalıpları tümör tipine özgüdür ve bazı bölgelerin neden hipermetile hale geldiği bilinmemektedir; ancak, teknolojik gelişmelerin bir sonucu olarak insan genomunun haritalanması, epigenetik mekanizmalar hakkındaki anlayışımızı geliştirmiştir [97]. Belirli genlerin inaktivasyonu, klonal seçim ile sonuçlanan bir proliferasyon sağlayabilir [98]. Diğer bir olasılık ise DNA metilasyonu ile uzun aralıklı epigenetik susturmanın, kolorektal kanserde 1 Mb'lık kromozom bölgelerini kapsayabileceği ve tümörlerde sıklıkla gözlenen heterozigozite kaybına benzeyebileceğidir [99]. Büyük bir sporadik kolorektal kanser kohortunda, Wong ve ark. 3p22 kromozom bölgesinin uzun mesafeli epigenetik susturulması ile CIMP pozitif tümörler arasında üçlü bir ilişki olduğunu bildirmiştir [100].

Son bulgular, kolon kanserinde DNA metilasyon değişikliklerinin çoğunun, CpG adalarından 2 kb uzaklıktaki CpG ada kenarlarında meydana geldiğini göstermektedir. Hipermetile edilmiş CpG kenarları, ilişkili CpG adalarına daha yakın görünürken, hipometile edilmiş kenarlar kendi ilişkili adalarından daha uzakta görülür ve normal olmayan klonlara benzerler. Bu bulgular, dokuya özgü farklılaşmayı etkileyen epigenetik değişikliklerin, kansere neden olan baskın mekanizma olduğu, epigenetik bir progenitör kanser modeli ile tutarlıdır. Alternatif transkripsiyon, farklılaşma sırasındaki farklı DNA metilasyonunun bir fonksiyonu olabilir ve kanserde değişmiş metilasyonun rolü, spesifik promotör kullanımının düzenleyici kontrolünü bozmak olabilir [101]. Önceki çalışmalar, genlerin aktive edildiğinde heterokromatinden uzaklaştığı ve susturulduğunda heterokromatine yerleştiği genel bir modeli ortaya koymaktadır [102].

Araştırılan bir başka alan, hangi tümör baskılayıcı genlerin kanserde inaktivasyon için hedeflendiğinin altında yatan mekanizmaların anlaşılmasıdır. PRC1 proteininin, CBX7'nin diğer proteinlerle birlikte sürekli ekspresyonunun, progenitör benzeri bir embriyonik tümör hücresinde gen promotörlerini hedef aldığı ve bunun sonucunda yetişkin kanserin epigenetik özelliklerini (aberran CpG-ada metilasyonu dahil) modelleyen bir hücre popülasyonu ile sonuçlandığı gösterilmiştir [103].

DNA metilasyon biyobelirteçleri, teşhis ve prognostik araçlar olarak potansiyel klinik kullanıma sahiptir. CpG adalarının hipermetilasyonu, tümör biyopsilerinde ve diğer örneklerde kanser hücrelerinin biyobelirteçleri olarak kullanılabilir. DNA dizisindeki mutasyonlardan farklı olarak, CpG ada hipermetilasyonu gibi epigenetik değişiklikler, susturulmuş tümör baskılayıcı genleri “yeniden uyandırma” ile potansiyel olarak tersine çevrilebilir.

Yaşlandıkça, normal kolonik mukoza genlerinde bazı CpG adalarında metilasyon olduğu gösterilmiştir. Bu genlere Tip A genler denilmektedir. Kolorektal kanserde tümör spesifik promoter metilasyonu Tip C (kansere spesifik) genler ile ilişkili bulunmuştur. Bunlar arasında p14, p16, MLH1, MGMT, HPP1 genleri bulunmaktadır [104]. Ayrıca normal kolonik mukozada p16, MLH1, DAPK metilasyon düzeylerinin yaşlandıkça arttığı da gösterilmiştir.

Tablo 3. Kolorektal karsinomda tarif edilen çeşitli moleküler değişiklikler [106]

KOLOREKTAL KARSİNOMDA YAYGIN OLARAK GÖRÜLEN GENETİK VE EPİGENETİK DEĞİŞİKLİKLER		
TÜMÖR SÜPRESÖR GEN	ONKOGEN	DİĞER MOLEKÜLER ALTERASYONLAR
APC	BRAF	Kromozomal şinstabilite
ARID1A	ERBB2	CpG ada metilasyonu
CTNNB1 DCC	GNAS	Mikrosatellit instabilites
FAM123B FBXW7	IGF2	DNA yanlış eşleşme onarım genleri
PTEN	KRAS	SEPT9
RET	MYC	VIM, NDRG4, BMP3
SMAD4	NRAS	POLE/POLD1
TGFBR2	PIK3CA	
TP53	RSPO2/RSPO3 SOX9	
	TCF7L2	

Yapılan çalışmalar sonucunda CIMP değerlendirilmesinde 5 marker (CACNA1G, IGF2, NEUROG1, RUNX3, SOCS1) belirlenmiştir. Bunlardan en az 3’ünde metilasyon saptanması CIMP pozitif olarak değerlendirilmektedir CIMP

pozitif KKR'ler ayrı karakteristik özellikler bulundurmaktadır. Bu tümörler sıklıkla kadınlarda, ileri yaşlarda ve proksimal kolon yerleşimlidirler [89]. Histolojik olarak bu tümörler az differansiye, müsinöz veya taşlı yüzük hücre morfolojisindedir.

Alternatif olarak, tümör baskılayıcı genler, bir CpG bakımından zengin bir bölgenin veya CpG adasının metilasyonu ile susturulabilir. Villöz adenomlarında 8 GNAS mutasyonu bildirilmiştir [105].

2.3.4. Serrated Polip Yolağı

Serrated polip yolu, farklı morfolojik ve moleküler özelliklere sahip bir grup kolorektal neoplaziyi içerir. Kolorektal karsinomların %20 ila %30'u Serrated prekürsörlerden geliştiği düşünülmektedir [107]. Aberran kript odakları ve hiperplastik polipler en erken lezyonlarını oluşturur. Diğer serrated polipler, Sesil serrated adenoma/polip (SSA/P) ve Traditional serrated adenomayı (TSA) içerir [108]. BRAF mutasyonu, serrated adenoma/polipe ilerleyebilen mikroveziküler tip hiperplastik polipte görülen erken bir olay olarak tanımlanmıştır. SSA / P ve hiperplastik poliplerin farklı kanser riskleri, önerilen farklı sürveyanslar ve örtüşen histolojik özellikleri vardır [107, 109]. Hes1, Notch sinyal yolunun aşağı yönde bir hedefidir ve normal kolon epitel hücrelerinin çekirdeklerinde her yerde eksprese edildiği bulunmuştur. Hes1' in tamamen kaybı veya zayıf ekspresyonu SSA/P'nin çoğunda görülürken; hiperplastik poliplerde Hes1'in normal ekspresyonu izlenir. Bununla birlikte, SSA/P'deki displastik alanlarda Hes1'in sitoplazmik boyanması yanı sıra Tübüler adenoma ve TSA değişken ve karışık pozitif veya negatif boyama paternleri gösterebilir [110].

TSA birbirlerine eşlik etmeyen KRAS ve BRAF mutasyonlarına sahip, heterojen bir polip grubudur. TSA'ların moleküler analizi %10-46 KRAS, %29-90 BRAF ve tümörlerin %8'inde GNAS mutasyonlarını oldukça değişken frekanslarda gösterirler. SSA/P'den farklı olarak, TSA'da ANXA10'un yaygın ekspresyonu nadiren ortaya çıkar. BRAF mutant TSA'lar, KRAS mutasyonlu poliplere kıyasla 5 markerlı bir CpG ada panelinin daha yaygın olarak metilasyonunu bulundurmaktadır [111].

Genel olarak, TSA, CpG adası metilasyon fenotipi (CIMP) yüksek, CIMP düşük veya CIMP negatif olabilir. CIMP yüksekleri, sadece RUNX3 ve SOCS1'in metilasyonunu bulundurur ve BRAF mutasyonları ile ilişkilidir. CIMP-düşük tümörleri KRAS mutasyonları ile ilişkilidir ve NEUROG1 ile sınırlı sınırlı metilasyon paterni ortaya çıkarırlar Kore'de yapılan bir çalışmada KRAS mutasyonları ile yüksek dereceli displazi arasında güçlü bir ilişki olduğu bildirilmiştir [112].

TSA'dan kaynaklanan tümörler ağırlıklı olarak sol kolonda lokalize iken; SSA/P'ler sıklıkla sağ kolon yerleşimlidir. Wnt / CTNNB1 alterasyonları ve KRAS ve p53 mutasyonları, kolorektal karsinomun "Traditional adenom" yolağındaki yaygın genetik olaylardır. Bir çalışmada karakteristik genetik değişiklik olarak PTPRK-RSPO3 füzyonu da bildirilmiştir. Bu füzyonu taşıyan TSAlar, distal lokalizasyon, daha büyük boyut, belirgin ektopik kript odakları, yüksek dereceli komponent içermeye, kansere progresyon ve KRAS mutasyonlarının varlığı ile ilişkilendirilmiştir. Yarık benzeri çentikler daha az belirgindir ve hiperplastik polipler ve SSA / P ile ilişkileri nadirdir. RSPO aşırı ekspresyonu, Wnt yolağı gen mutasyonu ile karşılıklı olarak münhasırdır, ancak aktivasyonunda rol oynar [113]. ANXA10 proteini, SSA / P' nin çoğunda yüksek oranda eksprese edilir, ancak bunlarla ilişkili TSA' larda eksprese olmaz. 19. Displastik olmayan serrated poliplerin daha ileri neoplazilere ilerlemesi, CpG adası metilasyon seviyelerinin artmasıyla ilişkilidir ve bu da tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna yol açar.

Serrated yolaktan kaynaklanan karsinomlar: Bu yoldan kaynaklanan kanserler MLH1 in epigenetik susturulmasının sonucu olarak sıklıkla mikrosatellit instabilitesi gösterirler [108]. Bazı çalışmalarda yüksek dereceli displazi ve karsinomaya geçişin metilasyonla indüklenen p16'nın susturulması ile kolaylaştığı gösterilmiştir [114]. Serrated karsinomların patogenezindeki diğer ana yolak KRAS mutasyonu ile başlar. Karsinomlar mikrosatellit stabil (MSS) ve düşük CIMP'dir, ancak tümör baskılayıcı genlerinin kromozomal instabilitesi ve heterozigotluk kaybı göstermektedir. KRAS tümörlerin yaklaşık %40'ında saptanan kolon kanser gelişiminde en erken genetik mutasyonlardan biridir. BRAF mutasyonları ile birlikte, serrated morfolojili en erken saptanabilen lezyonlarda tespit edilmişlerdir. Aberrant kript odaklarının %18'inde, hiperplastik poliplerin %4-37'sinde, karışık poliplerin

%60'ında, TSA'ların %80'inde ve SSA/P lerde %10'a kadar rapor edilmiştir. KRAS mutasyonunun sağ kolon lokalizasyonu ile ilişkili olarak saptanmıştır. Mutasyon yaygın tümör histolojisi (müsinöz, taşlı yüzük hücreli, medüller), ektramural tümör yayılımı, peritümoral lenfositik yanıt, uzak metastaz varlığı ve tanı anında lenfovasküler invazyon olmaması ile anlamlı bir ilişki içindedir [75, 115-121].

Displazili SSA/P'ye progresyonda kritik olarak MLH1 ekspresyonunun kaybı ile ilişkili saptanmıştır. Displazi paternleri yakın zamanda yapılan bir çalışmada minimal deviasyon, serrated, adenomatoz ve NOS (spesifiye edilemeyen) olarak sınıflandırılmıştır. İmmün boyama kaybı atipik lezyonların doğasını çözmede ve sporadik adenomları SSA / P ile ilişkili displaziden ayırmada ve minimal deviasyon paternini destekleme aşamasında yardımcı olur. SSA / P'den kaynaklanan tümörler, ağırlıklı olarak sağ kolonda yerleşimli, mikrosatellit instabil, BRAF mutasyonu ve CpG ada hipermetilasyonu içeren (CIMP yüksek) formdadırlar [122]. Sıklıkla prekürsör lezyonları, eksik rezeksiyon ve hızlı progresyon nedeniyle aralıklı kolorektal karsinomlar olarak görülürler [121].

Serrated polipozis: Serrated polipozis, kalın bağırsakta birden fazla serrated polip oluşumu ile karakterize klinik olarak tanımlanmış bir sendromdur. Önemli sayıda hastada senkron veya meta-senkron tümör olabilir. Az sayıda konvansiyonel adenom bulunabilir. Serrated polipozisli kolorektal karsinoma riski artar. CpG adası mutator fenotipi ile birlikte BRAF mutasyonu serrated neoplaziler için bir moleküler markerdir. Serrated polipozis hastalarında bildirilen KRK insidansı %14-54 arasında değişmektedir. Geleneksel adenomların birlikte bulunması da karsinoma gelişme riskini artırır. Bununla birlikte, geleneksel adenomun bitişiğindeki karsinomlar, BRAF mutasyonu ile ilişkili değildir. Yanındaki TSA veya SSA/P bulunduran kolorektal karsinom, daha sık müsinöz diferansiyasyon, BRAF mutasyonu ve yanlış eşleşme onarımı (MMR) eksikliği gösterir. Distal lokalizasyondaki serrated karsinomlar genellikle BRAF / KRAS negatif ve MMR yeterlidirler. B-katenin aktivasyonu, KRK'da BRAF mutasyonu olan veya olmayan olgularda görülebilir. Serrated polipleri olan KRK hastalarındaki KRK'lar büyük oranda serrated neoplazi yolağı ile gelişmez ve traditional adenom yolu da dahil olmak üzere çeşitli moleküler fenotipler gösterir. Birkaç tümör, düşük seviyelerde CIMP, MSI, metilasyonla MGMT'nin

downregülasyonu ve sık KRAS mutasyonu göstermektedir. En az bir SSA/P'si olan bireylerde atipik konvansiyonel adenomlar SSAPlerle bazı morfolojik özellikleri paylaşır ve hepsi BRAF / KRAS negatiftir. Bu polipler muhtemelen çok sayıda KRK'un prekürsör lezyonu olabilir.

SSA/P'lerin %95'e kadarı bir BRAF mutasyonuna sahiptir ve KRK'un prekürsör lezyonlarıdır. Rezidüel SSA/P'lere sahip tümörler, V600E mutasyonunu barındırır. Serrated poliplere sahip hastalarda KRK, traditional adenom yollarının bir türevi vasıtasıyla, serrated olmayan poliplerden gelişebilir. Erken başlangıçlı çoklu serrated polip geliştirme eğilimi olan mukoza DNA metilasyonunda değişime sekonder hipermatür mukoza ile ilişkili olarak kabul edilir. Bu hastalar genel popülasyonla karşılaştırıldığında meta-senkron karsinom gelişme riski altındadır. Yüksek riskli KRK sendromlu hastalarda, serrated polipler görüldüğünde hastalara karsinom için yapılan rezeksiyon metron tümör riski nedeniyle daha geniş olmalı ve gelecekte olabilecek riskler nedeniyle kalan poliplerin kontrolü göz önünde bulundurulmalıdır. Sağ kolon lokalizasyonlu polipler için düşük polip saptama oranına veya 1 cm'den küçük poliplere rağmen serrated lezyonların displaziye ve karsinomlara ilerlemesi oldukça hızlıdır [107, 122, 123].

Sporadik yüksek frekanslı mikrosatellit instabil kolorektal karsinom:

MSI, tüm sporadik kolorektal karsinomların %10-15'inde görülür. Promoter hipermetilasyonuna ikincil olan MLH1 geninin bialelik transkripsiyonel susturulması, sporadik KRK'alarda normal yanlış eşleşme onarım fonksiyonunun kaybına yol açar. Malignite, serrated yolak boyunca prekürsör lezyon olarak SSAP üzerinden gelişir. Moleküler anormallik, genlerin promotör bölgesi içindeki C-G dinükleotit veya CpG adalarının birden fazla bölgesinin metilasyonunu ve daha sonra bu genlerin regülasyonunu içerir. CIMP olarak bilinir ve %40-50 olguda BRAF mutasyonu ile ilişkilidir [124]. Genetik instabilite, kromozomal seviyede (kromozomal instabilite) çalışabilir, tüm kromozomu, kromozom parçalarını veya replikasyon hatalarından kaynaklanan DNA dizilerini (yüksek frekanslı MSI) etkileyebilir. Bu kararsızlık biçimleri asla beraber görülmezler; bu nedenle kromozomal kararsızlığı olan KRK'lar mikrosatellit stabildir [125-127]. BRAF mutasyonlu kolorektal karsinom, kadın cinsiyet, proksimal tümör lokalizasyonu, müsinöz veya serrated adenokarsinom

histolojik tipinin varlığı ve tümör infiltrate eden lenfositlerin varlığı arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Yüksek frekanslı MSI tümörlerinin MSS tümörlerine göre daha iyi prognoz ile ilişkili olduğunu göstermiştir; ancak bu tümörler, adjuvan 5-florourasilden fayda görmez. CIMP-pozitif tümörleri olan hastalar, CIMP-negatif tümörleri ile karşılaştırıldığında, kemoterapiden önemli bir sağ kalım faydası görmektedirler. Yüksek frekanslı olmayan MSI tümörlerde CIMP daha kötü sağ kalım olacağını öngörmektedir [128].

Hereditör non polipozis kolorektal kanser / Lynch sendromu: Lynch sendromu, yüksek penetrasyonu olan kalıtsal otozomal dominant bir sendromdur. MMR proteinlerindeki mutasyonlar nedeniyle MSI'yi gösterir [129] DNA MMR geni, replikasyon sırasında yanlış eşleşme veya kayma olaylarından kaynaklanan uyuşmazlıkların onarımında rol oynar. 4 MMR geninin birindeki kalıtsal kusurlar, Hereditör non polipozis kolon kanseri (HNPCC) olgularının %80-90'ını oluşturur [130-132]. Bildirilen olguların %80'i MLH1 ve MSH2'deki mutasyonlara atfedilir [122]. Genetik kusurların çoğu nokta mutasyonları, inversiyon ve delesyonların bir sonucudur [133]. EPCAM genindeki delesyon, MSH2'nin epigenetik inaktivasyonuna neden olabilir. MSH2'de mutasyon olduğundan şüphelenilen olguların %20-25'inde germline mutasyon olmadan EPCAM/TACSTD1'de germline delesyon olabilir. Bu Lynch sendromlu hastaların yaklaşık %1'ini oluşturur.

EPCAM, kalsiyumdan bağımsız bir hücre adezyon membran proteinidir ve MMR'nin fizyolojik fonksiyonlarında yer almaz. EPCAM geni, 2. kromozomun kısa (p) kolu 21. pozisyonunda bulunur.

KRAS serrated yolağı: KRAS mutasyonlu TSA'lar, karışık bir tübülovillöz adenomatöz fenotipe ilerler ve yüksek dereceli displazi edinirler. Yüksek dereceli displazi ile infiltrate karsinomun moleküler farklı p53 mutasyonu ile ilişkilidir. [110, 114] Yüksek dereceli displazi veya malignite ile ilişkili TSA, yüksek MLH1 metilasyon oranları ile ilişkilidir. CIMP yüksek ve CIMP düşük tümörleri değişken frekansta bildirilmiştir. Aşağıda listelenen 7 histolojik kriterden 6'sı yerine getirildiğinde kesin bir serrated karsinom teşhisi konulur.

Moleküler sınıflandırma sınırlamaları;

- Altın standart yöntemlerin yokluğu,
- Yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar.
- Örneklem önyargısı.
- MSI üzerinde yapılan çalışmalar için kullanılan markerler tek tip olmaması
- Üniorm olmayan metilasyon belirteçlerinin tespit yöntemleri.
- Standart kromozomal kararsızlık tanımının eksikliği.
- Serrated kanser kriteri

Erken başlangıçlı kolorektal karsinom: Bu tümörler, HNPCC, adenomatöz polipozis veya inflamatuvar barsak hastalığına sahip olmayan 40 yaşın altındaki hastalarda ortaya çıkar. Tümör agresif davranış ile ilişkili patolojik özellikleri göstermektedir. Adenomlar ve karsinomlarda, AMACR'ın ekspresyonunun arttığını ortaya koymaktadır. miR-21, miR-20a, miR-106a, miR-181b ve miR-203 normal dokularla karşılaştırıldığında artmıştır.

Adenoma benzeri adenokarsinom: Adenoma benzeri adenokarsinom, düşük metastaz ve iyi prognoz oranı olan nadir bir KRK varyantıdır. Baskın genetik değişiklik, KRAS' kodon 12 veya 13'te mutasyon görülmesidir. Diğer mutasyonlar, PIK3CA ve BRAF V600E'i içerir [134].

Mikropapiller kolorektal karsinom: Mikropapiller özelliklere sahip olan KRK'ların, yüksek derecede lokal ve uzak metastaz olasılığı vardır. Artmış P53, KRAS ve BRAF mutasyonu gösterirler. Kök hücre belirteçleri SOX2 ve NOTCH3'ün artan ifadesi de bildirilmiştir [135, 136].

Müsinöz tümörler: MMR eksikliği olan müsinöz KRK'lar, sağ kalım analizinde düşük dereceli müsinöz olmayan tümörler ile benzer sonuçlara sahiptir. Müsinöz MMR-stabil KRK'lar, non-müsinöz yüksek dereceli tümörlerden biraz daha iyi davranırlar [137].

Sporadik mikrosatellit unstabil kolorektal karsinom: Sporadik mikrosatellit unstabil kolorektal karsinomun altta yatan patogenezi, MLH1 promoter hipermetilasyonuna bağlanır ve daha sonra gen transkripsiyonunun susturulmasına

neden olur. BRAF V600E mutasyonu bu tümörler için oldukça spesifik, fakat sensitif değildir. Fokal anneksin A10 ekspresyonu hem BRAF mutasyonlu hem de BRAF negatif alt kategorilerde bildirilmiştir [122].

Proksimal kolonun BRAF mutasyonlu mikrosatellit stabil adenokarsinomu: Tümörler, lenfatik invazyon, lenf nodu metastazı, perinöral invazyon, tümör tomurcuklanması ve müsinöz ve taşlı yüzük hücreli histolojiyi içeren olumsuz histolojik özellikleri göstermektedir. Önemli derecede düşük genel ve hastalıksız sağ kalımlarla ilişkilidir [122].

Gastrointestinal sistemin farklılaşmamış / rabdoid karsinomları: Değişken rabdoid özelliklere, pleomorfik dev hücrelere ve iğsi hücrelere sahip farklılaşmamış tümörlerde kromatin remodeling gen ekspresyon kaybı rapor edilmiştir. Kayıp bulunduran en yaygın bileşenler SMARCB1 (INI1), SMARCA2, SMARCA4 ve ARID1A'dır. MMR protein kaybı (MLH1 / PMS2) da bildirilmiştir. Bazı tümörleri iyi tanımlanmış moleküler alt tiplere aittir ve remodeling kompleks bileşenlerinin ek kaybını bulundurlar [138].

Senkron ve meta-senkron kanserler: Sporadik senkron tümörlerde tümörler aynı kolon segmentinde lokalize olduğunda benzer genetik değişiklikler bildirilmiştir. Bir veya daha fazla segment uzakta yerleşen tümörlerde, genetik değişikliklerde daha az tutarlılık Metakron tümörler, sonraki tümör ilk tümörün lokalizasyonuna yakında ise azalmış olan varyasyon göstermişlerdir [139].

2.4. KOLOREKTAL KANSERLERDE MOLEKÜLER SINIFLANDIRMA

Tablo 4. Kolorektal kanserlerde Jass moleküler klasifikasyonu [132]

KOLOREKTAL KARSİNOMUN MOLEKÜLER SINIFLANDIRILMASI						
Grup numarası	CIMP durumu	MLH-1 durumu	MSI durumu	Kromozomal durum	Prekürsör	%
1	CIMP yüksek	Full metilasyon	MSI-H	Stabil	Serrated polip	12
2	CIMP yüksek	Parsiyal metilasyon	MSS/ BRAF ilişkili MSI-L	Stabil	Serrated polip	8
3	CIMP düşük	Metilasyon yok	MSS/ KRAS ilişkili MSI-L	Unstabil	Serrated polip/adenoma	20
4	CIMP negatif	Metilasyon yok	KRAS ilişkili MSS	Unstabil	Adenoma	57
5	CIMP negatif	Germline MLH-1 veya diğer mutasyon	MSI-H	Stabil	Adenoma	3

Kolorektal kanserler tanımlanan moleküler yollar üzerinden gelişebileceği gibi birden fazla ara yolu kullanarak daha karışık bir moleküler mekanizma ile ortaya çıkabileceği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Bu nedenle altta yatan genetik instabilitenin tipine ve DNA metilasyon durumuna göre KRK'lerin 5 alt grup altında moleküler olarak sınıflanabilirler [132].

•**Grup 1:** “Serrated” poliplerden köken alan, CIMP-H, MLH1 metilasyonu, BRAF mutasyonu bulunduran, kromozomal olarak stabil, sporadik MSI-H özelliğindeki tümörler (%12)

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

•**Grup 2:** “Serrated” poliplerden köken alan, CIMP-H, kısmen MLH1 metilasyonu, BRAF mutasyonu bulunduran, kromozomal olarak stabil, MSS/MSI-L özelliğindeki tümörler (%8)

•**Grup 3:** Adenomlardan veya “serrated” poliplerden köken alan, CIMP-L, MGMT metilasyonu, KRAS mutasyonu bulunduran, kromozomal instabilite bulunduran, MSS/MSI-L özelliğindeki tümörler (%20)

•**Grup 4:** Adenomlardan köken alan, kromozomal instabilite bulunduran, CIMP negatif, MSS özelliğindeki tümörler (%57)

•**Grup 5:** Adenomlardan köken alan, kromozomal olarak stabil, CIMP negatif, BRAF mutasyonu negatif, MSI-H özelliğindeki tümörler (Lynch sendromu, %3)

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

2.5. KOLOREKTAL KANSERİN ÖZELLİKLERİ

Kolorektal kanserlerin %90'ından fazlası adenokarsinomdur [48]. 2010 WHO sınıflamasına göre kolorektal kanserler aşağıdaki gibidir:

2.5.1. Karsinomlar

- Adenokarsinoma
 - Kribriform-komodo tip adenokarsinoma
 - Medüller karsinoma
 - Mikropapiller karsinoma
 - Müsinöz adenokarsinoma
 - “Serrated” adenokarsinoma
 - Taşlı yüzük hücreli karsinoma
- Adenoskuamöz karsinoma
- İğsi hücreli karsinoma (“Spindle cell”)
- Yassı hücreli karsinoma (Skuamöz-epidermoid)
- Undiferansiye karsinom

2.5.2. Lokalizasyon

KRK'lerin çoğu sigmoid kolon ve rektum yerleşimlidir, ancak daha proksimal yerleşimli tümörlerin sıklığı yaş ile artar. Moleküler patolojik olarak bölgesel farklılıklar görülür. MSI ve “CpG” ada metilasyonu gösteren MSS tümörler sıklıkla çekum, çıkan kolon ve transvers kolonda yerleşim göstermektedir. “CpG” ada metilasyonu göstermeyen, mikrosatellit stabil tümörler daha çok sol kolon yerleşimlidir [48].

2.5.3. Klinik Özellikler

Bazı hastalar klinik olarak asemptomatik olmakla birlikte görüntüleme yöntemleri ile insidental olarak tanı alırken; hematokezya ve anemi en sık görülenler semptomlardır ve tümörün kanaması ile ilişkilendirilmiştir. Birçok hasta, bağırsak alışkanlıklarında değişiklik, özellikle sol kolonda kitlenin engellemesine ikincil kabızlık, abdominal gerginlik, kolon obstrüsyonu ve tümör perforasyonu gösterebilir. Rektosigmoid bölgede yer alan lezyonlarda tenesmus ve rektal kanama izlenebilir. Diğer spesifik olmayan semptomlar arasında ateş, kilo kaybı, halsizlik ve karın ağrısı sayılabilir [48].

2.5.4. Görüntüleme Yöntemleri

Görüntüleme teknikleri invaziv olmayan tanı ve klinik evrelemeye izin verir. Baryum lavmanı ile yapılan bilgisayarlı tomografi (BT kolonografi) faydalı olabilecek bir tekniktir. BT ile kesitsel görüntüleme, manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve transrektal ultrasonografi, tümörün yayılma derinliğini ve bölgesel ve uzak metastaz olasılığını tahmin etmek için kullanılır. Sintigrafi ve pozitron emisyon tomografisi (PET) de hastalık yayılımını değerlendirmek için kullanılmaktadır.

Kolonoskopi ile kolon lümeni değerlendirilebilir. Ayrıca kolonoskopi ile polipektomi, endoskopik mukozal rezeksiyon gibi bazı lezyonların terapötik olarak uzaklaştırılması sağlanır.

2.5.5. Tedavi

Kolon kanserinde primer tedavi yöntemi cerrahi olup; yapılacak tedavi: rezeksiyonun sınırları, tümörün yeri, evresi, vasküler ve lenfatik drenaja göre belirlenmektedir. Rektal karsinomun primer tedavisi için cerrahi mezorektumun sağlam derin fasiası ile keskin diseksiyonu içermelidir. Lokal nüks oranı, eksizyonun tamlığı ile ilişkilidir. Bu nedenle, rektal kanserler için mezorektum eksizyonunun ve fasiyal durumunun kalitesinin ve tamlığının makroskopik olarak değerlendirilmesi rapor edilmelidir. Kolon kanserinde cerrahi dışında uygulanan tedavi yöntemlerinden

biri kemoterapidir. Neoadjuvan kemoterapi, özellikle rektum tümörlerinde ve genellikle radyoterapi ile kombine edilerek kullanılmakta ve cerrahi öncesinde tümör hacmini küçültmek amacıyla uygulanmaktadır.

Adjuvan kemoterapi ise, küratif amaçla cerrahi tedavi uygulanan ve özellikle lenf nodülü metastazı bulunduran hastalarda vücuttaki mikrometastazları eradike etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu amaçla sıklıkla kullanılan kemoterapi ajanları “5-fluorouracil” (5-FU) ve “levamisole” kombinasyonudur. MSI varlığının tanımlanması burada anahtar role sahiptir; çünkü MSI-H tümörler iyi prognoza sahiptir. Ancak MSI-H tümörlerin 5-fluorouracil ve diğer sitotoksik ilaçlara cevabının az olduğu belirtilmektedir [140, 141]. MSI gösteren kanserli olguların topoizomerez inhibitörü “irinotecan” tedavisinden yarar görebileceği çalışmalarda öngörülmektedir [140]. Ayrıca MSI gösteren tümörlerin önemli oranda rekürrens açısından düşük riskli olduğu da yayınlarda bildirilmektedir [141].

2.5.6. Makroskopi



Resim 5. Kolon makroskopisi

Tümörler makroskopik olarak polipoid, ülser, anüler, ülserovejetan ve diffüz infiltratif spektrumunda değişken görünüme sahip olabilirler [48]. Makroskopik tarifte mutlaka tümörün lokalizasyonu, cerrahi sınırlarla ilişkisi, boyutları, invazyon derinliği, tümör perforasyonu olup-olmadığı, periton ile ilişkisi, cerrahi eksizyonun yeterliliği belirtilmelidir. Tümörler proksimal kolon ve transvers kolonda daha sık olarak egzofitik görünümde iken, inen kolon ve rektumda ülser ve anüler görünümde olma eğilimindedirler.

2.6. KOLON VE REKTUM TÜMÖRLERİNDE TNM SINIFLAMASI

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

TNM Sınıflaması (S.R. Hamilton 2010)

T kategorisi - Primer tümör

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor.

T0: Primer tümör lehinde kanıt yok.

Tis: Karsinoma in situ, intramukozal karsinom: intraepitelyal veya lamina propria invazyonu var.

T1: Tümör submukozaya infiltrasyonu yapıyor, ancak muskularis propriaya uzanmıyor.

T2: Tümör muskularis propriayı infiltre ediyor.

T3: Tümör subserozaya veya peritonla kaplı olmayan perikolik veya perirektal dokulara infiltre.

T4: Serosal yüzeyin (visseral periton) doğrudan tümör ekstansiyonu ile tutulmasıdır.

T4a: Tümör visseral peritona ilişkilidir. Tümör hücrelerinin iltihaplanma yoluyla serozal yüzeye sürekli olduğu perforasyon da T4a olarak kabul edilir. Serozal yüzeye 1 mm ‘den yakın olan ve serosal reaksiyonun eşlik ettiği tümörlerin önemi belirsizdir, ancak bazı çalışmalarda peritoneal relaps için daha yüksek bir risk belirtilmektedir [142].

T4b: Tümör diğer organ veya yapılara direkt invazyon göstermektedir.

N - Bölgesel lenf nodülleri

Nx: Bölgesel lenf nodülleri değerlendirilemiyor.

N0: Bölgesel lenf nodüllerine metastaz yok.

N1: 1 -3 bölgesel lenf nodülünde metastaz var (Lenf nodülü içindeki tümör en az tümör çapı 0.2 mm boyutunda olmalı veya lenf nodülü metastazı olmayan hastalarda herhangi bir sayıda tümör depoziti bulunmalıdır.).

N1a: 1 bölgesel lenf nodülünde metastaz var.

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

N1c: Bölgesel lenf nodülü metastazı olmadan, subseroza, peritonla örtülü olmayan perikolik ve perirektal yumuşak dokuda veya mezenterde tümör depozitlerinin bulunmasıdır.

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

N2a: 4-6 bölgesel lenf nodülünde metastaz var.

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

M - Uzak metastaz

Mx: Uzak metastaz varlığı değerlendirilemiyor.

M0: Uzak metastaz yok.

M1: Uzak metastaz var.

M1a: Peritoneal metastaz olmadan bir organ veya bölge ile sınırlı metastaz görülür.

M1b: Peritoneal metastaz olmadan 2 veya daha fazla organ ile sınırlı metastaz görülür.

M1c: Tek başına peritoneal metastaz yada peritoneal metastazla birlikte başka bölge ve organlarda metastaz görülür.

2.7. HİSTOPATOLOJİ

KRK'ların %90'ından fazlası adenokarsinomdur [143]. Adenokarsinom displastik hücrelerle döşeli, farklı büyüklük ve şekildeki glandüler yapılarından oluşan epitelyal bir tümördür.

Adenokarsinoma histopatolojik özelliklere sahip olan, mukozada sınırlı olan ve tamamen çıkarılan lezyonların intramukozal invazyon olsa bile metastaz riski yoktur. Tamamen eksize edildiğinde bu lezyonlar tedavi edildiğinden, "yüksek dereceli displazi" veya "intramukozal karsinom" terimleri genellikle, örneğin karsinom adının getirdiği uygunsuz aşırı tedaviden kaçınmak için kullanılır. Adenokarsinomlar gland oluşturma yeteneğine sahip neoplastik epitelyal hücrelerden oluşmaktadır. Adenokarsinomlar; konvansiyonel adenokarsinomlar dışında müsinöz adenokarsinoma, taşlı yüzük hücreli karsinoma, medüller karsinoma, mikropapiller karsinoma, "serrated" adenokarsinoma, kribriform komedo tip adenokarsinoma varyantlarını içermektedir [48].

Kolorektal adenokarsinomların çoğu immünohistokimya ile Sitokeratin 7 (CK7) ile negatif, sitokeratin 20 (CK20) ile pozitif olup ayrıca CDX2 transkripsiyon faktörünü eksprese ederler. Tümörlerin bir kısmı CK20 negatiftir ve bunlar MSI-H olma eğilimindedir MSI-Holan kolorektal karsinomlarda sitokeratin 20 ekspresyonunun azalırken; CDX2' nin ifadesi MSI statüsü ile ilişkili değildir [144, 145].

Müsinöz adenokarsinom; tümörün %50'den fazlasını, asiner yapılar oluşturan yada kümeler halinde malign epitelyal hücreler içeren ekstrasellüler müsin gölcükleri

meydana getirmektedir. Bu tümörlerin bir kısmının MSI-H olduğu ve bu sebeple düşük dereceli olduğu belirtilmektedir [48]. MSS veya MSI-L müsinöz adenokarsinomlar yüksek dereceli tümör davranışı gösterirler. %50'den az müsinöz alan bulunduran tümörler müsinöz komponente sahip adenokarsinoma olarak adlandırılır [48].

Taşlı yüzük hücreli karsinom; %50'den fazla tümör hücresinin, nükleusun tipik olarak eksantrik yerleşimine neden olan belirgin intrasitoplazmik müsin bulunduran tümörlerdir. MSI-H tümörleri düşük derecelidir. %50'den az taşlı yüzük hücresi bulunduran tümörler taşlı yüzük komponenti içeren adenokarsinoma olarak isimlendirilir [48].

Medüller karsinoma; Veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü, geniş eozinofilik sitoplazmalı tabakalar halindeki malign tümör hücreleri ve buna eşlik eden belirgin lenfosit infiltrasyonu ile karakterlidir. Neredeyse her zaman MSI-H ve iyi prognozludur [48].

“Serrated” adenokarsinoma; Arkiektürel olarak SSA/P'ye benzer glandüler “serration” gösteren, müsinöz, kribriform, trabeküler alanlar bulunduran, nükleus/sitoplazma oranı düşük epitelyal hücrelerden oluşan tümördür. Bu tümörler MSI-L veya MSI-H özellikte olabilir, BRAF mutasyonu ve “CpG” ada hipermetilasyonu içerebilirler [146, 147].

Kribriform komedo tip adenokarsinoma; Bu nadir görülen tümörde meme karsinomu ile benzer şekilde, santralinde nekroz bulunduran büyük kribriform glandüler yapılar bulunur. Sıklıkla “CpG” ada hipermetilasyonu gösteren MSS tümörlerdir [48].

Mikropapiller adenokarsinoma; nadir görülür. Vasküler yapıları taklit eden stromal boşluklarda küçük kümeler halinde tümör hücrelerinin bulunması ile karakterli karsinomdur. Konvansiyonel adenokarsinomda da bir komponent olarak bulunabilir. İmmünohistokimyasal olarak MUC1 boyanma paterni karakteristik özelliğidir [48].

2.7.1. Histolojik “Grade” leme

Kolorektal adenokarsinomalar bez yapıları oluşturma oranına göre derecelendirilmektedir. Buna göre; iyi, orta, az differansiye ve “undifferansiye” karsinomlar olarak adlandırılırlar. Undifferansiye karsinom kategorisi gland oluşumu ve müsin üretimi yapmayan, nöroendokrin, skuamöz veya sarkomatoid differansiyasyon içermeyen tümörleri kapsamaktadır. Kolorektal adenokarsinomların differansiyasyon ve Grade’e göre sınıflandırılması aşağıdaki tabloda görülmektedir.

Tablo 5. Kolorektal adenokarsinomlarda histolojik “Grade” kriterleri

Kriter	Diferansiyasyon kategorisi	Grade
>%95’ten fazla gland oluşumu	İyi diferansiye	Grade 1
%50-95 oranında gland oluşumu	Orta derecede diferansiye	Grade 2
%0-49 oranında gland oluşumu	Az diferansiye	Grade 3
Yüksek derecede MSI	Değişken	Değişken

2.8. TÜMÖR TOMURCUKLANMASI

2.8.1. Tarihçesi

Imai ilk olarak 1954 yılında “tümör filizlenmesi” olarak belirtilen ve tümörün daha aktif, hızlı büyümesini yansıtan invaziv tümör sınırında görülen bir morfolojik özellik olarak tümör tomurcuklanmasını tanımlamıştır [148]. İngilizce literatürde ilk kez Gabbert ve ark. 1985’te tümör tomurcuklanmasının ayrıntılı açıklamasını ışık ve elektron mikroskopu kullanılarak invaziv kenarda tümör dedifferansiyasyonu olarak tanımlamışlar [149]. Bununla birlikte, tomurcuklanma terimi 1989’da, Morodomi tarafından, tübüler bir yapıya sahip olan veya olmayan beş veya daha fazla hücreden oluşan grupların büyük neoplastik bezlerden tomurcuklanacak gibi görüldüğü zaman o alanları tümör tomurcuklanması olarak tanımlanmış ve bu tümör tomurcuklarının ilerlemiş rektum kanserlerinde lenfatik invazyon, venöz invazyon ve lenf nodülü metastazı varlığını öngörmedeki rolünü bildirmişlerdir [150]. Dahası Shinto ve ark. seri kesitler ile değerlendirilen tümör tomurcuklanma alanlarında tomurcuklanma yapan hücrelerle devamlılık halinde olan sitoplazmik fragmanların tomurcuklanan tümör hücrelerinde süreklilik gösterdiğini saptamış ve "sitoplazmik psödofragmentler"

olarak adlandırılmışlar. İnvaziv tümör marjinde tümör tomurcuklanma odakları etrafında küçük, çekirdeksiz küçük sitoplazmik fragmanlar tespit etmişler. Bunun tümör migrasyonu ve agresif tümör tomurcuklanması ile ilişkisini göstermişler. 1993 yılında Hase ve ark. KRK'da lezyonun invaziv alanında farklılaşmamış kanser hücrelerinin küçük kümeleri olarak tanımladıkları tümör tomurcuklanmasının potansiyel prognostik değerini belirlemiş [151]. Her ne kadar tümör tomurcuklanması esas olarak kolorektal kanserde prognostik bir belirteç olarak tanımlanmış olsa da, son zamanlarda yapılan çalışmalarda bunun pankreas karsinoması, ampullar adenokarsinom, gastro-özofageal bölge karsinomu, akciğer ve anal skuamöz hücreli karsinomlarda da değerini göstermiştir [152-155].

Tümör tomurcuklanması, kolorektal kanserde iyi bilinen bağımsız bir prognostik faktördür. Tümör tomurcuklanması invaziv tümör çevresi stromada bulunan izole tümör hücreleri ya da en fazla 4 hücreden oluşan gruplar şeklinde tanımlanır. Tümör tomurcuklanmasının prognostik gücü, bir kümeyi tanımlayan hücre sayısından etkilenmez. Tümör içi (intratümöral) veya tümör kenarında (peritümöral) olabilir. Peritümöral tomurcuklanma değerlendirilmesi için rezeksiyon materyalleri gerekli iken, intratümöral tomurcuklanma biyopsi materyallerinde de değerlendirilebilir [151, 156]. Hem peritümöral tomurcuklanma hem de intratümöral tomurcuklanma, epitelial-mezenkimal geçişin (EMT) morfolojik belirtileridir. Tümör tomurcukları, adezyon molekülü E-cadherin kaybını gösterir ve nükleer beta-katenin ve APC gibi aktive edilmiş bir WNT sinyal yolağının belirteçlerini eksprese eder [157]. ZEB1, SNAIL1, TWIST1-pozitif mikroçevre, tümör tomurcuklanmasına izin verebilir. Ayrıca, tümör tomurcukları matriks metalloproteinleri, siklin D1, VEGF ve p16'yı eksprese eder, ancak Ki-67 ile belirgin şekilde artmış proliferasyon göstermezler [158].

Çeşitli çalışmalarda tümör tomurcuklanmasının TNM evresi, yüksek tümör derecesi, lenfovasküler invazyon varlığı ve sonuç olarak lenf nodülü ve uzak metastaz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [159]. Ueno ve ark. rektal kanserde tümör tomurcuklanmasının sadece kanserin lokal yayılımını yansıtmakla kalmayıp, aynı zamanda sadece primer kolorektal kanserli hastalarda değil, aynı zamanda karaciğer metastazı olan hastalarda da sağ kalım üzerindeki etkisinin de kanıtlamış, tümör agresifliğinin bir endeksi olabileceğini bildirmiştir [160]. Kolorektal kanserli

olgularda tümör tomurcuklanması potansiyel olarak hasta yönetimini kolaylaştırmak için prognostik faktör olarak kullanıldığı durumlar bildirilmektedir. Endoskopik olarak rezeke edilen pT1 kolorektal kanserli olgularda, tümör tomurcuklanması varlığında lenf nodülü metastazı riski arttığını belirten yayınlar bulunmaktadır. Bu sonuçlar nedeniyle tomurcuklanma bulunan hastalara rezeksiyon uygulanması gündeme gelmektedir. pT1 kolorektal kanserinde tümör tomurcuklanmasının, kötü farklılaşma, lenfovasküler invazyon ve submukozal invazyonun derinliği/seviyesi gibi diğer lenf nodülü metastazı histopatolojik belirleyicileri ile birlikte bildirilmesini şiddetle tavsiye etmektedir [161-163]. Düşük dereceli tomurcuklanan veya tomurcuklanma olmayan evre II kolorektal kansere kıyasla hastalıksız sağ kalımın daha kısa olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle, yüksek dereceli tümör tomurcuğu olan evre II kolorektal kanserli hastalara tedavi önerilmektedir [164]. Ayrıca ameliyat öncesi biyopsilerde değerlendirilen tümör tomurcuklanmasının neo-adjuvan tedaviye hak kazanabilecek hastaların seçilmesinde bir kriter olması gerektiğine dair yayınlar mevcuttur.

Tümör tomurcuklanmasının rutin patoloji uygulamasında kullanımında yaşanan önemli zorlukların başında basit ve tekrarlanabilir standartlaştırılmış bir skorlama sisteminin olmaması gelmektedir. Tümör alanının seçimi, uygulanan boyama yöntem (Hemotoksilen eozin veya immunohistokimyasal yöntemler) ve puanlama sistemi (sınır değerler), açıklığa kavuşturulması ve daha sonra birden fazla çalışmada doğrulanması gereken pratik noktalardır. Bununla birlikte, tümör tomurcuğu, farklı çalışmalarda kullanılan seçilmiş skorlama sistemlerinden bağımsız olarak prognostik değerini koruyan sağlam bir biyolojik belirteçtir. 2016'da International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC), uluslararası kolorektal kanser rehberi ve rutin uygulamada kullanılmak üzere tümör tomurcuğu değerlendirmesinde kanıta dayalı, standartlaştırılmış puanlama sistemi oluşturma amacıyla toplanmıştır. Kolorektal karsinomlarda tümör tomurcuklanması literatürde kötü prognostic faktör olarak bildirilmiştir. Tümör tomurcuklanması genellikle tümörün invazyon yaparak çevre dokuya yayılan sınır kısımlarında değerlendirilse de bazı çalışmalarda tümörün invaziv kenarında olmayan tomurcuklanmanın da peritümöral tomurcuklanma ile benzer prognostik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bazı gruplarda prognostik önemi nedeniyle artık kolon kanseri patolojik

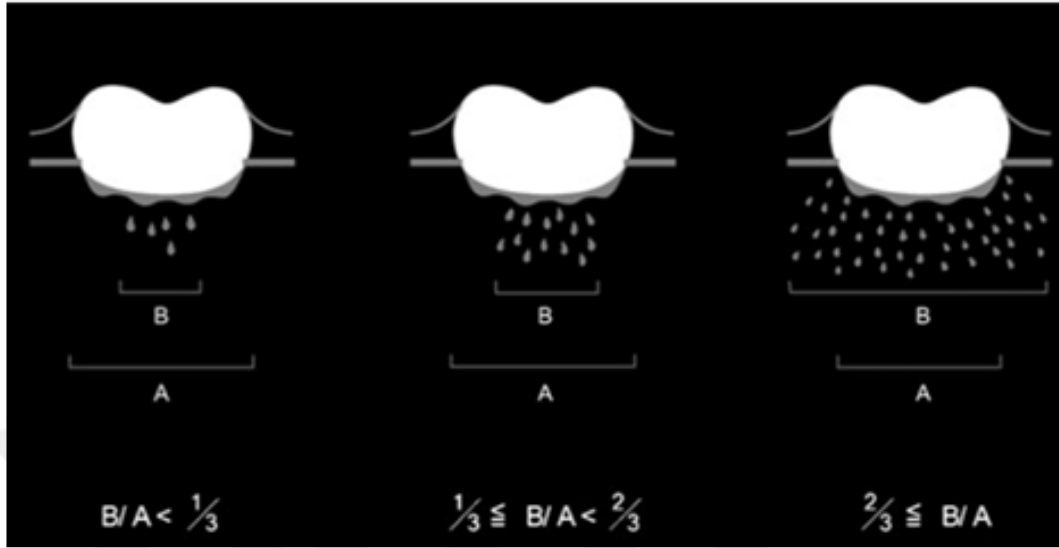
raporlamasında tümör tomurcuklanmasının histolojik derece, lenfovasküler invazyon varlığı gibi bildirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Tümör tomurcuklanması özellikle evre 2 kolorektal karsinomlarda adjuvan tedavi belirleyici bağımsız prognostik faktör olarak çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir.

2.8.2. Tümör tomurcuklanmasının değerlendirilmesi

1- Rutin boyama (H&E) kullanılarak tümör tomurcuklanmasının değerlendirilmesi: H&E kullanılan yerlerde, tümör tomurcuklanmasının varlığını değerlendirmek ve oranını belirlemek için puanlama ve sayma temelli iki yaklaşım vardır. Skorlama yöntemi büyük ölçüde, bir dizi alanın seçildiği ve yaklaşık olarak alt sınıflanan tomurcuklanmanın nitel bir yaklaşımı olduğu için büyük ölçüde farklılık gösterirken, sayma yöntemi, kesin bir alan çapının veya alanının seçildiği nicel bir yaklaşım kullanılırken, sayım yöntemi mm veya mm² olarak hesaplanır ve raporlanır.

Skorlama yönteminde(nitel), tümör penetrasyonunun en derin bölümünü içeren bir H&E slaytı x50 büyütmede rutin olarak değerlendirilir, bu alanda tümör tomurcuklanması “yok, minimal, orta ve şiddetli” şeklinde dört sınıfa ayrılır: ve daha sonra iki bu sınıflar 2 kategoride birleşir: yok veya minimal (BD-1) ve orta veya şiddetli (BD-2) [165]. Benzer şekilde Nakamura, tomurcuklanmanın tüm invaziv marjinin 1/3'ünde görüldüğü takdirde tomurcuklanmanın mevcut olduğunu bildirdiği yarı-nicel bir yaklaşım belirlemiş, tomurcuklanma tüm invaziv marjinin 1/3- 2/3 ‘ü arasında ise orta; tomurcuklanmanın tüm invaziv marjinin 2/3’ünden fazlasında mevcutsa belirgin olarak gruplandırmıştır. Tümör tomurcuklanma derecesini ise daha sonra düşük dereceli (yok veya hafif) ve yüksek dereceli (orta veya belirgin) olmak üzere iki grup altında toplamıştır [166]. Skorlama yöntemleri çalışmalarının çoğu göreceli olarak tarihseldir (2005'ten önce), böylelikle tümör tomurcuklanması yok, hafif, orta veya ağır olarak kategorilere ayrılmıştır ve varlığı veya bulunmadığı bildirilmiştir. Özet olarak, H&E boyamaları ve skorlama yönteminin kullanılmasıyla primer ameliyat edilebilir kolorektal kanserli hastaların yaklaşık %30'unda tümör

tomurcuklanması tespit edilmiş. Ayrıca, belirgin tümör tomurcuklanması, çalışmaların çoğunda bağımsız olarak daha kötü sağ kalım ile ilişkili olarak saptanmıştır.



Resim 6. Nakamura sınıflandırmasının şemasal gösterimi.

Sayma yöntemi (nicel): Ueno ve arkadaşları, bir tümör tomurcuğunun "izole edilmiş bir tek kanser hücresi veya 5'ten az kanser hücresinden oluşan bir küme" olarak tanımlandığı zaman eş zamanlı sayma yöntemini klasik olarak tanımlanmıştır. "Tomurcuklanma" yoğunluğunun maksimum olduğu kabul edilen bir alan seçilip; tomurcuklanma odakları sayısı x25 objektif kullanılarak sayılıp; sayılan tümör tomurcukları sayısına bağlı olarak düşük veya yüksek dereceli tomurcuklanmaya şeklinde gruplanmıştır. Bir alanda 10 dan fazla tomurcuklanma varlığı yüksek dereceli olarak belirtilmiştir [151]. Özetle, H&E ile sayma yönteminin kullanılmasıyla yapılan çalışmalarda, primer ameliyat edilebilir kolorektal kanserli hastaların yaklaşık %37' sinde tümör tomurcuklanması belirlenmiştir ve bu çalışmaların çoğunda tümör tomurcuklanması sağ kalım ile ilişkili olarak saptanmıştır.

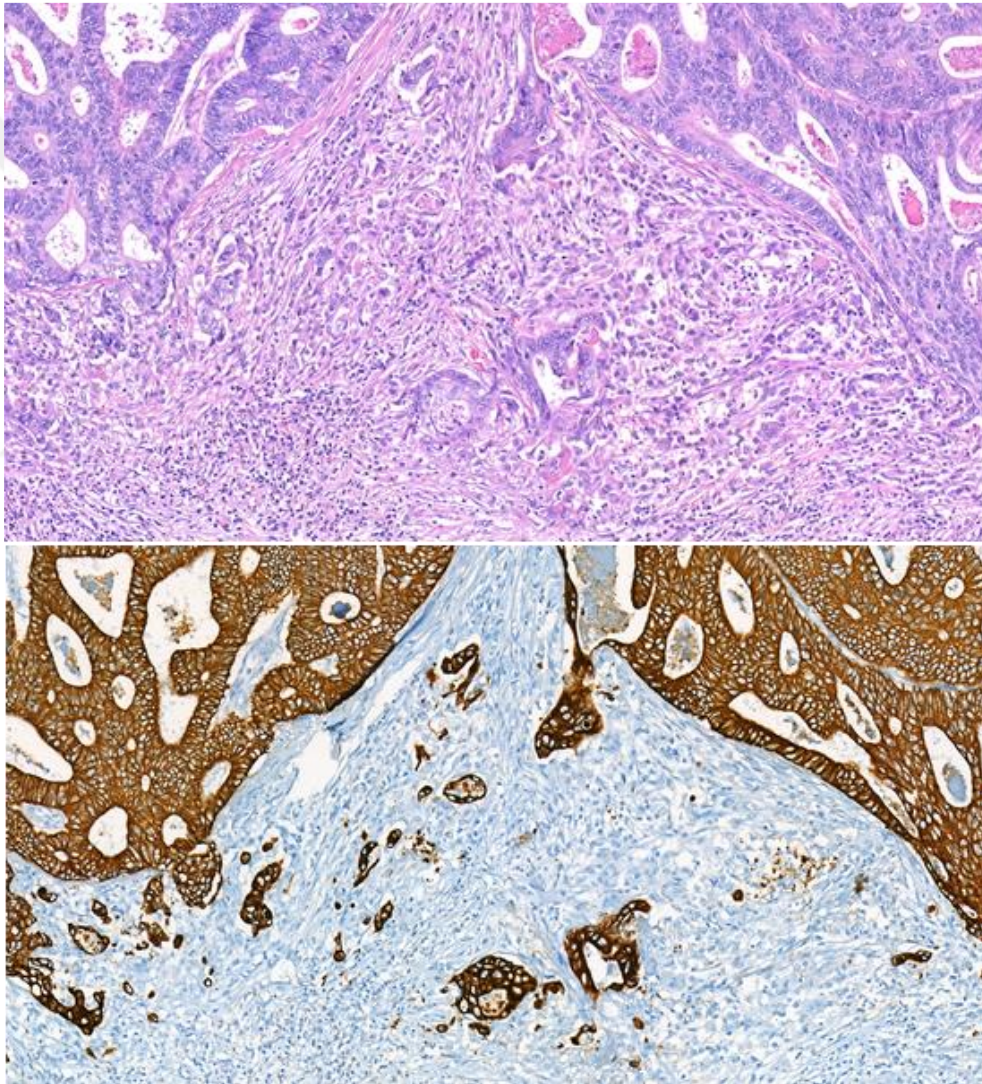
Birkaç çalışma H&E slaytlarında tomurcuklanma değerlendirmede skorlama ve sayma yöntemlerini doğrudan karşılaştırmıştır. Örneğin Puppa ve ark. skorlama yöntemini(Hase ve Nakamura), sayma yöntemi (Ueno ve Wang) ile karşılaştırmış ve sayma yöntemleriyle daha yüksek tomurcuklanma saptama oranları görmüştür. Ancak gözlemciler arası anlaşma her iki yaklaşım için de benzer bulunmuştur [167]. Bu nedenle, H&E çalışmalarında, skorlama yöntemiyle karşılaştırıldığında sayma

yönteminin daha yüksek tespit oranına sahip olduğu ve rutin H&E çalışmalarında tümör tomurcuklanmasının değerlendirilmesinde uygun bir yaklaşım olduğu görülmektedir

2-İmmünohistokimyasal inceleme kullanılarak ile tümör tomurcuklanmasının değerlendirilmesi: Rutin H&E boyaması kullanarak tümör tomurcuklarının tanımlanması sorunlu olabilir, özellikle belirgin inflamasyon bulunduran tümörlerde tümör tomurcukları gizlenebilir ve ayrıca stromal hücreler de tümör tomurcukların taklit edebilir. Bazen kanser hücreleri ve fibroblastların neden olduğu desmoplastik reaksiyondan ayrımı güç olabilir. Küçük bir kümenin gerçek bir tomurcuk mu veya daha büyük bir glandın mekanik parçalanmasını mı temsil ettiği ayrımı zor olabilir. Bu nedenle, anti-sitokeratin antikorlarıyla immünohistokimyasal inceleme tomurcukları vurgulamak ve onları çevreleyen stromal hücrelerden ayırt etmek için önerilmiştir. 2005 yılından bu yana, tümör tomurcuklanmasının değerlendirilmesini kolaylaştırmak amacıyla immünohistokimya kullanılmıştır. İlk olarak Prall ve ark. invaziv sınırdaki tomurcuklanan hücreleri işaretlemek için pan-sitokeratin boyamasını kullanarak, x250 büyütme ile değerlendirme yapıp, büyütme alanı başına 25' den fazla tomurcuklanma varlığını yüksek dereceli olarak gruplandırmışlar. İmmün boyama kullanıldığında, neredeyse tüm çalışmalarda (Horcic ve ark. Hariç) sayma ile H&E ile maksimum tomurcuklanan bir doku bloğu seçilip sitokeratin kullanılarak tomurcuklar vurgulanmıştır [168]. Son zamanlarda 10 HPF (BBA/büyük büyütme alanı) yöntemi tanımlanmıştır Bu yöntemde en yüksek peritümöral tomurcuklanma yoğunluğuna sahip alan, küçük büyütme ile seçilip, daha sonra tümör tomurcuklarının sayısı 10 BBA'da (10 HPF) sayılıp (x400 büyütme) ortalama tomurcuk sayısı analiz edilir [168, 169] Bu yöntemi kullanarak, eşik seviyeleri 5 ila 25 tomurcuk arasında kabul edilerek yapılan çalışmalarda tümör tomurcuklanması ortalama %38 (%13-69 arasında) oranında saptanmıştır Birkaç araştırmacı, sağ kalım öngörme için sayılacak optimal tomurcuk sayısının sırasıyla 16 ila 25 tomurcuk arasında olduğu bildirilmiştir [170, 171]. İmmünohistokimyada sayım yöntemi kullanılarak yapılan çalışmaların çoğunda tümör tomurcuklanması sağ kalım ile ilişkili bulunmuştur. İmmünohistokimya ile tümör tomurcuklanması tespit oranının H&E kesitlere kıyasla daha iyi olduğu ve H&E'nin sorunlu tümörlerde (inflamasyondan zengin vs.) tümör tomurcuklarının belirlenmesinde immünohistokimya'nın yardımcı olduğu bildirilmiştir [172]. Çalışmanın sadece 1'i rutin H&E yaklaşımına kıyasla immünohistokimyanın prognostik

değeri üzerinde anlamlı bir etki gösterebilmiştir [173]. Özetle, immünohistokimya kullanılması, tümör tomurcuklanmasının tespit edilmesini arttırdığı görülmüştür, ancak prognostik değer olarak ve gözlemciler arası uyum bakımından H&E ile değerlendirme ile belirgin bir fark bulunmamaktadır [167].

Tümör tomurcuklarını dijital olarak puanlamak için ilk girişim, 2014 yılında Pan sitokeratin ve D2-40 (lenfatik endotel için işaretleyici) için multipleks immünofloresana dayanarak yayınlanmış ve bu yaklaşım gözlemciler arası değişkenliği büyük ölçüde azaltmıştır [174].



Resim 7. Histiyositler dahil olmak üzere Peritümoral inflamatuvar hücrelerin, tümör tomurcuklarından ayrımının zor olduğu durumda PanCK boyalı kesit ile işaretlenen tomurcuklar

Sahte tomurcuklar (“Pseudo-buds”), CK boyanmış slaytlar üzerinde yapılan değerlendirmede beklenmeyen bir tuzaktır ve sıklıkla, HE slaytlarında tümörün invaziv kenarında şiddetli iltihap bulunduran alanlarda gözlenir. Sadece düşük dereceli tomurcuklanan olgularda değil, iltihaplı yüksek dereceli tomurcuklanan olgularda da görülürler. Sahte tomurcukların gerçek tomurcuklanmadan ayrımı küçük büyütmeyle zordur, ancak bunlar, büyük büyütmenin kullanılmasıyla gerçek bir çekirdeğin varlığı veya yokluğu ile ayırt edilebilir. Koelzer ve arkadaşları [175], tümör tomurcuklarının tanısında soluk sitoplazmik PanCK reaktivitesini ve pan-CK ile nükleus varlığının göstermesi gerektiğini vurgulamaktadır. “Pseudo-buds” ların tuzaklarından kaçınmak için, PanCK boyanmış olan slaytlardaki tümör tomurcuklarının değerlendirilmesinde ağır iltihaplı veya nekrozlu bölgelerin dışlanması tavsiye edilir.

ITBCC (International Tumor Budding Consensus Conference) Kanada Patoloji Akademisi (USCAP) yıllık toplantısında Mart 2015'te Boston'da başlamış, 27-29 Nisan 2016 tarihlerinde Kursaal, Bern, İsviçre'de düzenlenmiş ve 11 ülkeden katılımcılar toplanmıştır. Burada birincil amaç, tümör tomurcuklanmasının değerlendirilmesinde standart bir skorlama yönteminde fikir birliğine ulaşıp ulaşılamayacağını belirlemek olmuştur. Kolorektal kanserde tümör tomurcuklanması ile ilgili en önemli yayınları kapsayan bir sunum, toplantı öncesi bir anket ve bir e-kitaptan oluşan dokuz oturum şeklinde düzenlenmiş. Klinik olarak pT1 kolorektal kanserlerinde lenf nodülü metastazlarının, evre II kolorektal kanserde sağ kalımın bağımsız bir belirleyicisi olduğu ve ameliyat öncesi biyopsilerinde kötü prognostik bir faktör olduğu vurgulanmıştır. Değerlendirmesini sınırlandıran inflamatuvar hücre reaksiyonu, glandüler fragmentasyon gibi bir özellik olmaması halinde, tümör tomurcuklanması H&E'de değerlendirmesini, H&E değerlendirmesinin sınırlı olduğu durumlarda, immünohistokimya uygulanması önerilmiştir. Bunun nedeni olarak da H&E'nin maliyet etkinliği ve tümör tomurcuklanmasının dünya çapında değerlendirilmesine olanak sağlaması gösterilmiştir. H&E'de tanımlanmasını zorlaştıran inflamatuvar hücre reaksiyonunun belirginliği durumunda ve tümör tomurcuklanmasının reaktif stromal hücrelerden ayırt edilmesinde pankeratin immünohistokimyası, tümör tomurcuklarının daha iyi görüntülenmesine yardım eder; ancak apoptotik cisimleri ve tomurcuk olarak sayılmaması gereken hücre kalıntıları da boyayabilir. Nihai tümör tomurcuk sayımı H&E'de yapılırsa da, İHK ile sayılan hücrelerin gerçekten tümör tomurcukları olduğunu doğrulanabilir. Çoğu

çalışmada en fazla tümör tomurcuk yoğunluğuna sahip tek bir alanda tümör tomurcuğu sayımı gerçekleştirmiştir (“hot spot yöntemi”). 5 “hot spot” veya 10 “hot spot “ değerlendiren çalışmalar da birden fazla alanda sayma, tüm invaziv sınırı temsil ettiğinden daha avantajlı olarak bulunmuştur [4]. Diğer yandan, çoklu alanları saymak, fokal olarak birçok tümör tomurcuğu olan durumlarda ortalama tümör tomurcuğu sayımını azaltabilir. Bu nedenle “hot spot” yöntemi, invaziv alanlarda tümör tomurcuklanmasının maksimum derecesini yansıtır. Bununla birlikte, en yüksek tümör tomurcuklanmasına sahip olan alanın seçilmesini sağlamak amacıyla, seçilen tek sıcak noktadaki tümör tomurcukları sayılmadan önce invaziv sınır boyunca 10 ayrı alanın (20x objektif) taranması tavsiye edilir. ITBCC grubu, Japon Kolon ve Rektum Kanseri Derneği tarafından kullanılan üç aşamalı gruplama sistemin kullanılmasını önermektedir:

0-4 tomurcuk: Düşük tomurcuklanma (Tt1),

5-9 tomurcuk: Orta dereceli tomurcuklanma (Tt2)

10 veya daha fazla tomurcuk: Yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3)

Bu yöntemde ilk olarak mikroskobunuzun 20x objektif lensi ile örnek alanını tanımlanır. Daha sonra tümörün en fazla tomurcuklanma gösterdiği tümör kesiti üzerinde 10x objektifte 10 ayrı "hot spot" belirlenir ve bu alanda 20x objektif kullanılarak tümör tomurcukları değerlendirilir. Mercek alanı (FN) çapına bağlı olarak 0.785 mm² başına tümör tomurcuğu sayısını belirlemek için elde ettiğimiz toplam tümör tomurcuğu sayısı değerlendirilen alan çapını standardize etmek için normalizasyon faktörüne bölünür ve sonuç olarak elde ettiğimiz tomurcuklanma sayısı ile sınır değerlere göre tomurcuklanma kategorisi belirlenir. Müsinöz, taşlı yüzük hücreli karsinom, medüller ve mikropapiller karsinomlarda tümör tomurcuklanmasının değerlendirilmesi dikkatli yapılmalıdır. Müsinöz, taşlı yüzük hücreli karsinomlarda, müsin havuzlarında asılı bulunan hücreler tümör tomurcukları olarak sayılmamalıdır. Medüller karsinomlarda, inflamasyona ikincil tümör hücrelerinin ayrılmasını gerçek tümör tomurcuklarından ayırt etmek imkansız olabilir. Mikropapiller karsinomda, tümör tomurcuğu sayısında az differansiye tümör hücre kümeleri içermemesine dikkat edilmelidir. Tümör ve tümör çevresinde tabloya eşlik eden belirgin inflamasyon, mikropapiller komponent gibi sağlıklı olarak tümör tomurcuk sayısının hesaplanamadığı durumlarda durumlarda, tomurcuklanma, açıklayıcı bir notla "değerlendirilemez" olarak rapor edilebilir. Neo-adjuvan tedavi sonrası KRK kanser

rezeksiyonlarında prognostik önemi ile ilgili yeterli veri olmadığı için tümör tomurcuklanması rapor edilmemelidir [176-178].

2.8.3. Tümör tomurcuklanması ve Mikrosatellit stabilitesi ilişkisi

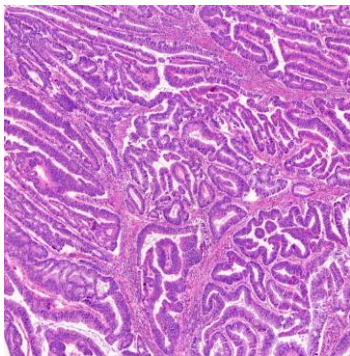
KRK'da mikrosatellit instabilitesi (MSI) günlük uygulamada önem kazanmıştır, çünkü mikrosatellit durumu sadece Lynch sendromuyla değil, prognozla da ilişkilidir: MSI KRKlar mikrosatellit stabil (MSS) KRK'dan belirgin olarak daha iyi prognoza sahiptir. Birçok araştırma MSI tümörlerde tomurcuklanmanın daha az aktif olduğunu bildirmiştir: MSS KRK'ların %50'sinde yüksek dereceli tomurcuklanma görülürken; MSI KRK'ların %25'inde yüksek dereceli tomurcuklanma gözlenmektedir. Ek olarak MSI KRK'larda tomurcuklanan hücreler, kök kaybı olarak yorumlanan nükleer β -katenin ve laminin-5 γ 2'yi eksprese etmezler [179]. Bununla birlikte, MSI durumu ile tomurcuklardaki laminin-5 γ 2 ve E-cadherin ekspresyon paterni arasındaki bu korelasyon diğer çalışmalar tarafından doğrulanmamıştır [180]. MSI KRK'ların tomurcuklanmayı ve metastatik eğilimi baskılayabilecek oldukça aktif bir immün mikroçevreye sahip olmasından dolayı tümör tomurcuklanmasına daha az eğilimli olabileceğini ileri sürülmektedir. Bu MSI tümörlerinin neden daha az tomurcuklanan hücrede bulunduğunu ve daha iyi prognoz gösterme eğiliminde olduğunu açıklayacaktır [181, 182].

KRAS, NRAS ve BRAF'ın mutasyon durumu, metastatik bir KRK'da tedavi kararlarını yönlendirmek için temel bir parametre haline gelmiştir. Bazı çalışmalar tümör tomurcuklanmasının BRAF veya KRAS mutasyon durumu ile ilişkili olmadığı sonucuna varmasına rağmen, diğerleri KRAS mutasyonlu KRK'ların daha aktif tümör tomurcuklanması [182, 183] gösterdiğini bildirdi. Başka bir çalışma, tümör tomurcuklarında BRAF mutasyonu ve Kaspaz-3 ekspresyonu arasında bir korelasyon yönünde bir eğilim olduğunu bildirmiştir. Kaspaz-3'ün yüksek ekspresyonu iyi prognostiktir [184]. BRAF mutasyon durumu, BRAF mutasyonlu tümörlerin prognozu kötü olsa da tümör tomurcuklanması ile ilişkili değildir ve KRAS mutasyon durumu ile tümör tomurcuklanması arasındaki ilişki net değildir. Tümörün invazyon paterni ve histolojik görünümü MMR protein ekspresyonu ile ilişkilidir, ancak KRAS ve BRAF mutasyon durumundan bağımsızdır [179, 185, 186].

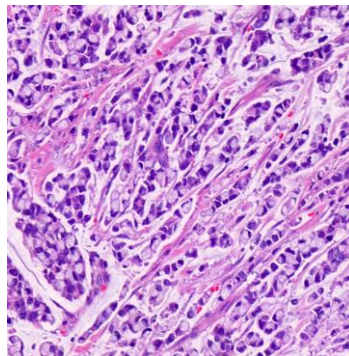
3. MATERYAL VE METOD

3.1. ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLEN OLGULARIN SEÇİMİ

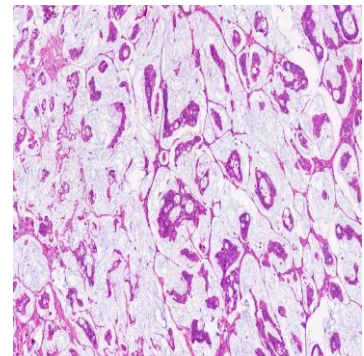
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bilin Dalı tarafından takip ve tedavileri yapılan ve hastane kayıtlarından klinik takiplerine ve bilgisayar kayıtlı arşiv sisteminden patoloji arşiv materyallerine ulaşılabilen 2000-2010 yılları arasında Kolorektal adenokarsinoma tanısı almış 306 olgu yaş ve cinsiyet ayrımı yapılmadan çalışmaya alınmıştır. Bu olguların takip süresi en az 5 yıl veya ölüme kadardır. Olgulardan bilinen polipozis sendromu bulunduran 10 olgu (7 FAP, 2 Atenu FAP, 1 Serrated polipozis), metakron tümörü olan 2 olgu, epikriz bilgisinden neoadjuvan tedavi aldığı görülen 6 olgu çalışma dışı bırakılmış, preperatlarının tümüne ulaştığımız 288 adet olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Patoloji arşivindeki raporlardan olguların yaş, cinsiyet ve materyalin hangi spesmene ait olduğu, tümörün lokalizasyonu, tümörün boyutu, tümörün makroskopik özellikleri (ülser, ülserovejetan, polipoid), rektumdaki tümörlerin makroskopik olarak lateral cerrahi sınıra uzaklıkları ve mezokolik eksizyonun yeterliliği, eşlik eden polip/lezyon varlığı, uzak metastaz varlığı not edilmiştir. Tümörün lokalizasyonu sağ kolon, sol kolon ve rektum olarak gruplandırılmıştır. Sağ kolon grubuna çekum, çıkan kolon, transvers kolon ve hepatic fleksura; sol kolon grubuna splenik fleksura, inen kolon, sigmoid kolon yerleşimli tümörler dahil edilmiştir. Seçilen KRK olgularının tümörleri histolojik olarak konvansiyonel adenokarsinoma, müsinöz adenokarsinoma, taşlı yüzük hücreli adenokarsinoma olarak sınıflandırılmıştır.



Konvansiyonel
adenokarsinom



Taşlı yüzük hücreli
adenokarsinom

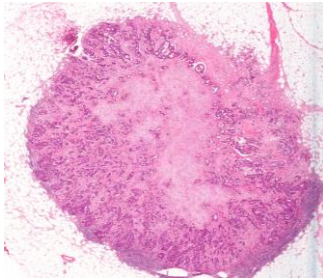


Müsinöz
adenokarsinom

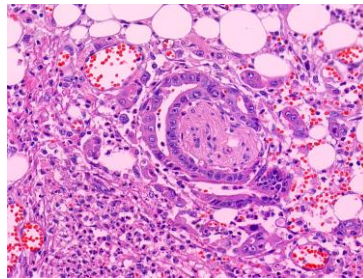
Şekil 6.

3.2. MORFOLOJİK DEĞERLENDİRME

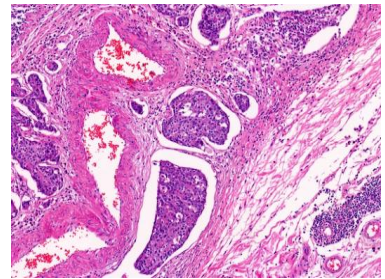
Patoloji arşivinde bulunan 288 adet olguya ait tüm H&E boyalı kesitler ve var ise immünohistokimya boyalı kesitler yeniden değerlendirilmiştir. H&E boyalı kesitlerin morfolojik olarak incelenmesinde tümörün alt tiplendirilmesi için glandüler differansiasyon, ekstrasellüler matriks üretimi, taşlı yüzük hücresi varlığı, mikropapiller komponent değerlendirilmiştir. Ayrıca olgulara ait H&E boyalı preparatların hepsi Crohn benzeri lenfoid reaksiyon, inflamatuvar hücre reaksiyonu, tümör stroma oranı, tümör nekroz oranı, tümörün invazyon paterni (ekspansil/infiltratif), lenfovasküler ve perinöral invazyon durumu, satellite tümör nodülü, metastatik lenf nodüllerinde ektrakapsüler yayılım varlığı açısından değerlendirilmiştir. Tümör Grade ve evresi yeniden değerlendirilmiştir. Tümör Grade belirlenmesi WHO 2010 [48] kriterlerine göre yapılırken, evre belirlemede AJCC (American Joint Committee on Cancer) TNM 2017 [187] klasifikasyonu kullanılmıştır. Bu aşamada tümör tomurcuklanmasını en iyi temsil eden blok yeni H&E kesit ve immünohistokimyasal inceleme için seçilmiştir. Seçilen bloktan seri olarak alınan kesitlere H&E ve immünohistokimyasal boyanma uygulanmıştır. Tümör tomurcuklanması değerlendirilmesi hem H&E boyalı hem de immünohistokimya boyalı kesitlerde ayrı ayrı yapılmıştır.



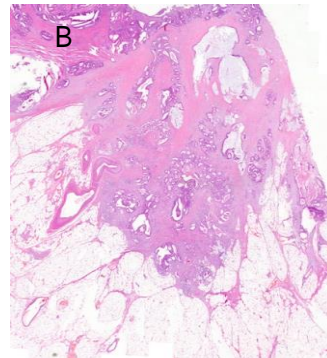
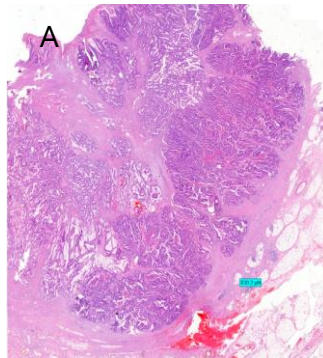
Metastatik lenf nodülünde ektrakapsüler invazyon



Perinöral invazyon



Lenfovasküler invazyon



Resim 8. Tümör büyüme paternleri

A. Ekspansil patern B. İnfiltratif patern

3.2.1. İnflamatuar Hücre Reaksiyonunun Değerlendirilmesi:

Tümör çevresindeki inflammatuar hücre reaksiyonu H&E boyalı kesitlerde tümörün derin invazyon bölgelerinde değerlendirildi. Bu alanda lenfosit, nötrofil ve eozinofilik granülositlerin infiltrasyon şiddetine göre 4 dereceli skorlama sistemi ile değerlendirildi [188]. Tümörün tamamında ve invaziv sınırda inflammatuar hücre reaksiyonu için şu şekilde skorlama yapıldı:

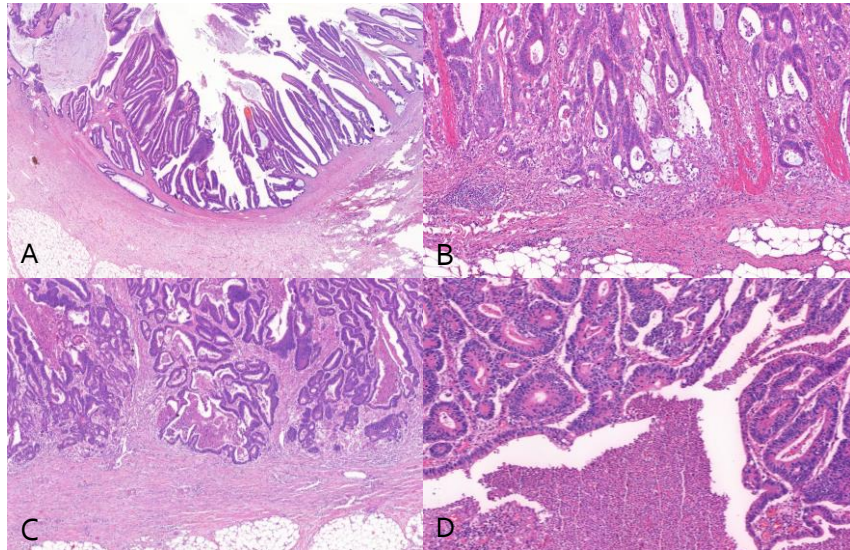
Grade 0: İnflamatuar reaksiyon yok ve inflammatuar hücrelerde artış yok.

Grade 1: İnvaziv sınırda inflammatuar hücrelerde zayıf ve yamasal artış mevcut, ancak bu hücreler invaziv tümör hücre gruplarını tahrip etmiyor.

Grade 2: Orta dereceli artmış inflammatuar hücreler invaziv kenarda bant benzeri infiltrasyon oluşturuyor ve bazı tümöral glandüler yapılarda destrüksiyon yapıyor.

Grade 3: Çok belirgin artmış inflammatuar reaksiyon mevcut ve invaziv kenarda tümörde sıklıkla glandüler destrüksiyona neden oluyor.

İnflamatuar hücre reaksiyonu ayrıca Klintrup-Mäkinen (K-M) kriterleri [188] kullanılarak hafif veya yamasal inflammatuar hücre infiltrasyonu; düşük dereceli peritümöral inflammatuar yanıt, bant benzeri infiltrasyon oluşturan ve tümöral glandlarda yıkım yapan peritümöral inflammatuar yanıt; yüksek dereceli inflammatuar yanıt olmak üzere skorlandı.



Resim 9. İnflamatuar hücre reaksiyonu değerlendirilmesi

- A. Grade 0 inflamasyon. K&M kriterlerine göre düşük dereceli peritümöral inflammatuar yanıt.
- B. Grade 1 inflamasyon. K&M kriterlerine göre düşük dereceli peritümöral inflammatuar yanıt.
- C. Grade 2 inflamasyon. K&M kriterlerine göre yüksek dereceli peritümöral inflammatuar yanıt.
- D. Grade 3 inflamasyon. K&M kriterlerine göre yüksek dereceli peritümöral inflammatuar yanıt.

3.2.2. Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyonun Değerlendirilmesi

Çalışmamızda H&E boyalı kesitlerde Graham metodu ve Ueno kriterleri kullanarak Crohn benzeri lenfoid reaksiyon açısından değerlendirme yapılmıştır. En büyük LA'nın boyutunu tayin etmede agregatın maksimum çapı belirlenerek, Ankara Üniversitesi BAP 14A0230003 nolu altyapı projesi kapsamında bölümümüze alınmış olan slayt tarayıcısı (Pannoramic 250 flash III, 3DHitech) ile taranan slayt üzerinden CaseViewer programı kullanılarak dijital ortamda ölçüm gerçekleştirilmiştir.

Graham metodunda (Graham ve Appelman) Crohn benzeri lenfoid reaksiyon tümör çevresindeki LA'ların sayısı ve germinal merkez durumları dikkate alınmaktadır. Buna göre [189]:

Grade 0: Tüm tümör kesitlerinde LA yok yada en fazla 1 tek küçük agregat var.

Grade 1: Germinal merkezi olmayan ya da nadir germinal merkezleri olan küçük LA'lar var.

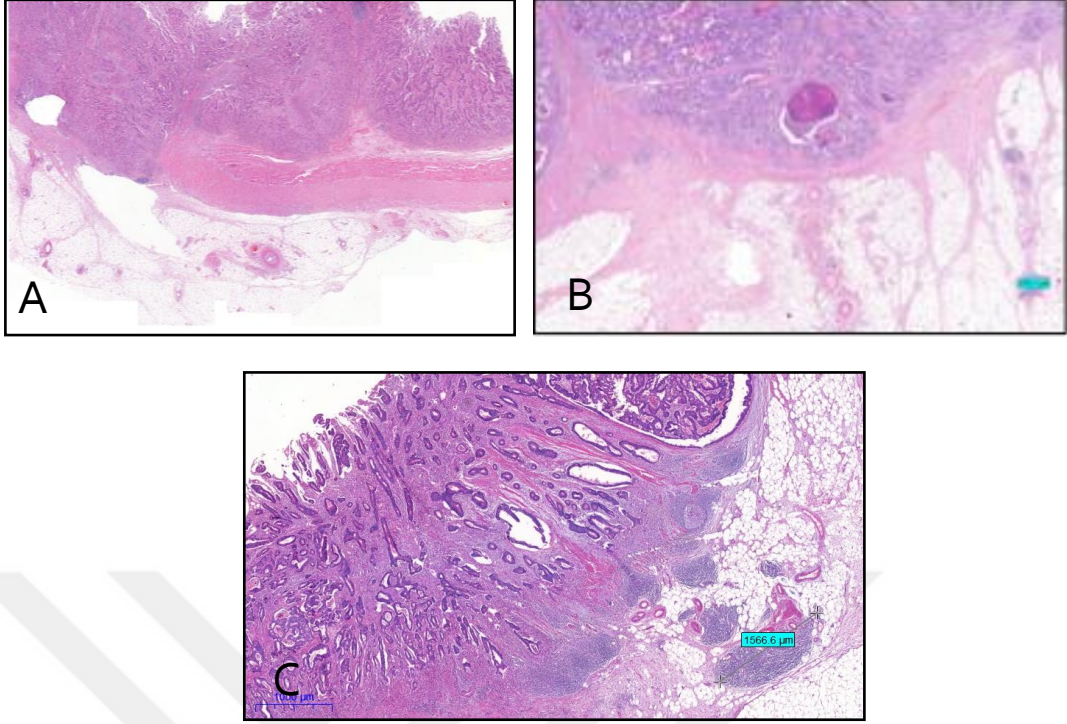
Grade 2: Sık germinal merkezleri olan çok sayıda büyük LA'lar var.

Ueno ve ark.'nın yönteminde Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun değerlendirilmesinde tümörün tüm slaytlardaki en büyük LA'sının uzun çapının ölçümü yapılmakta ve 1 mm sınır değer olarak belirlenmektedir. Buna göre olgular:

- Aktif (büyük LA boyutu): En büyük LA maksimum çapı ≥ 1 mm
- İnaktif (küçük LA boyutu): En büyük LA maksimum çapı < 1 mm

Ueno kriterleriyle ölçüm yaparken aşağıda belirtilen durumlar Crohn benzeri lenfoid reaksiyona dahil edilmemektedir:

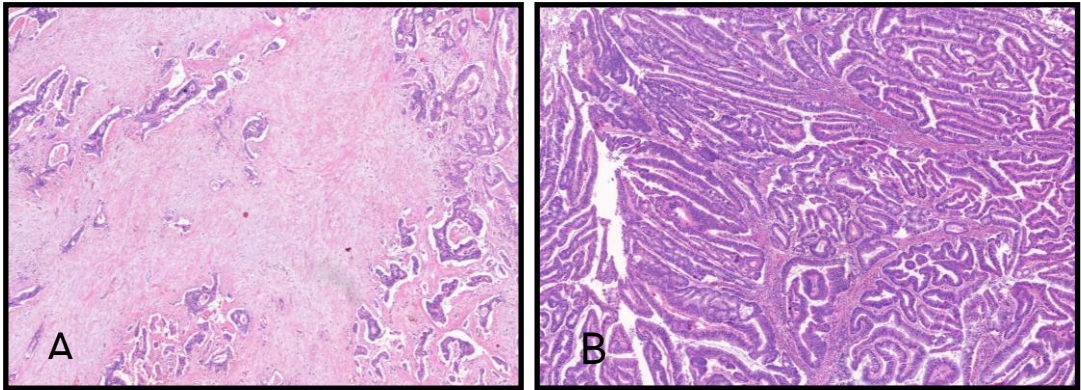
- Mukoza ilişkili lenfoid dokudaki agregatlar (MALT içinde veya muskularis mukozanın hemen altında bulunanlar),
- Lenf nodülünün hemen çevresinde bulunan agregatlar (küçük lenf düğümlerinin bir parçası olarak değerlendirilmektedir.)
- Düzensiz şekilli, uzun ve dar olan agregatlar dahil olmak üzere nodüler olmayan LA'lar



Resim 10. Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun derecelendirilmesi

- A. Grade 0: LA yok (Ueno kriterleri ile inaktif (küçük LA boyutu))
- B. Grade 1: Germinal merkezi olmayan küçük LAlar var. (Ueno kriterleri ile inaktif (küçük LA boyutu)(0,678))
- C. Grade 2: Sık germinal merkezleri olan çok sayıda büyük LAlar var. (Ueno kriterleri ile aktif /büyük LA boyutu (1,566 mm))

3.2.3. Tümör Stroma Oranının Değerlendirilmesi



Resim 11. Tümör stroma oranı (A. Stroma oranı yüksek B. Stroma oranı düşük KRK)

Tümör stroma oranı belirlenirken en yüksek miktarda stromaya sahip olan tümör alanı, $\times 4$ büyüme ile seçilip bu bölge içinde hem tümörün hem de stromal dokunun bulunduğu bir alan $\times 10$ büyütme (alanın dört bir kenarda da tümör adacıkları bulunması gerekmektedir) ile belirlenmiştir. Kas dokusu, nekrotik doku ve/veya geniş damar yapıları

(>3 kat kas hücreleri içeren damarlar) içermeyen bir alanı seçmeye özen gösterilmiş, bunun mümkün olmadığı durumlarda, değerlendirme sırasında bu elemanlar değerlendirmeden çıkarılmıştır. Müsinöz tümörlerde müsin, büyük glandüler yapıların lümenleri değerlendirmeye alınmamıştır. Lenfoid follikül varlığında bu lenfoid foliküller, kalın bağırsağın “native” histolojisini temsil edebileceği için bu bölgeler de göz ardı edilerek değerlendirme yapılmıştır. Tümör mikroçevresindeki ağır inflamasyon veya hyalinizasyon alanları stromanın bir parçası olduğu için skorlamaya dahil edilmiştir. Stroma miktarı %10'luk dilimler ile belirlemiş; değerlendirme sonucunda tümör stroma oranı >%50 olan olgular yüksek stroma içeren adenokarsinom; ≤%50 olan olgular da düşük stroma içeren adenokarsinom şeklinde gruplandırılmıştır.

3.2.4. Tümör Nekroz Oranının Değerlendirilmesi

Tümör nekrozunun değerlendirilmesi ×40 büyütmede mevcut tüm tümör bloklarının histolojik değerlendirmesine dayanarak olarak %10'luk skalalar ile değerlendirildi ve tümör nekrozu için şu şekilde skorlama yapıldı [190]:

- Skor 0: nekroz yok.
- Skor 1: Fokal nekroz mevcut (≤ %10).
- Skor 2: Orta derecede nekroz mevcut (%10 - 29)
- Skor 3: Geniş nekroz (≥30%)

3.2.5. Tümör Tomurcuklanması (Budding) Değerlendirilmesi

Tümör tomurcuklanması invaziv tümör çevresi stromada bulunan izole tümör hücreleri ya da en fazla 4 hücreden oluşan gruplar şeklinde tanımlanmaktadır. Tümör içi (intratümöral) veya tümör kenarında (peritümöral) olabilir. H&E boyalı kesitlerde tümör tomurcuğunu değerlendirmek için tüm tümör kesitleri taranıp (20x objektif) en fazla tomurcuklanması içeren blok seçilmiştir. Arşivden çıkarılan parafine gömülü blok materyallerinden hazırlanan 4 µm kalınlığındaki yeni kesitler bir camda 1 veya 2 olgu olacak şekilde gruplandırılmış, kesitler polilizin kaplı camlar üzerine alınarak H&E ile boyama yapılmış; değerlendirilmeye hazır hale getirilmiştir. Daha sonra bu kesitler slayt tarayıcısı (Pannoramic 250 flash III, 3DHistech) ile taranmış, slayt üzerinde CaseViewer programı kullanılarak dijital ortamda tümör tomurcuklanmasının en yoğun olduğu

alanlar x10'luk büyütmede seçilerek “hot spot”lar belirlenmiştir. ITBCC [4] konsensusunun önerisi olarak görüş alanı farklı mikroskoplar arasında büyük ölçüde değiştiğinden, alan boyutunun standardizasyonunu sağlamak amacıyla, 20x objektif lens alanına karşılık gelen 0,785 mm² her bir “hot spot” un boyutu olarak belirlenmiştir. Buna göre 10 tanesi invaziv kenarda ve bir tanesi intratümöral toplam 11 “hot spot” işaretlenmiş; bu alanlarda (x20 büyütmede) tümör tomurcuklanması sayılmıştır.

Hesaplanan tümör tomurcuklanması miktarına göre olgular değerlendirilen 1 BBA ve 10 BBA'nın ortalamasına göre ayrı ayrı 3 gruba ayrılmıştır:

0-4 tomurcuk: Düşük tomurcuklanma (Tt1)

5-9 tomurcuk: Orta dereceli tomurcuklanma (Tt2)

10 veya daha fazla tomurcuk: Yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3)

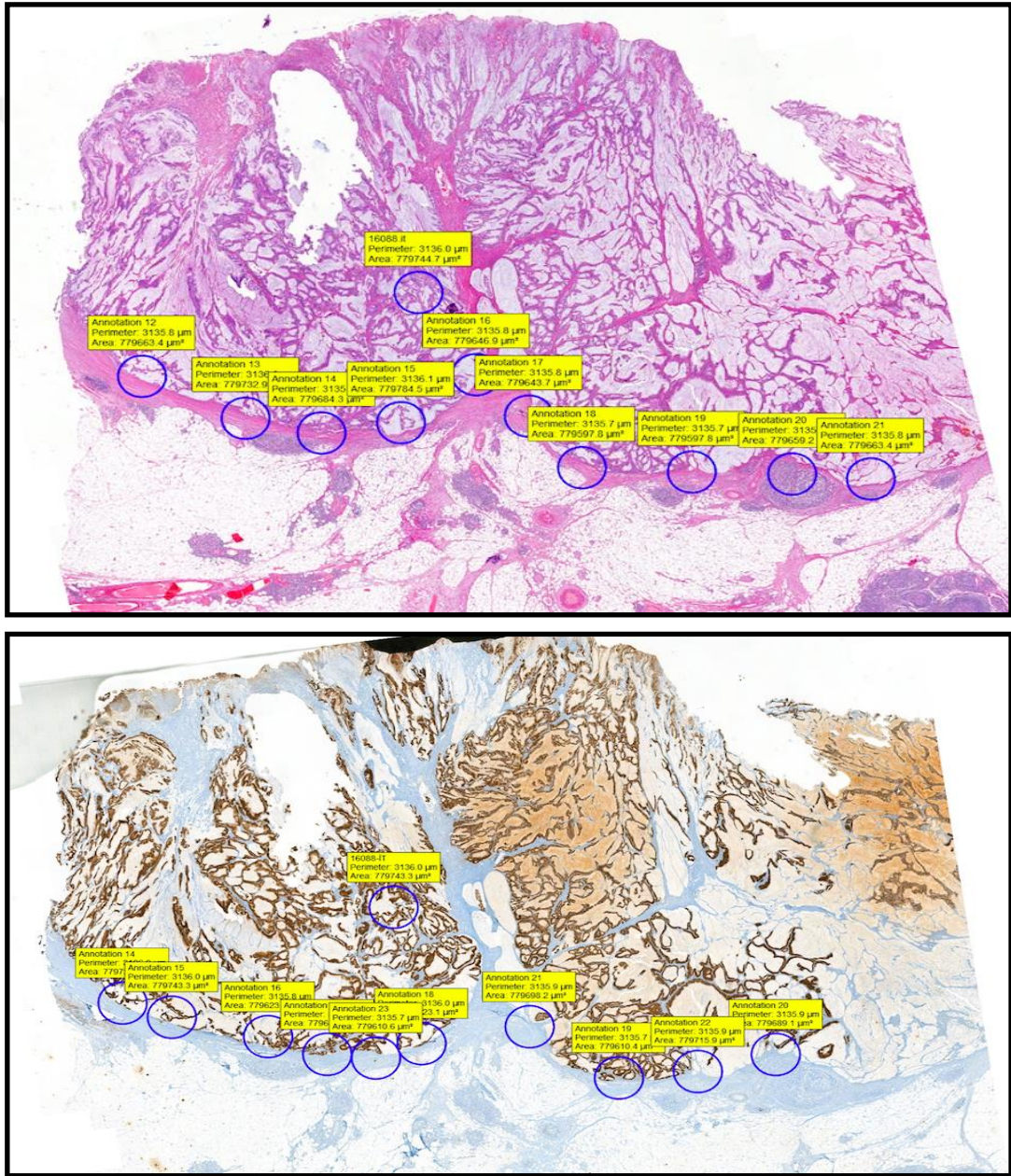
3.3. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BOYAMA

Hazırlanan 4 µm kalınlığındaki kesitler iki olguya ait kesitler bir camda 1 veya 2 olgu olacak şekilde gruplandırılmış, Anti-Keratin, antikor (klon: AE1/AE3 & PCK26; dilüsyon: 1/50) kullanılarak boyamalar gerçekleştirilmiştir. Boyamalar Ventana otomatik boyama cihazında (Ventana Medical Systems-Roche ABD) parafin deparafinizasyonu sonrasında streptavidin biotin peroksidaz yöntemi ile primer antikor olarak Ventana DAB Kit kullanılarak yapılmıştır. Antijen açığa çıkarma süresi 36 dakika, antikor inkübasyon süresi 24 dakika olarak düzenlenmiştir. Kas dokusundaki zemin boyanmasını azaltmak amacıyla ilave ek yıkama işlemi uygulanmıştır.

3.4. İMMÜNHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

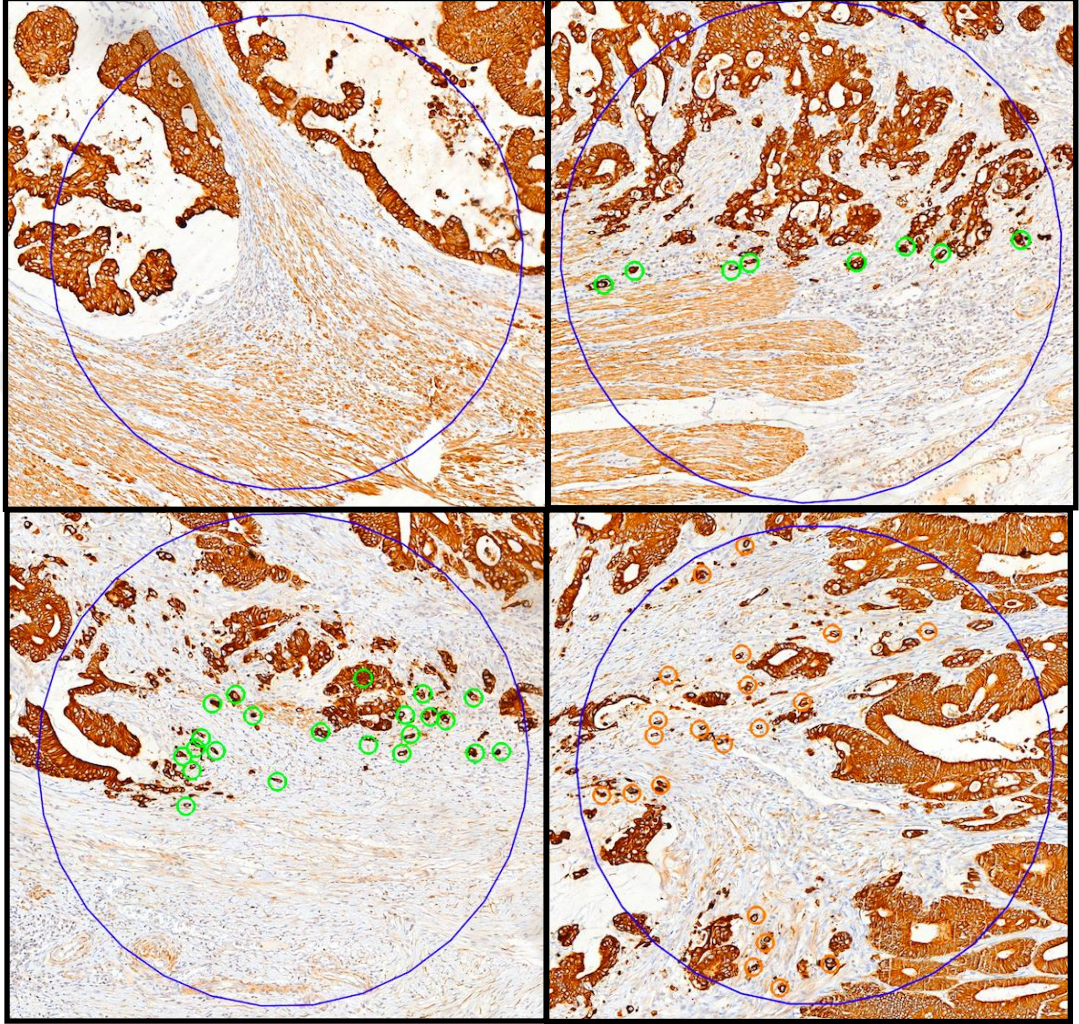
İmmünhistokimyasal boyama için seçilen bloklar bir camda bir yada iki olgu içerecek şekilde, bu kesitlere ait parafin bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler pozitif şarjlı lama alınmıştır. Değerlendirme yapılan alanda internal pozitif boyanmanın olduğu teyid edildikten sonra yapılmıştır. Tümör hücrelerinde membranöz ve sitoplazmik reaktivite pozitif boyanma olarak değerlendirilmiştir. Kesitler slayt tarayıcısı (Pannoramic 250 flash III, 3DHitech) ile taranmış, slayt üzerinde CaseViewer programı

kullanılarak dijital ortamda tümör tomurcuklanmasının en yoğun olduğu alanlar x10'luk büyütmede seçilerek 0,785 mm² boyutunda "hot spot"lar belirlenmiştir. 10 tanesi invaziv kenarda ve bir tanesi intratümöral toplam 11 "hot spot" işaretlenmiş; bu alanlarda x20 büyütmede tümör tomurcuklanması sayılmıştır. Sayım yapılırken Antisitokeratin ile boyanan küçük nükleus içermeyen sitoplazmik kırıntılar, tümör hücrelerini temsil etmediğinden değerlendirmede göz ardı edilmiştir. Her bir alandaki tümör tomurcukları işaretlenerek sayılmış ve tümör tomurcuklanması H&E boyalı kesitlerde olduğu gibi 3 gruba ayrılmıştır.



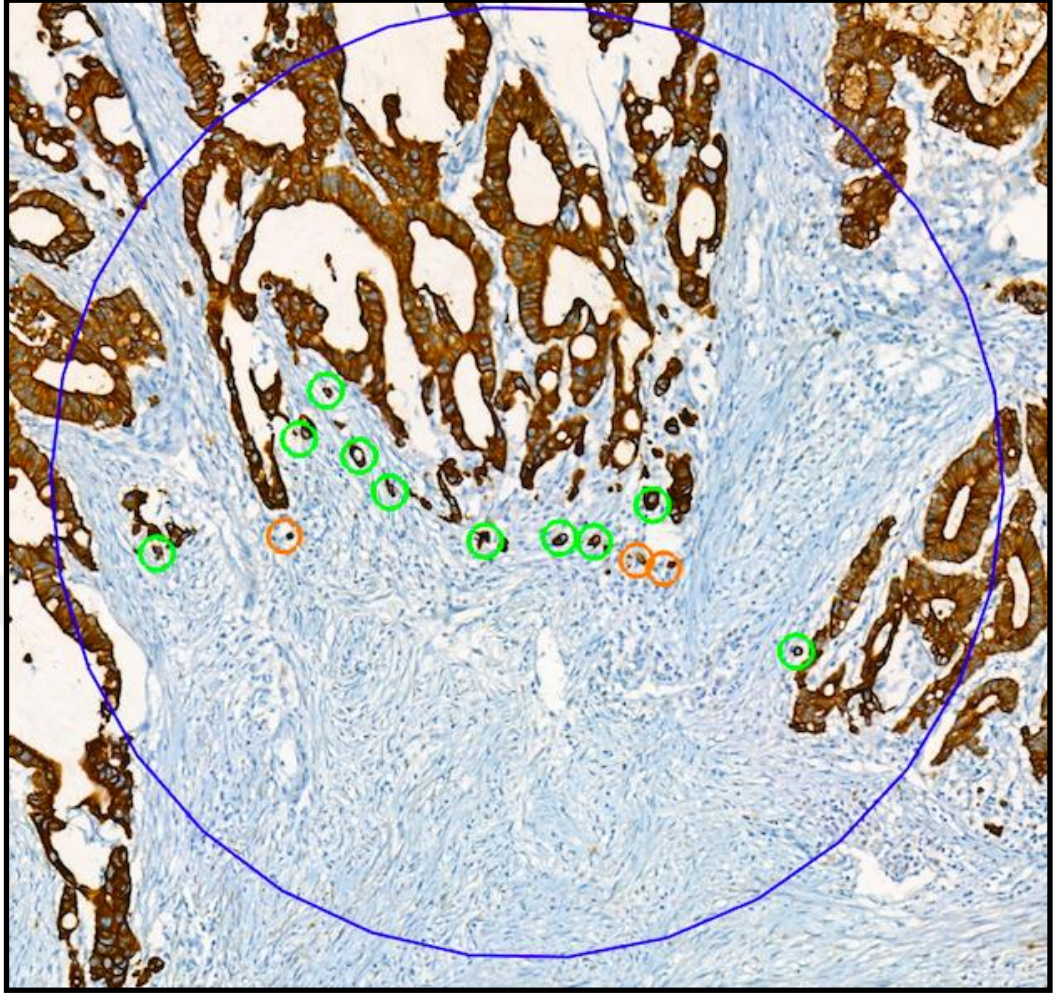
Resim 12. Tümör tomurcuklanmasının en yoğun olduğu alanların seçimi

0,785 mm² boyutunda “hot spot”lar .Yeşil halka ile nükleusları da seçilen tümör tomurcukları işaretlenmiştir. Pozitif olarak kabul edilmeyen sitoplazmik artıklar ise turuncu halka ile gösterilmiştir.



Resim 13. Aynı tümöre ait değişik düzeyde tümör tomurcuklanması alanları

- A. Peritümöral düşük dereceli tomurcuklanma
- B. Peritümöral orta dereceli tomurcuklanma
- C. Peritümöral yüksek dereceli tomurcuklanma
- D. İntratümöral yüksek dereceli tomurcuklanma



Resim 14. Tümör tomurcuklarının x40 büyütme ile gösterimi.

Yeşil halka ile işaretlenen hücreler içerisinde boyanmamış nükleusları seçilen tomurcuklar iken turuncu halka içindeki kırıntılar gerçek bir nükleus içermeyen “psödo-buds”lar.

3.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışmanın istatistiksel analizlerinde SPSS 10.0 programı kullanılmıştır. Parametrelerimizin sağ kalım ve hastalıksız yaşam ile ilişkisini belirlemede Kaplan Meier, klinikopatolojik değişkenlerin bağımsız gruplar arasında karşılaştırılması amacıyla Mann-Whitney U testi, kategorik değişkenler bakımından gruplar arası ilişki ya da gruplar arası farklılıkların değerlendirilmesinde ki-kare ve Fisher’ in exact testi kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistik olarak değişkenler için yüzde ve frekans dağılımları, sürekli değişkenler için ise ortanca (minimum ve maksimum) değer verilmiştir. İstatistiksel anlamlılık sınır $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

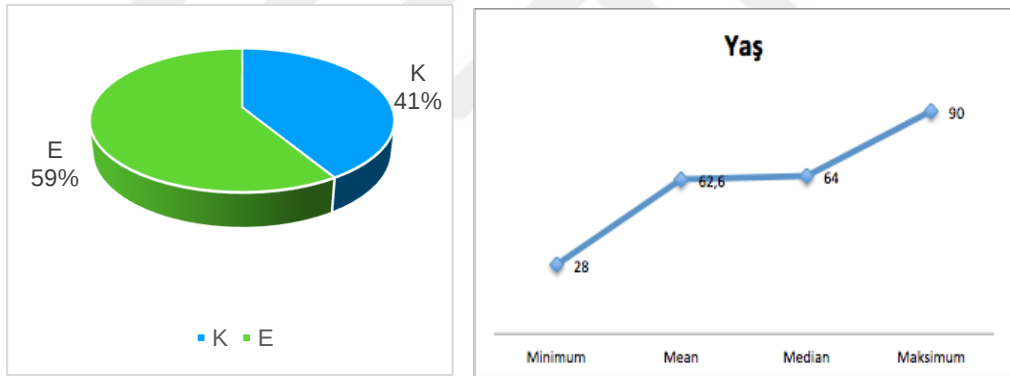
4.1. OLGULAR

Çalışmamıza kolon adenokarsinomu tanısı almış, rezeksiyon materyaline ait patoloji kaydı ve parafin blokları bulunan bulunan 288 KRK olgusu dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan olguların histolojik alt tip dökümü tablo 5’te belirtilmiştir.

Tablo 6. Olgu gruplarının dağılımı

Histolojik Tip	Olgu Sayısı (n)
<u>Konvansiyonel Adenokarsinoma</u>	232
<u>Müsinöz adenokarsinoma</u>	53
<u>Taşlı yüzük hücreli karsinom</u>	3

4.1.1. Genel Bulgular

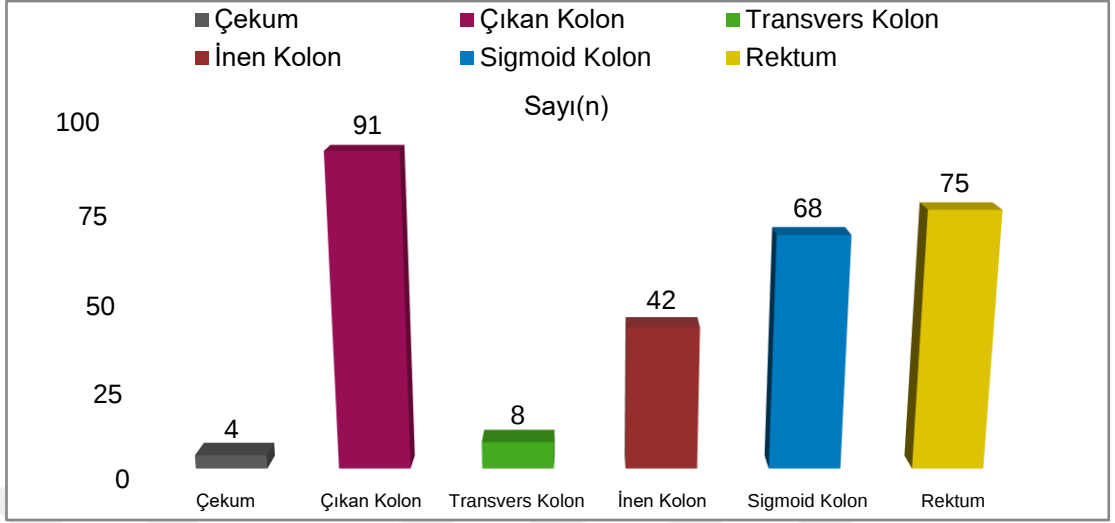


Şekil 4. Olguların yaş ve cinsiyet dağılımı

Çalışmaya dahil edilen kolorektal adenokarsinom tanısı almış 288 olgunun 169’u (%58,7) erkek, 119’u (%41,3) kadındır (Şekil 4).

Olguların yaş dağılımı 28-90 yaşları arasında olup, ortalama yaş 62.66’tir (kadın: 62,6; erkek: 62,6).

4.1.2. Makroskopik Bulgular



Şekil 5. Olguların lokalizasyon dağılımı

Olguların 4'ünde (%1,4) çekum, 91' inde (%31,6) çıkan kolon, 8'inde (%2,8) transvers kolon, 42' sinde (%14,6) inen kolon, 68' inde (%23,6) sigmoid kolon, 75'inde (%26) rektum yerleşimli tümör bulunmaktadır (Tablo 7). Gruplandırıldığında 103 olgu sağ kolon, 110 olgu sol kolon- sigmoid kolon ve 75 olgu rektumda lokalizedir (Şekil 5).

Tümör uzun çapı 1 cm ile 17 cm arasında değişmekte olup, ortalama çap 5,2 cm'dir. Tümörler makroskopik olarak değerlendirildiğinde 178 tanesi (%61,8) ülserovejetan, 49 tanesi (%17) polipoid, 61 tanesi (%21,2) ülser görünümde izlenmiştir.

Histolojik değerlendirmeler minimum 2 (sadece 1 olguda) maksimum 15 adet tümör kesiti üzerinden yapılmıştır. Olgu başına ortalama değerlendirilen kesit sayısı ise 6,19'dur.

4.1.3. Tümör Grade ve Evresi

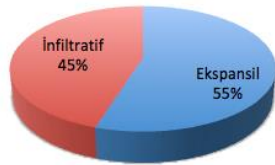
Olgular TNM evrelemesi uygulanarak değerlendirildiğinde, tümörlerin 3'ünün (%1) T1, 15'inin (%5,2) T2, 200'ünün (%69,4) T3, 49'unun (%17) T4a, 21'inin (%7,2) T4b evresinde olduğu görülmüştür. Metastatik lenf nodülü sayısına göre değerlendirilen

N evresi 150 (%52,1) olguda N0, 46 (%16) olguda N1a, 37 (%12,8) olguda N1b, 14 (%4,9) olguda N1c, 23 (%8) olguda N2a ve 18 (%6,3) olguda N2b olarak belirlenmiştir. Metastatik lenf nodülleri ayrıntılı olarak incelendiğinde 164 tane lenf nodülü metastazı bulundurmeyen hastaların 14 tanesinde satellite lenf nodülü varlığı görülmüş bu nedenle N1c olarak değerlendirilmiştir. Toplam diseksiyon yapılan lenf nodülü sayısı 1 ile 104 arasında değişmekte olup; olgu başına ortalama 24,4 lenf nodülü değerlendirilmiştir. 239 vakada 12 ve üstü lenf nodülü eksize edilmiştir. Tümör depoziti ise 59 (%20,5) olguda görülmüştür. Metastaz izlenen 124 lenf nodülünden 45 tanesinde (%37,0) en az bir lenf nodülünde ekstrakapsüler yayılım izlenmiştir.

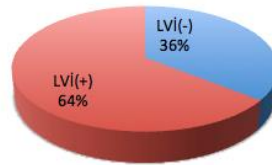
Tablo 7. Olguların TNM'ye göre dağılımı

TNM	Olgu Sayısı (%)
<u>T1</u>	3 (%1)
<u>T2</u>	15 (%5,2)
<u>T3</u>	200 (%69,4)
<u>T4a</u>	49 (%17)
<u>T4b</u>	21 (%7,2)
<u>N0</u>	150 (%52,1)
<u>N1a</u>	46 (%16)
<u>N1b</u>	37 (%12,8)
<u>N1c</u>	14 (%4,9)
<u>N2a</u>	23 (%8)
<u>N2b</u>	18 (%6,3)
<u>M0</u>	288 (%100)

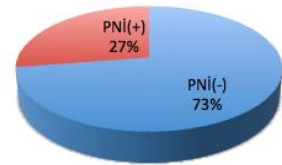
Tümör invazyon paterni dağılımı



Lenfovasküler invazyon dağılımı



Perinöral invazyon dağılımı

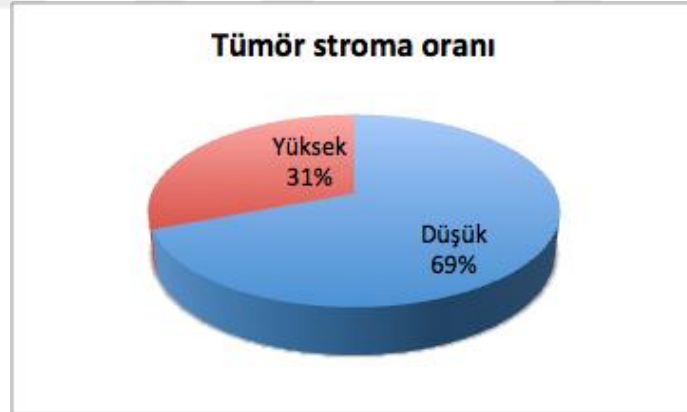


Olguların hiç birinde tanı anında uzak organ metastazı bulunmamaktadır. Histolojik olarak 232 (%80,5) olgu konvansiyonel adenokarsinom, 53 olgu müsinöz adenokarsinom (%18,4) ve 3 olgu (%1) taşlı yüzük hücreli karsinom ile uyumludur. Konvansiyonel adenokarsinom tanısı alan olgulardan 2 tanesi (%0,8) Grade 1, 203 tanesi (%86,5) Grade 2, 31 tanesi (%12,7) Grade 3 özelliğindedir.

Rektum lokalizasyonlu tümör nedeniyle opere olan 75 olgudan 39'unda mezokolik eksizyonun yeterliliği bilgisine ulaşılabilmiş olup bunlardan 30 tanesinde mezokolik eksizyon fasiyal düzlemde 9 tanesinde ise intramezokolik düzlemde izlenmiştir. 164 olguda eşlik eden adenomatöz polip, 11 olguda da ise hiperplastik polip görülmüştür. 11 olguda tümör dışını kolon mukozasında divertikül gelişimi, 1 olguda apendikte insidental Grade 1 nöroendokrin tümör izlenmiştir.

4.1.4. Tümör Stroma Oranı

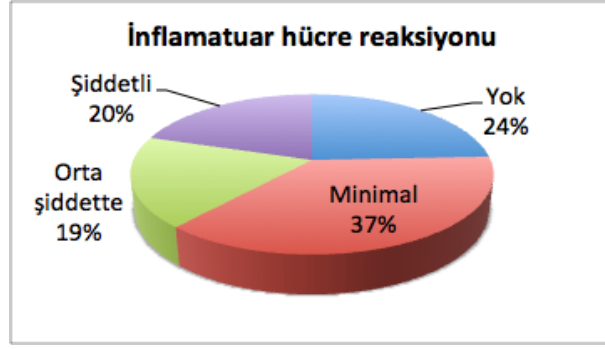
Tümör stroma oranı %10' luk skalaya göre değerlendirilmiştir. 68 (%23,6) olguda %10 oranında, 59 (%20,5) olguda %20 oranında, 38 (%13,2) olguda %30 oranında, 34 (%11,8) olguda %40 oranında, 50 (%17,4) olguda %60 oranında, 21 (%7,3) olguda %70 oranında, 15 (%5,2) olguda %80 oranında, 3 (%1) olguda %90 oranında stroma izlenmiştir. Olgular stroma oranlarına göre (<50 ; ≥ 50) gruplandırıldığında tümör stroma oranı 199 (%69,1) olguda düşük iken; 89 (%30,9) olguda tümör stroma oranı yüksek olarak belirlenmiştir.



Şekil 6. Olguların tümör stroma oranlarına göre dağılımı

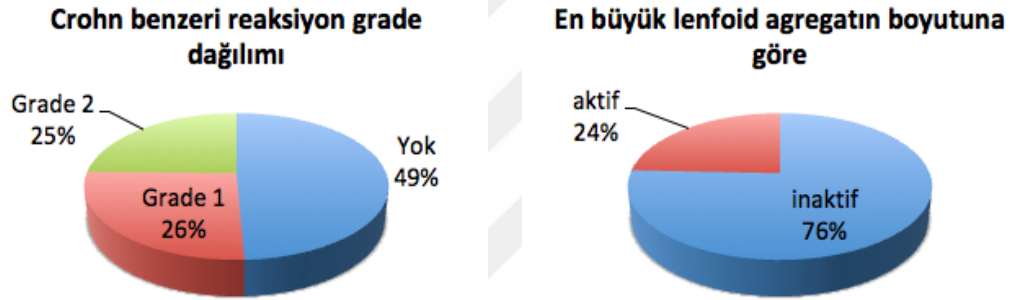
4.1.5. İnflamatuar hücre reaksiyonu

İnflamatuar hücre reaksiyonu 70 (%24,3) olguda izlenmezken, 107 (%37,2) olguda minimal, 53 (%18,4) olguda orta şiddette ve 58 (%20,1) olguda şiddetli olarak saptanmıştır. Sonuçta olgular gruplandırıldığında 177 (%61,5) olgu düşük düzeyde, 111 (%38,5) olgu ise yüksek düzeyde inflammatuar hücre reaksiyonu içermektedir.



Şekil 7. Olguların inflamatuvar hücre reaksiyonu varlığına göre dağılımı

4.1.6. Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyon



Şekil 8. Olgularda Crohn benzeri lenfoid reaksiyon dağılımı

Crohn benzeri lenfoid reaksiyon 142 (%49,3) olguda izlenmezken, 75 (%26,0) olguda germinal merkez içermeyen ya da nadir germinal merkezleri olan küçük LA'lar içeren Grade 1 düzeyinde reaksiyon izlenirken; 71 (%24,7) olguda sık ve belirgin germinal merkezler içeren LA'lar görülmüştür. En büyük LA'ların boyutu değerlendirildiğinde ise 218 olguda en büyük agregat 1 mm den daha kısa bir uzun çapa sahip (inaktif) iken, 70 olguda en büyük LA 1mm ve üstü uzun çapa sahiptir (aktif).

4.1.7. Tümör Nekroz Oranı

Nekroz %10'luk dilimler halinde değerlendirildiğinde sadece 54 olguda nekroz izlenmemiş, 134 olguda %10 ve altında sınırlı nekroz görülmüş, 50 olguda %20 ve 50 olguda %30 ve üzeri nekroz saptanmıştır.

4.1.8. Tümör İnvazyon Paterni

Olgular invazyon paternine göre değerlendirildiğinde 158 (%54,9) olgu ekspansil/ itici tarzda invazyon gösterirken; 130 (%45,1) olgu ise infiltratif paternde invazyon göstermektedir.

4.1.9. Lenfovasküler ve Perinöral İnvazyon Durumu

Lenfovasküler invazyon 103 (%35,8) olguda izlenmezken, 185 (%64,2) olguda görülmüştür. Perinöral invazyon 79 (%27,4) olguda izlenirken; 209 (%72,6) olguda görülmemiştir.

4.1.10. Konvansiyonel Adenokarsinom Olgularında Ekstrasellüler Müsin Dağılımı

Adenokarsinom tanılı 232 olguda ekstrasellüler müsin dağılımı %10'luk skalada değerlendirildiğinde 4 olguda %40,8 olguda %30,12 olguda %20,32 olguda %10 ekstrasellüler müsin yapımı görülmüş, 176 olguda ekstrasellüler müsin yapımı izlenmemiştir.

4.2. HİSTOLOJİK PARAMETRELERİN BİRBİRLERİ İLE İLİŞKİLERİ

4.2.1. Tümör Lokalizasyonu ile Diğer Histolojik Parametrelerin İlişkisi

4.2.1.1. Tümör Lokalizasyonu ile İnflamatuar Hücre Reaksiyonu İlişkisi

Tümör lokalizasyonu ile inflammatuar hücre reaksiyonu değerlendirildiğinde sağ kolon yerleşimi 103 tümörden 68'inde (%66) düşük, 35'inde (%34) yüksek, sol kolon yerleşimli 110 tümörden 64'ünde (%58,2) düşük, 46'sında (%41,8) yüksek; rektum yerleşimli 75 tümörden de 45'inde (%60) düşük 30'unda (%40) yüksek inflammatuar hücre reaksiyonu izlenmiş; inflammatuar hücre reaksiyonu ve tümör lokalizasyonu arasında ilişki saptanmamıştır (p: 0,636).

Tablo 8. Tümör lokalizasyonu ile inflamatuvar hücre reaksiyonu ilişkisi

Lokalizasyon		İnflamatuvar Hücre Reaksiyonu						Toplam
		Düşük			Yüksek			
		Yok	Minimal	Toplam	Orta şiddette	Şiddetli	Toplam	
Sağ kolon	n	26	42	68	16	19	35	103
	%	%25,2	%40,8	%66,0	%15,5	%18,4	%34,0	%100,0
Sol kolon - sigmoid	n	25	39	64	21	25	46	110
	%	%22,7	%35,5	%58,2	%19,1	%22,7	%41,8	%100,0
Rektum	n	19	26	45	16	14	30	75
	%	%25,3	%34,7	%60,0	%21,3	%18,7	%40,0	%100,0
Toplam	n	70	107	177	53	58	111	288
	%	%24,3	%37,2	%61,5	%18,4	%20,1	%38,5	%100,0

4.2.1.2. Tümör lokalizasyonunun Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyon ile Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyondaki En Büyük Lenfoid Agregatın Boyutu İlişkisi

Tümör lokalizasyonu ile Crohn benzeri lenfoid reaksiyon Grade ve boyut dağılımı Tablo 8 ile verilmiştir. Buna göre sağ kolon lokalizasyonlu tümörlerde Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun Grade'i (p: 0,126) ve en büyük LA'nın uzun çapının 1mm ve üstü olması (p: 0,239) diğer lokalizasyonlara göre yüksek oranda saptanmıştır.

Tablo 9. Tümör lokalizasyonunun Crohn benzeri lenfoid reaksiyon ile Crohn benzeri lenfoid reaksiyondaki en büyük LA'nın boyutu ilişkisi

Yerleşim	Crohn benzeri lenfoid reaksiyon Grade				Crohn benzeri lenfoid reaksiyonda en büyük lenfoma agregatın boyutu		
	0	1	2	Total	<1mm	≥1mm	Total
Sağ kolon	n 43	28	32	103	72	31	103
	% %41,7	%27,2	%31,1	%100,0	%69,9	%30,1	%100,0
Sol kolon - sigmoid	n 64	24	22	110	89	21	110
	% %58,2	%21,8	%20,0	%100,0	%80,9	%19,1	%100,0
Rektum	n 35	23	17	75	57	18	75
	% %46,7	%30,7	%22,7	%100,0	%76,0	%24,0	%100,0
Toplam	n 142	75	71	288	218	70	288
	% %49,3	%26,0	%24,7	%100,0	%75,7	%24,3	%100,0

4.2.2. Histolojik Alt Tip ile Diğer Morfolojik Parametrelerin İlişkisi

4.2.2.1. Histolojik Alt Tip ile Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyon ile Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyondaki En Büyük Lenfoid Agregatın Boyutunun İlişkisi

Tümör histolojik alt tipi ile Crohn benzeri lenfoid reaksiyon Grade ve en büyük LA'nın boyutu ilişkisi Tablo 9 ile gösterilmiştir. Bu verilere göre tümörün histolojik alt tipi ile Crohn benzeri lenfoid reaksiyon Grade'i değerlendirildiğinde müsinöz adenokarsinomlarda konvansiyonel adenokarsinoma kıyasla daha fazla Crohn benzeri lenfoid reaksiyon olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Ancak tümör histolojik alt tipi ile Crohn benzeri lenfoid reaksiyondaki en büyük LA'nın boyutu arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p: 0,141$).

Tablo 10. Histolojik tip ile Crohn benzeri lenfoid reaksiyon ve Crohn benzeri lenfoid reaksiyondaki en büyük LA'nın boyutunun ilişkisi

Tanı		Crohn benzeri lenfoid reaksiyon Grade				Crohn benzeri lenfoid reaksiyonda en büyük lenfoma agregatın boyutu		
		0	1	2	Toplam	0	1	Toplam
Konvansiyonel adenokarsinom	n	120	60	52	232	178	54	232
	%	%51,9	%26,0	%22,1	%100,0	%77,1	%22,9	%100,0
Müsinöz adenokarsinom	n	21	14	18	53	38	15	53
	%	%39,6	%26,4	%34,0	%100,0	%71,7	%28,3	%100,0
Taşlı yüzük hücreli karsinom	n	1	1	1	3	2	1	3
	%	%33,3	%33,3	%33,3	%100,0	%66,7	%33,3	%100,0
Toplam	n	142	75	71	288	218	70	288
	%	%49,3	%26,0	%24,7	%100,0	%75,7	%24,3	%100,0

4.2.2.2. Histolojik Alt Tip ile İnflamatuar Hücre Reaksiyonu İlişkisi

Histolojik alt tip ile inflammatuar hücre reaksiyonu ilişkisi değerlendirildiğinde konvansiyonel adenokarsinom olgularının %58'inde (n:137), düşük düzeyde inflammatuar hücre reaksiyonu izlenirken; müsinöz adenokarsinom tanılı olguların %73,6'sında (n: 39) düşük düzeyde inflammatuar hücre reaksiyonu izlemiştir. Müsinöz

tümörlerde inflamatuvar hücre reaksiyonu konvansiyonel adenokarsinom olgularına göre belirgin olarak daha az saptanmıştır ($p<0.05$).

Tablo 11. Histolojik tip ile inflamatuvar hücre reaksiyonu ilişkisi

Tanı		İnflamatuvar Hücre Reaksiyonu						Toplam
		Yok	Minimal	Orta şiddette	Şiddetli	Düşük	Belirgin	
Konvansiyonel adenokarsinom	n	45	90	44	53	137	97	232
	%	%19,0	%39,0	%19,0	%22,9	%58,0	%42,0	%100,0
Müsinöz adenokarsinom	n	22	17	9	5	39	14	53
	%	%41,5	%32,1	%17,0	%9,4	%73,6	%26,4	%100,0
Taşlı yüzük hücreli karsinom	n	3	0	0	0	3	0	3
	%	%100,0	%0,0	%0,0	%0,0	%100,0	%0,0	%100,0
Toplam	n	70	107	53	58	177	111	288
	%	%24,3	%37,2	%18,4	%20,1	%61,5	%38,5	%100,0

4.2.2.3. Histolojik Alt Tip ile Tümör Makroskopik Görünümü ve Tümör Stroma Oranı İlişkisi

Histolojik alt tip ile tümör stroma oranı ilişkisi değerlendirildiğinde konvansiyonel adenokarsinomlarda tümör stroma oranı müsinöz adenokarsinoma göre daha belirgin izlenmiş; istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır ($p<0.05$). Tümörün makroskopik görünümü histolojik alt tiplere göre değerlendirildiğinde ise konvansiyonel adenokarsinomlarda ülserovejetan görünüm hakim olarak izlenirken, müsinöz adenokarsinomlarda polipoid morfoloji diğer tiplere kıyasla daha fazla görülmüştür ($p<0.05$).

Tablo 12. Histolojik tip ile makroskopik görünüm ve tümör stroma oranı ilişkisi

Tanı		Makroskopik görünüm			Stroma oranı		Toplam
		Ülserovejetan	Ülsere	Polipoid	Düşük stroma	Yüksek stroma	
Konvansiyonel adenokarsinom	n	150	51	30	148	84	232
	%	%64,9	%22,1	%13,0	%63,6	%36,4	%100,0
Müsinöz adenokarsinom	n	26	8	19	48	5	53
	%	%49,1	%15,1	%35,8	%90,6	%9,4	%100,0
Taşlı yüzük hücreli karsinom	n	176	59	49	195	89	284
	%	%62,0	%20,8	%17,3	%68,7	%31,3	%100,0

4.2.3. Müsinöz Adenokarsinomların Morfolojik Değerlendirilmesi

Müsinöz adenokarsinomların %52,8 'i (n:28) sağ kolonda, %17'si (n:9) sol kolon ve sigmoid kolonda, %30,2'si (n:16) rektumda lokalize iken konvansiyonel adenokarsinomların %31,2 si sağ kolonda lokalizedir. Sonuç olarak müsinöz tümörlerimiz en sık sağ kolonda, daha sonra rektumda en nadir olarak da sol kolonda izlenmiştir ($p<0.05$). T evresine göre bakıldığında ise 53 müsinöz tümör olgusunda 2 olgu (%3,8) T2, 41 olgu (%77,4) T3, 10 olgu (%18,9) ise T4 evreside izlenmiş; T1 olgu saptanmamıştır. Konvansiyonel adenokarsinom tanılı olgularla karşılaştırıldığında T evresi dağılımında fark izlenmemiştir ($p:0,832$).

Tablo 13. Müsinöz ve Konvansiyonel adenokarsinomların lokalizasyon dağılımı

Tanı		Tümör Lokalizasyonu			
		Sağ kolon	Sol kolon -sigmoid	Rektum	Toplam
Adenokarsinom	n	73	100	59	232
	%	%31,2	%43,3	%25,5	%100,0
	n	%72,0	%91,7	%78,7	%81,3
Müsinöz adenokarsinom	%	28	9	16	53
	n	%52,8	%17,0	%30,2	%100,0
	%	%28,0	%8,3	%21,3	%18,7
Toplam	n	101	109	75	285
	%	%35,2	%38,4	%26,4	%100,0

Müsinöz adenokarsinomların makroskopik olarak %49,1'i (n:26) ülserovejetan, %15,1'i (n:8) ülser, %35,8'i (n:19) polipoid görünümde izlenmiştir. Konvansiyonel adenokarsinom olguları ile kıyaslandığında ise müsinöz adenokarsinomlarda makroskopik olarak polipoid görünüm daha sık izlenmiştir ($p<0.05$). 53 müsinöz adenokarsinom olgusunun %9,4'ünde (n:5), 232 konvansiyonel adenokarsinom olgusunun ise %36,4'ünde (n:84) yüksek stromal oran görülmüştür (Tablo 13) Müsinöz adenokarsinomlarda tümör stroma oranı konvansiyonel adenokarsinoma göre belirgin olarak daha düşüktür ($p<0.05$).

Tablo 14. Müsinöz ve Konvansiyonel adenokarsinomlarda inflamatuvar hücre reaksiyonu ve Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun Grade dağılımı

Tanı		İnflamatuvar hücre reaksiyonu			Crohn benzeri lenfoid reaksiyon Grade			
		Düşük	Belirgin	Toplam	0	1	2	Toplam
Konvansiyonel adenokarsinom	n	135	97	232	120	60	52	232
	%	%58,0	%42,0	%100,0	%51,9	%26,0	%22,1	%100,0
Müsinöz adenokarsinom	n	39	14	53	21	14	18	53
	%	%73,6	%26,4	%100,0	%39,6	%26,4	%34,0	%100,0
Toplam	n	173	111	284	141	74	69	284
	%	%60,9	%39,1	%100,0	%49,6	%26,1	%24,3	%100,0

Konvansiyonel adenokarsinomlar ile müsinöz adenokarsinomlar arasında lenf nodülü metastazında ekstrakapsüler invazyon, tümör depoziti yüzdesi, N evresi açısından istatistiksel anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$).

Müsinöz adenokarsinom tanılı olgularda adenokarsinomlara göre inflamatuvar hücre reaksiyonu belirgin olarak daha düşük iken ($p<0.05$), Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun Grade'i ve boyutunda anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

4.3. TÜMÖR TOMURCUKLANMASININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Tümör tomurcuklanması tüm olgularda tümörün invaziv sınırında en yüksek tümör tomurcuklanması içeren 1 ve 10 BBA'da ve tümörün ortasında en yüksek tümör tomurcuklanmasını içeren 1 BBA'da; hem H&E, hem de İHK boyalı kesitlerde değerlendirilmiştir. Olgularda tomurcuklanma dağılımı Tablo 14 ile gösterilmiştir.

Tablo 15. Olguların tümör tomurcuklanması dağılımı

Tümör tomurcuklanması	Alan(BBA)	Tümör tomurcuklanması		
		Düşük(n)	Orta(n)	Yüksek(n)
Peritümöral	H&E 10BBA	209 (%72,6)	57 (%19,8)	22 (%7,6)
	H&E 1 BBA	156 (%54,2)	73 (%25,3)	59 (%20,5)
	İHK 10 BBA	155 (%53,7)	78 (%27,2)	55 (%19,2)
	İHK 1 BBA	84 (%29,2)	79 (%27,4)	125 (43,4)
İntratümöral	H&E 1 BBA	203 (%70,4)	44 (%15,2)	41 (%14,2)
	İHK 1 BBA	135 (%46,8)	66 (%22,9)	87 (%30,2)

4.3.1. Tümör Tomurcuklanmasının (Budding) Histolojik Parametreler ile İlişkisi

10 BBA'da İHK boyalı kesitlerde yapılan incelemede 168 erkek olgunun 101'inde (%65,6) düşük derecede tümör tomurcuklanması, 40 tanesinde (%23,7) orta derecede tümör tomurcuklanması, 28 tanesinde (%16,6) yüksek derecede tümör tomurcuklanması tespit edilmiştir. 119 kadın olgunun ise 53 tanesinde (44,5) düşük derecede tümör tomurcuklanması, 39 tanesinde (%32,8) orta derecede tümör tomurcuklanması, 27 tanesinde (%22,7) yüksek derecede tümör tomurcuklanması izlenmiştir. Erkek hastalarda kadınlara göre belirgin şekilde daha düşük tomurcuklanma izlenmiştir ($p<0.05$). Tomurcuklanma ile yaş, tümör Grade'i, tümör lokalizasyonu, T evresi, tümör boyutu arasında ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$).

4.3.1.1. Tümör Tomurcuklanmasının (Budding) Tümörün Makroskopik Görünümü ile İlişkisi:

Tablo 16. Tümör tomurcuklanmasının tümörün makroskopik görünümü ile ilişkisi

Tomurcuklanma İHK 10 BBA)		Tümörün makroskopik görünümü			
		Ülserovejetan	Ülsere	Polipoid	Toplam
Düşük derece tomurcuklanma	n	84	33	37	154
	%	%54,5	%21,4	%24,0	%100,0
Orta derecede tomurcuklanma	n	56	15	8	79
	%	%70,9	%19,0	%10,1	%100,0
Yüksek derecede tomurcuklanma	n	38	13	4	55
	%	%69,1	%23,6	%7,3	%100,0
Toplam	n	178	61	49	288
	%	%61,8	%21,2	%17,0	%100,0

Tümör tomurcuklanması ile tümörün makroskopik olarak ülserovejetan, ülsere ya da polipoid olması ilişkisine bakıldığında; ülsere ve ülserovejetan görünümdeki olgularda tomurcuklanma daha fazla izlenirken; polipoid görünümlü tümörlerde tomurcuklanma belirgin olarak daha düşük saptanmıştır ($p:0,002$) (Tablo15).

4.3.1.2. Tümör Tomurcuklanmasının Tümörün Histolojik Alt Tipi ile İlişkisi

Konvansiyonel adenokarsinomlar ve müsinöz adenokarsinomlarda tümör tomurcuklanması değerlendirildiğinde hem H&E hem de İHK boyalı kesitlerde müsinöz tümörlerde tomurcuklanma belirgin olarak daha düşük bulunmuştur (Tablo 16) ($p<0.05$).

Tablo 17. Tümör tomurcuklanmasının tümörün histolojik alt tipi ile ilişkisi

Tanı		H&E 10 BBA tomurcuklanma			İHK 10 BBA tomurcuklanma			Toplam
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
Konvansiyonel adenokarsinom	n	161	51	20	112	69	51	232
	%	%69,3	%22,1	%8,7	%48,1	%29,9	%22,1	%100,0
Müsinöz adenokarsinom	n	46	6	1	42	8	3	53
	%	%86,8	%11,3	%1,9	%79,2	%15,1	%5,7	%100,0
Toplam	n	206	57	21	153	77	54	285
	%	%72,5	%20,1	%7,4	%53,9	%27,1	%19,0	%100,0

4.3.1.3. Tümör Tomurcuklanması ile Tümörün İnvazyon Paterni İlişkisi

Tablo 18. H&E boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının tümörün invazyon paterni ile ilişkisi

Tümörün invazyon paterni		Tomurcuklanma H&E 10 BBA			Tomurcuklanma H&E 1 BBA			Toplam
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
Ekspansil	n	130	22	6	99	35	24	158
	%	%62,2	%38,6	%27,3	%63,5	%47,9	%40,7	%54,9
İnfiltratif	n	79	35	16	57	38	35	130
	%	%37,8	%61,4	%72,7	%36,5	%52,1	%59,3	%45,1
Toplam	n	209	57	22	156	73	59	288
	%	%72,57	%19,79	%7,64	%54,16	%25,35	%20,49	%100,0

H&E boyalı kesitlerde düşük dereceli tomurcuklanan 209 olgunun 130'unda (%62,2) ekspansil paternde invazyon izlenirken; 79'unda (%37,8) infiltratif paternde invazyon izlenmiştir. Yüksek derecede tomurcuklanan 22 olgunun ise 6 (%27,3)

tanesinde ekspansil paten izlenirken; 16 (%72,7) tanesinde infiltratif paten izlenmiştir. 1 BBA’da yapılan değerlendirmede 10 BBA’ya benzer şekilde düşük derecede tomurcuklanan olgularda ekspansil patern hakim iken, yüksek dereceli tomurcuklanan olgularda infiltratif patern hakimiyeti görülmüştür ($p<0.05$).

İHK boyalı kesitlerde düşük dereceli tomurcuklanan 154 olgunun 100’ünde (%64,9) ekspansil paternde invazyon izlenirken; 54’ünde (%35,1) infiltratif paternde invazyon izlenmiştir. Yüksek derecede tomurcuklanan 55 olgunun ise 22 (%40) tanesinde ekspansil paten izlenirken; 33 (%60) tanesinde infiltratif paternde invazyon izlenmiştir ($p<0.05$). 1 BBA’da yapılan değerlendirmede 10 BBA’ya benzer şekilde düşük derecede tomurcuklanan olgularda ekspansil patern hakim iken, yüksek dereceli tomurcuklanan olgularda infiltratif patern hakimiyeti görülmüştür ($p<0.05$).

Tablo 19. İHK boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının tümörün invazyon paterni ile ilişkisi

Tümörün invazyon paterni		Tomurcuklanma İHK 10 BBA			Tomurcuklanma İHK 1 BBA			Toplam
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
Ekspansil	n	100	36	22	59	48	51	158
	%	%64,9	%46,2	%40,0	%70,2	%60,8	%40,8	%54,9
İnfiltratif	n	54	42	33	25	31	74	130
	%	%35,1	%53,8	%60,0	%29,8	%39,2	%59,2	%45,1
Toplam	n	154	79	55	84	79	125	288
	%	%53,7	%27,2	%19,2	%29,2	%27,4	%43,4	%100,0

4.3.1.4. Tümör Tomurcuklanması ile Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyon ile İlişkisi

H&E boyalı kesitlerde 10 BBA’da değerlendirilen peritümöral tümör tomurcuklanmasının Crohn benzeri lenfoid reaksiyon derecesi ile ilişkisi değerlendirildiğinde düşük tomurcuklanma gösteren 209 olguda %43,1 (n:90) oranında Grade 0, %29,7 (n: 62) oranında Grade 1, %27,3 (n:57) oranında Grade 2 Crohn benzeri lenfoid reaksiyon izlenmiştir. Orta derecede tomurcuklanma gösteren 57 olguda %66,7 (n:38) oranında Grade 0, %14,0 (n: 8) oranında Grade 1, %19,3 (n:11) oranında Grade 2 Crohn benzeri lenfoid reaksiyon izlenmiştir. Yüksek derecede

tomurcuklanma bulunduran 22 olguda ise %63,6 (n:14) oranında Grade 0, %22,7 (n: 5) oranında Grade 1, %13,6 (n:3) oranında Grade 2 Crohn benzeri lenfoid reaksiyon izlenmiştir. Değerlendirme H&E yada İHK kesitte maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 BBA’da yapıldığında ise düşük tomurcuklanma gösteren olgulardan yüksek tomurcuklanma gösteren olgulara doğru ilerledikçe Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun derecesi azalmış ve istatistiksel olarak anlamlılık görülmüştür ($p<0.05$). Aynı şekilde İHK kesitte peritümöral 10 alanda yapılan değerlendirmede de düşük tomurcuklanma gösteren olgulardan yüksek tomurcuklanma gösteren olgulara doğru ilerledikçe Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun derecesi azalmış ve istatistiksel olarak anlamlılık görülmüştür ($p<0.05$).

Tablo 20. H&E boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun derecesi ile ilişkisi

Crohn benzeri lenfoid reaksiyon Grade		Tomurcuklanma H&E 10 BBA			Tomurcuklanma H&E 1 BBA			Toplam
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
0	n	90	38	14	66	34	42	142
	%	%43,1	%66,7	%63,6	%42,3	%46,6	%71,2	%49,3
1	n	62	8	5	48	18	9	75
	%	%29,7	%14,0	%22,7	%30,8	%24,7	%15,3	%26,0
2	n	57	11	3	42	21	8	71
	%	%27,3	%19,3	%13,6	%26,9	%28,8	%13,6	%24,7
Toplam	n	209	57	22	156	73	59	288
	%	%72,6	%19,8	%7,6	%54,2	%25,3	%20,5	%100,0

Tablo 21. İHK boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun derecesi ile ilişkisi

Crohn benzeri lenfoid reaksiyon Grade		Tomucuklanma İHK 10 BBA			Tomurcuklanma İHK 1 BBA			Toplam
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
0	n	67	38	37	34	35	73	142
	%	%43,5	%48,7	%67,3	%40,5	%44,3	%58,4	%49,3
1	n	40	23	11	21	24	30	75
	%	%26,0	%29,5	%20,0	%25,0	%30,4	%24,0	%26,0
2	n	47	17	7	29	20	22	71
	%	%30,5	%21,8	%12,7	%34,5	%25,3	%17,6	%24,7
Toplam	n	154	78	55	84	79	125	288
	%	%53,7	%27,2	%19,2	%29,2	%27,4	%43,4	%100,0

Tablo 22. H&E boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının Crohn benzeri lenfoid reaksiyondaki en büyük lenfoid agregatın (LA) boyutu ile ilişkisi

Crohn benzeri lenfoid reaksiyon LA boyutu		Tomurcuklanma H&E 10 BBA			Tomurcuklanma H&E 1 BBA			Toplam
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
<1mm	n	154	46	18	117	52	49	218
	%	%73,7	%80,7	%81,8	%75,0	%71,2	%83,1	%75,7
≥1mm	n	55	11	4	39	21	10	70
	%	%26,3	%19,3	%18,2	%25,0	%28,8	%16,9	%24,3
Toplam	n	209	57	22	156	73	59	288
	%	%72,6	%19,8	%7,6	%54,2	%25,3	%20,5	%100,0

H&E boyalı kesitlerde 10 BBA’da değerlendirilen peritümöral tümör tomurcuklanmasının Crohn benzeri lenfoid reaksiyon ile ilişkisi değerlendirildiğinde boyutu 1mm ve üstünde olan LA içeren olguların oranı düşük tomurcuklanma gösteren 209 olguda %26,3 (n:55), orta derecede tomurcuklanma gösteren 57 olguda %19,3 (n:11), yüksek derecede tomurcuklanma bulunduran 22 olguda ise %18,2 (n:4) olarak belirlenmiştir. Değerlendirme maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 BBA’da yapıldığında ise düşük tomurcuklanma gösteren 156 olguda %25,0 (n:39), orta derecede tomurcuklanma gösteren 73 olguda %28,8 (n:21), yüksek derecede tomurcuklanma bulunduran 59 olguda ise %16,9 (n:10) olarak belirlenmiştir.

Tablo 23. İHK boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının Crohn benzeri lenfoid reaksiyondaki en büyük lenfoid agregatın (LA) boyutu ile ilişkisi

Crohn benzeri lenfoid reaksiyon LA boyutu		Tomurcuklanma İHK 10 BBA			Tomurcuklanma İHK 1 BBA			Toplam
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
<1mm	n	111	61	46	57	59	102	218
	%	%71,4	%78,2	%83,6	%67,9	%74,7	%81,6	%75,7
≥1mm	n	44	17	9	27	20	23	70
	%	%28,6	%21,8	%16,4	%32,1	%25,3	%18,4	%24,3
Toplam	n	154	78	55	84	79	125	288
	%	%53,7	%27,2	%19,2	%29,2	%27,4	%43,4	%100,0

İHK boyalı kesitlerde 10 BBA’da değerlendirilen peritümöral tümör tomurcuklanmasının Crohn benzeri lenfoid reaksiyon ile ilişkisi değerlendirildiğinde boyutu 1mm ve üstünde olan LA içeren olguların oranı düşük tomurcuklanma gösteren

155 olguda %28,6 (n:44), orta derecede tomurcuklanma gösteren 78 olguda %21,8 (n:17), yüksek derecede tomurcuklanma bulunduran 55 olguda ise %16,4 (n:9) olarak belirlenmiştir. Değerlendirme maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 BBA'da yapıldığında ise düşük tomurcuklanma gösteren 84 olguda %32,1 (n:27), orta derecede tomurcuklanma gösteren 79 olguda %25,3 (n:20), yüksek derecede tomurcuklanma bulunduran 125 olguda ise %18,4 (n:23) olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak genel olarak H&E ve İHK boyalı kesitlerde 1 ve 10 BBA'da yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması arttıkça 1mm' den büyük LA miktarı azalmaktadır. Ancak istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır (p>0.05).

4.3.1.5. Tümör Tomurcuklanması ile T Evresi İlişkisi

H&E boyalı kesitlerde 10 BBA'da değerlendirilen peritümöral tümör tomurcuklanmasının T evresi ile ilişkisi değerlendirildiğinde T1 evresindeki 3 olgunun tümünde düşük derecede tomurcuklanma, T2 evresindeki 15 olgunun 13'ünde (%86,7) düşük derecede tomurcuklanma izlenirken; T3 evresindeki 200 olgunun 148'inde (%74,0) düşük derecede tomurcuklanma, 38'inde (%19) orta derecede tomurcuklanma, 14'ünde (%7) ise yüksek derecede tomurcuklanma izlenmiştir. T4 evresindeki 70 olgudan 45'inde (%64,3) düşük derecede tomurcuklanma, 18'inde (%25,7) orta derecede tomurcuklanma, 7 tanesinde (%10) yüksek derecede tomurcuklanma izlenmiştir. H&E boyalı kesitlerde peritümöral 10 BBA'da değerlendirmeye yapıldığında tümör tomurcuklanmasının T evresi ilerledikçe arttığı saptanmıştır (p:0,042).

Tablo 24. H&E boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının T evresi ile ilişkisi

H&E 10 BBA		T evresi				Toplam
Tümör tomurcuklanması		T1	T2	T3	T4	
Düşük	n	3	13	148	45	209
	%	%100,0	%86,7	%74,0	%64,3	%72,6
Orta	n	0	1	38	18	57
	%	%0,0	%6,7	%19,0	%25,7	%19,8
Yüksek	n	0	1	14	7	22
	%	%0,0	%6,7	%7,0	%10,0	%7,6
Total	n	3	15	200	70	288
	%	%1	%5,2	%69,4	%24,3	%100,0

Tablo 25. İHK boyalı kesitlerdeki tümör tomurcuklanmasının T evresi ile ilişkisi

İHK10 BBA Tümör tomurcuklanması		T evresi				Toplam
		T1	T2	T3	T4	
Düşük	n	3	11	110	30	154
	%	%100,0	%73,3	%55,0	%42,9	%53,5
Orta	n	0	2	51	26	79
	%	%0,0	%13,3	%25,5	%37,1	%27,4
Yüksek	n	0	2	39	14	55
	%	%0,0	%13,3	%19,5	%20,0	%19,1
Total	n	3	15	200	70	288
	%	%1	%5,2	%69,4	%24,3	%100,0

İHK boyalı kesitlerde peritümöral 10 BBA’da değerlendirime yapıldığında T1 evresindeki 3 olgunun tümü düşük derecede tomurcuklanma göstermektedir. T2 evresindeki 15 olgununda 11 (%73,3) tanesinde düşük derecede tomurcuklanma izlenmiş; 2 (%13,3) olguda ise orta ve yüksek derecede tomurcuklanma görülmüştür. T3 evresindeki 200 olgudan 110 tanesinde (%55) düşük derecede tomurcuklanma, 51 tanesinde (%25,5) orta derecede tomurcuklanma, 39 tanesinde (%19,5) yüksek derecede tomurcuklanma izlenmiştir. T4 evresindeki 70 olguda ise düşük derecede tomurcuklanma %42,9 olguda (n:30), orta derecede tomurcuklanma %37,1 olguda (n:26), yüksek derecede tomurcuklanma %20 olguda (n:14) saptanmıştır. İHK boyalı kesitlerde peritümöral 10 BBA’da değerlendirime yapıldığında T evresi arttıkça tümör tomurcuklanmasının arttığı saptanmıştır (p:0,031).

4.3.1.6. Tümör Tomurcuklanması ve Tümör Stroma Oranı İlişkisi

Tümör tomurcuklanması ile tümör stroma oranı ile ilişkisi H&E boyalı kesitlerde 10 BBA’da değerlendirildiğinde düşük tümör tomurcuklanması gösteren 209 olgunun %75,6’sı (n:158) düşük stroma içerirken; yüksek tümör tomurcuklanması bulunduran 22 olgununda %54,5’i (n:12) yüksek oranda stroma içermektedir. H&E boyalı kesitlerde 1BBA’da yapılan değerlendirmede benzer şekilde tümör tomurcuklanması arttıkça tümörde stromal oran artmaktadır. Sonuç olarak H&E boyalı kesitlerde 1 veya 10BBA’ da tümör tomurcuklanması miktarı arttıkça tümör stroma oranı artmaktadır ve bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.001).

Tablo 26. H&E boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının tümör stroma oranı ile ilişkisi

STROMA		Tomurcuklanma H&E 10 BBA			Tomurcuklanma H&E 1 BBA			Toplam
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
Düşük stroma	n	158	31	10	121	49	29	199
	%	%75,6	%54,4	%45,5	%77,6	%67,1	%49,2	%69,1
Yüksek stroma	n	51	26	12	35	24	30	89
	%	%24,4	%45,6	%54,5	%22,4	%32,9	%50,8	%30,9
Toplam	n	209	57	22	156	73	59	288
	%	%72,6	%19,8	%7,6	%54,2	%25,3	%20,5	%100,0

Tümör tomurcuklanması ile tümör stroma oranı ilişkisi İHK boyalı kesitlerde 10 BBA'da değerlendirildiğinde düşük tomurcuklanma gösteren 154 olgunun %77,3'ü (n:120) düşük stroma içerirken; yüksek tümör tomurcuklanması bulunduran 55 olgununda %43,6'sı (n:24) yüksek oranda stroma içermektedir. İHK boyalı kesitlerde 1BBA'da yapılan değerlendirmede benzer şekilde tümör tomurcuklanması arttıkça tümörde stromal oran artmaktadır. İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1(p:0,000) veya 10 BBA'da (p:0,002) tümör tomurcuklanması miktarı ile stroma oranı ilişkilidir ve istatistiksel olarak anlamlılık görülmüştür.

Tablo 27. İHK boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının tümör stroma oranı ile ilişkisi

STROMA		Tomurcuklanma İHK 10 BBA			Tomurcuklanma İHK 1 BBA			Toplam
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
Düşük stroma	n	120	49	31	67	61	71	199
	%	%77,3	%62,8	%56,4	%79,8	%77,2	%56,8	%69,1
Yüksek stroma	n	35	29	24	17	18	54	89
	%	%22,7	%37,2	%43,6	%20,2	%22,8	%43,2	%30,9
Toplam	n	154	78	55	84	79	125	288
	%	%53,7	%27,2	%19,2	%29,2	%27,4	%43,4	%100,0

4.3.1.7. Tümör Tomurcuklanması ve İnflamatuvar Hücre Reaksiyonu İlişkisi

Tümör tomurcuklanması ve inflamatuvar hücre reaksiyonu H&E boyalı kesitlerde 10 BBA’da değerlendirildiğinde düşük tümör tomurcuklanması bulunduran 209 olguda %56,5 (n:118) oranında düşük inflamatuvar hücre reaksiyonu görülürken; %43,5 oranında (n:91) yüksek inflamatuvar hücre reaksiyonu görülmüştür. Tümör tomurcuklanması yüksek olan 22 olguda da %90,9 (n:20) oranında düşük inflamatuvar hücre reaksiyonu görülürken, %9,1 (n:2) oranında yüksek inflamatuvar hücre reaksiyonu görülmüştür (p:0,001). H&E boyalı kesitlerde 1 BBA’da (p:0,007) yapılan değerlendirmede de 10BBA’ya benzer şekilde tümör tomurcuklanması şiddeti arttıkça inflamatuvar hücre reaksiyonu azalmaktadır ve hem 1 BBA hem de 10 BBA’ da yapılan değerlendirme istatistiksel olarak anlamlılık görülmüştür.

Tablo 28. H&E boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının inflamatuvar hücre reaksiyonu ile ilişkisi

İnflamatuvar hücre reaksiyonu		Tomurcuklanma H&E 10 BBA			Tomurcuklanma H&E 1 BBA			Toplam
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
Düşük	n	118	39	20	87	45	45	177
	%	%56,5	%68,4	%90,9	%55,8	%61,6	%76,3	%61,5
Yüksek	n	91	18	2	69	28	14	111
	%	%43,5	%31,6	%9,1	%44,2	%38,4	%23,7	%38,5
Toplam	n	209	57	22	156	73	59	288
	%	%72,6	%19,8	%7,6	%54,2	%25,3	%20,5	%100,0

Tablo 29. İHK boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının inflamatuvar hücre reaksiyonu ile ilişkisi

İnflamatuvar hücre reaksiyonu		Tomurcuklanma İHK 10 BBA			Tomurcuklanma İHK 1 BBA			Toplam
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
Düşük	n	87	54	36	47	47	83	177
	%	%56,5	%69,2	%65,5	%56,0	%59,5	%66,4	%61,5
Yüksek	n	68	69	70	37	32	42	111
	%	%43,5	%30,8	%34,5	%44,0	%40,5	%33,6	%38,5
Toplam	n	154	78	55	84	79	125	288
	%	%53,7	%27,2	%19,2	%29,2	%27,4	%43,4	%100,0

Tümör tomurcuklanması ve inflamatuvar hücre reaksiyonu İHK boyalı kesitlerde 10 BBA’da değerlendirildiğinde düşük tümör tomurcuklanması bulunduran 154 olguda %56,5 (n:87) oranında düşük inflamatuvar hücre reaksiyonu görülürken; %43,5 oranında (n:68) yüksek inflamatuvar hücre reaksiyonu görülmüştür. Tümör tomurcuklanması yüksek olan 55 olguda da %65,5 (n:36) oranında düşük inflamatuvar hücre reaksiyonu görülürken, %34,5 (n:19) oranında yüksek inflamatuvar hücre reaksiyonu görülmüştür (p:0,118). İHK boyalı kesitlerde 1 BBA’da yapılan değerlendirmede de 10BBA’ya benzer şekilde tümör tomurcuklanması şiddeti arttıkça inflamatuvar hücre reaksiyonu azalmaktadır (p:0,120); ancak hem 1 BBA hem de 10 BBA’ da yapılan değerlendirme istatistiksel olarak anlamlılık görülmemiştir.

4.3.1.8. Tümör Tomurcuklanması Nekroz İlişkisi

Tümör tomurcuklanması ve tümörde nekroz oranı birlikte değerlendirildiğinde nekroz içermeyen 54 olgudan 12’sinde (%22,2), %10 ve altında fokal nekroz içeren 134 olgunun 32’sinde (%23,9), %20 nekroz bulunduran 50 olgunun 6’ sında (%12) ve %30 ve üzeri nekroz bulunduran 50 olgunun 5’inde (%10) yüksek derecede budding saptanmıştır. Sonuç olarak nekroz oranı yüksek olan vakalarda tomurcuklanma daha az saptanmıştır (p:0,043).

4.3.1.9. Tümör Tomurcuklanmasının Lenfovasküler İnvazyon ile İlişkisi

H&E ve İHK boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının lenfovasküler invazyon varlığı ile ilişkisi 1 ve 10 BBA’da incelenmiş; ancak tümör tomurcuklanması ile lenfovasküler invazyon arasında H&E ya da İHK boyalı kesitlerde bir ilişki bulunmamıştır (p>0.05).

Tablo 30. H&E boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının lenfovasküler invazyon ile ilişkisi

LVİ		Tomurcuklanma H&E 10 BBA			Tomurcuklanma H&E 1 BBA			Toplam
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
Yok	n	77	17	9	60	26	17	103
	%	%36,8	%29,8	%40,9	%38,5	%35,6	%28,8	%35,8
Var	n	132	40	13	96	47	42	185
	%	%63,2	%70,2	%59,1	%61,5	%64,4	%71,2	%64,2
Toplam	n	209	57	22	156	73	59	288
	%	%72,6	%19,8	%7,6	%54,2	%25,3	%20,5	%100,0

Tablo 31. İHK boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının lenfovasküler invazyon ile ilişkisi

LVİ		Tomurcuklanma İHK 10 BBA			Tomurcuklanma İHK 1 BBA			Toplam
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
Yok	n	59	27	17	37	25	41	103
	%	%38,3	%34,6	%30,9	%44,0	%31,6	%32,8	%35,8
Var	n	95	51	38	47	54	84	185
	%	%61,7	%65,4	%69,1	%56,0	%68,4	%67,2	%64,2
Toplam	n	154	78	55	84	79	125	288
	%	%53,7	%27,2	%19,2	%53,7	%27,2	%19,2	%100,0

4.3.1.10. Tümör Tomurcuklanması Perinöral İnvazyon İlişkisi

Perinöral invazyon tümör tomurcuklanması ilişkisi 10 BBA'da H&E kesitler ile incelendiğinde düşük tomurcuklanma gösteren 209 olgunun %78'inde (n: 164) perinöral invazyon izlenmezken; yüksek tomurcuklanma gösteren 22 olgunun %45,5'inde (n: 10) perinöral invazyon izlenmiştir (p:0,000). H&E boyalı kesitlerde 1 BBA'da (p: 0,001) ve İHK boyalı kesitlerde 1 (p:0,000) ve 10 BBA'da (p:0,000) yapılan değerlendirmelerde de benzer şekilde tümör tomurcuklanması arttıkça perinöral invazyon pozitif olgu oranı artmıştır.

Tablo 32. H&E boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının perinöral invazyon ile ilişkisi

PNİ		Tomurcuklanma			Tomurcuklanma			Toplam
		H&E 10 BBA			H&E 1 BBA			
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
Yok	n	164	33	12	127	49	33	209
	%	%78,5	%57,9	%54,5	%81,4	%67,1	%55,9	%72,6
Var	n	45	24	10	29	24	26	79
	%	%21,5	%42,1	%45,5	%18,6	%32,9	%44,1	%27,4
Toplam	n	209	57	22	156	73	59	288
	%	%72,6	%19,8	%7,6	%54,2	%25,3	%20,5	%100,0

Tablo 33. İHK boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanmasının perinöral invazyon ile ilişkisi

Pnİ		Tomurcuklanma			Tomurcuklanma			Toplam
		İHK 10 BBA			İHK 1 BBA			
		Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	
Yok	n	127	48	33	76	58	75	209
	%	%82,5	%61,5	%60,0	%90,5	%73,4	%60,0	%72,6
Var	n	27	30	22	8	21	50	79
	%	%17,5	%38,5	%40,0	%9,5	%26,6	%40,0	%27,4
Toplam	n	154	78	55	84	79	125	288
	%	%53,7	%27,2	%19,2	%29,2	%27,4	%43,4	%100,0

4.3.1.11. Tümör Tomurcuklanması N Evresi İlişkisi

H&E boyalı kesitlerde 10 BBA’da değerlendirilen tümör tomurcuklanması ile N evresi ilişkisi (Tablo 33) değerlendirildiğinde N0 oranı düşük dereceli tomurcuklanma gösteren olgularda daha fazla iken; orta ve yüksek derecede tomurcuklanma bulunduran olgularda N evresi daha yüksek saptanmıştır (p:0,034). Ayrıca N1 olan olgularda yüksek dereceli tümör tomurcuklanması N0 ve N2 olgulara göre daha fazla saptanmıştır. N2 olgularda da orta derece tümör tomurcuklanması N0 ve N1 olgulara göre daha fazla görülmüştür; İHK boyalı kesitlerde değerlendirildiğinde benzer ilişki görülmekle birlikte istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır (p:0,066).

Tablo 34. Tümör Tomurcuklanması N Evresi İlişkisi

H&E 10 BBA Tümör tomurcuklanması		N evresi			Toplam
		N0	N1	N2	
Düşük	n	130	52	27	209
	%	%79,3	%62,7	%65,9	%72,6
Orta	n	25	20	12	57
	%	%15,2	%24,1	%29,3	%19,8
Yüksek	n	9	11	2	22
	%	%5,5	%13,3	%4,9	%7,6
Toplam	n	164	83	41	288
	%	%56,9	%28,8	%14,2	%100,0

4.3.1.12. Tümör Tomurcuklanması Ekstrakapsüler İnvazyon İlişkisi

H&E (p: 0,003) ve İHK (p:0,046) boyalı kesitlerde tümör tomurcuklanması ile ekstrakapsüler invazyon ilişkisine bakılınca ekstrakapsüler yayılım pozitif 45 olguda tümör tomurcuklanması diğer olgulara göre daha fazla görülmüştür (p: 0,003).

Tablo 35. Tümör tomurcuklanması ekstrakapsüler invazyon ilişkisi

H&E 10 BBA Tümör tomurcuklanması		Ekstrakapsüler yayılım		Toplam
		Yok	Var	
Düşük	n	59	20	79
	%	%74,7	%44,4	%63,7
Orta	n	14	18	32
	%	%17,7	%40,0	%25,8
Yüksek	n	6	7	13
	%	%7,6	%15,6	%10,5
Toplam	n	79	45	124
	%	%63,7	%36,4	%100,0

4.3.1.13. Tümör Tomurcuklanması Tümör Depoziti Varlığı İlişkisi

İHK boyalı kesitlerde 10 BBA'daki tümör tomurcuklanmasının tümör depoziti varlığı ile ilişkisi değerlendirildiğinde tümör depoziti bulunduran 59 olgudan 30'unda (%19,5) tümör tomurcuklanması izlenmezken tümör depoziti içermeyen 229 olgunun 124'inde (%54,1) tümör tomurcuklanması izlenmemiştir. Tümör tomurcuklanması ve tümör depoziti varlığı arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmamıştır (p:0,748).

Tablo 36. Tümör tomurcuklanması tümör depoziti varlığı ilişkisi

İHK 10 BBA Tümör tomurcuklanması		Tümör depoziti		Toplam
		Yok	Var	
Düşük	n	124	30	154
	%	%54,1	%50,8	%53,5
Orta	n	58	21	79
	%	%25,3	%35,6	%27,4
Yüksek	n	47	8	55
	%	%20,5	%13,6	%19,1
Toplam	n	229	59	288
	%	%79,5	%20,5	%100,0

4.3.1.14. İntratümöral Tümör Tomurcuklanmasının Lenf Nodülü Metastazı ile İlişkisi

H&E boyalı kesitlerde yüksek derecede intratümöral tümör tomurcuklanması bulunduran 41 olgunun 21'inde (%51); düşük derecede intratümöral tümör tomurcuklanması bulunduran 203 olgunun 77'sinde (%37) lenf nodülü metastazı saptanmıştır (p:0,020). İHK kesitlerde ise yüksek derecede intratümöral tümör tomurcuklanması bulunduran 87 olgunun 44'ünde (%51); düşük derecede intratümöral tümör tomurcuklanması bulunduran 135 olgunun 44'ünde (%32) lenf nodülü metastazı saptanmıştır (p:0,04).

Tablo 37. İntratümöral tümör tomurcuklanmasının lenf nodülü metastazı ile ilişkisi

Lenf nodülü metastazı		HE 1 BBA intratümöral tümör tomurcuklanması				İHK 1 BBA intratümöral tümör tomurcuklanması			
		Düşük	Orta	Yüksek	Toplam	Düşük	Orta	Yüksek	Toplam
Yok	n	91	30	43	164	91	30	43	164
	%	%55,5	%18,3	%26,2	%100,0	%55,5	%18,3	%26,2	%100,0
Var	n	44	36	44	124	44	36	44	124
	%	%35,5	%29,0	%35,5	%100,0	%35,5	%29,0	%35,5	%100,0
Toplam	n	135	66	87	288	135	66	87	288
	%	%46,9	%22,9	%30,2	%100,0	%46,9	%22,9	%30,2	%100,0

4.4. SAĞ KALIM VE KLİNİKOPATOLOJİK VERİLERİN GENEL ANALİZLERİ

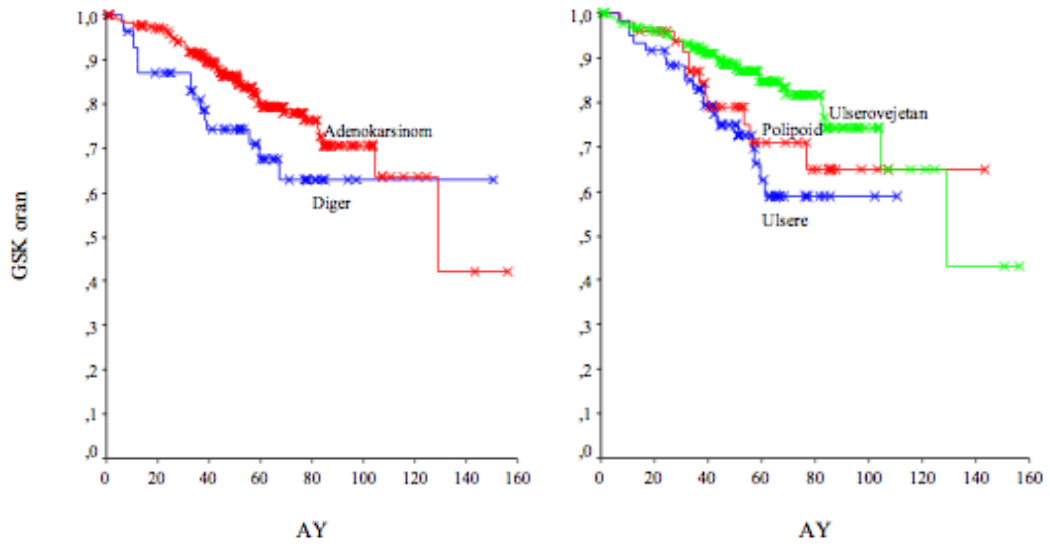
Tüm olgularda median sağ kalım değerine ulaşamamıştır. 5 yıllık sağ kalım %79,17'dir. (228 olgu)'dir. Kaplan Meier sağ kalım analizi uygulanarak elde edilen sonuçlara göre klinikopatolojik özelliklerden T, N kategorileri, Crohn benzeri lenfoid reaksiyon varlığı, tümör stroma oranı, inflamatuvar hücre reaksiyonu miktarı, perinöral invazyon varlığı, tümörün invazyon paterni, metastatik lenf nodüllerinde ekstrakapsüler invazyon varlığı, tümörün makroskopik görünümü ve tümör tomurcuklanması sağ kalımda anlamlı olarak etkili bulunmuştur ($p<0.05$). Yaş, cinsiyet, yüksek nekroz oranı, tümör boyutu, tümör derecesi, tümör lokalizasyonu, histolojik alt tip, Crohn benzeri lenfoid reaksiyondaki en büyük LA' nın boyutu, lenfovasküler invazyon değerlendirildiğinde gruplar arasında sağ kalımda anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

4.4.1. Cinsiyet ve Sağ Kalım İlişkisi

Cinsiyet ile sağ kalım ilişkisi değerlendirildiğinde 119 kadın hastanın 95 (%79,83) tanesinde; 169 erkek hastanın ise 133 (%78,70) tanesinde 5 yıllık sağ kalım saptanmıştır. Cinsiyetler arasında sağ kalım açısından istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p:0,7227$).

4.4.2. Histolojik Alt Tip ve Sağ Kalım İlişkisi

Histolojik alt tip sağ kalım ilişkisi değerlendirildiğinde 232 tane konvansiyonel adenokarsinom tanılı olguda 5 yıllık sağ kalım %81,03 (188 olgu) iken, 56 adet konvansiyonel adenokarsinom dışı adenokarsinom (müsinöz adenokarsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom) tanısı alan olgularda 5 yıllık sağ kalım %71,42 (40 olgu) oranında saptanmıştır. Ancak 100. Aydan sonra konvansiyonel adenokarsinom olgularında sağ kalımda belirgin bir düşüş olurken, diğer olgularda eğer ilk 100 ay mortalite gerçekleşmeyen grupta sağ kalım çok daha iyi seyretmektedir ($p:0,0664$).



Şekil 9. Histolojik alt tip ve tümörün makroskopik özelliklerinin sağ kalım ile ilişkisi

4.4.3. Tümör Grade ve Sağ Kalım İlişkisi

Tümör derecesi ile sağ kalım ilişkisine bakıldığında tanı anında Grade 1 olan 2 olguda %100 oranında 5 yıllık sağ kalım izlenirken, Grade 2 olan 205 olguda 5 yıllık sağ kalım %81,46 (167 olgu), Grade 3 olan 30 olguda ise 5 yıllık sağ kalım %76,67 (23 olgu) 'dir. Tümör derecesi ve sağ kalım ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p: 0,5879) ve Müsinöz adenokarsinomlarda 2010 WHO sınıflamasında göre Grade verilmediğinden bu tanıyı alan 51 olgu bu istatistikte değerlendirme dışı bırakılmıştır.

4.4.4. Tümörün Makroskopik Görünümü ve Sağ Kalım İlişkisi

Tümörün makroskopik görünümü ile 5 yıllık sağ kalım ilişkisi değerlendirilince en yüksek sağ kalım oranı ülserovejetan (n:178) görünümlü tümörlerde izlenmiş olup %83,71 olarak saptanmıştır. Bu olguları %75, 51' lik sağ kalım oranı ile polipoid (n: 49) tümörler izlemektedir. En düşük 5 yıllık sağ kalım ise %68,85 oranında ülser (n: 61) morfolojideki tümörlerde saptanmıştır Şekil 8 (p:0140).

4.4.5. Tümörün Boyutu ve Sağ Kalım İlişkisi

Olgularda ROC eğrisi yardımıyla tümör boyutu için sınır değer 23 mm ve 35 mm olarak belirlenerek değerlendirmeler yapılmış, ancak tümör boyutu ile sağ kalım veya hastalıksız yaşam ile ilişki bulunmamıştır.

4.4.6. Tümörün Lokalizasyonu ve Sağ Kalım İlişkisi

Tümör lokalizasyonu ile sağ kalım ilişkisi değerlendirildiğinde sağ kolon yerleşimli 103 olguda 5 yıllık sağ kalım %81,55 (n: 84), sol kolon ve sigmoid kolon yerleşimli 110 olguda 5 yıllık sağ kalım %75,45 (n: 83), rektum yerleşimli 75 olguda ise %81,33 (n: 61) olarak saptanmış, istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (p:0,7181).

4.4.7. Tümörün T Evresi ve Sağ Kalım İlişkisi

T evresine göre 5 yıllık sağ kalım değerlendirildiğinde T1 evresinde tanı alan 3 olguda sağ kalım %100 (n:3), T2 evresinde tanı alan 15 olguda %93,33 (n: 14), T3 evresinde tanı alan 200 olguda %84,50 (n:169), T4 evresinde tanı alan 70 olguda %60 (n: 42) olarak görülmüştür (p:0,0000). T4 evresi ayrıntılı incelendiğinde ise T4a olarak adlandırılan serozal yüzeylere veya omentuma infiltrate olan 50 tümörde sağ kalım %58 (n:29) iken; komşu organlara invazyon ile karakterli T4b olan 20 olguda ise sağ kalım %65 (n:13) olarak bulunmuştur (p:0,0001).

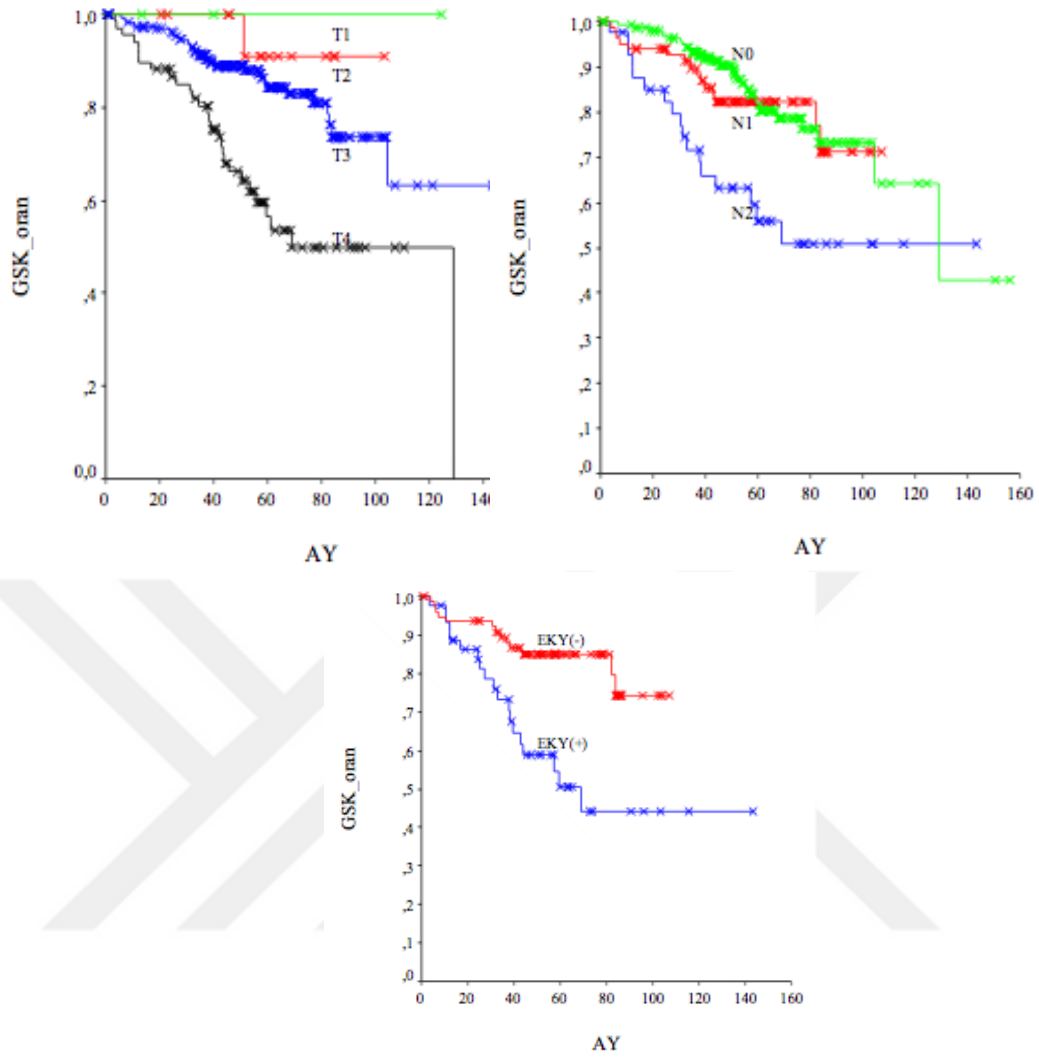
4.4.8. Tümörün N Evresi ve Sağ Kalım İlişkisi

Lenf nodülü metastaz durumuna göre belirlenen N evresiyle sağ kalım ilişkisi incelendiğinde WHO klasifikasyonuna göre N0 olarak adlandırdığımız lenf nodülü metastazı ya da tümör depoziti bulundurmayan 150 olguda 5 yıllık sağ kalım %84,0 (n:126) iken, N1 olarak adlandırdığımız 1-3 lenf nodülünde metastaz içeren 97 olguda

sağ kalım %80,41 (n:78) olarak saptanmıştır. N2 olan 41 olguda sağ kalım %58,54 (n:24) olarak bulunmuştur. Daha ayrıntılı olarak bakıldığında tek lenf nodülünde metastaz bulunduran 46 N1a olgusunda sağ kalım %86,96 (n: 40), 2-3 lenf nodülünde metastaz ile karakterize 37 N1b olgusunda sağ kalım %75,68 (n: 28), lenf nodülü metastazı içermeksizin satellite tümör nodülü bulunduran N1c olarak adlandırılan 14 olguda sağ kalım %71,43 (n:10), 4-6 lenf nodülünde metastaz ile karakterize 23 N2a olgusunda sağ kalım %73,91 (n:17), 6 ‘dan fazla lenf nodülünde metastaz ile karakterli 18 N2b olgusunda sağ kalım %38,89 (n:7) olarak saptanmıştır. Olgularda N evresi arttıkça sağ kalımı azalmaktadır (p:0,0026).

4.4.9. Metastatik Lenf Nodülünde Ekstrakapsüler Yayılım Varlığının Sağ Kalım ile İlişkisi

124 adet metastatik lenf nodülü bulunduran olgu metastatik lenf nodüllerindeki malign hücrelerin lenf nodülü kapsül yapısını aşp aşmamasına yani ekstrakapsüler invazyon varlığına göre gruplandırıldığında ekstrakapsüler invazyon bulunduran 45 olguda sağ kalım %57,78 (n:26) iken; ekstrakapsüler invazyon bulundurmayan 79 olguda sağ kalım %83,54 (n:66) olarak saptanmıştır. Metastatik lenf nodüllerindeki ekstrakapsüler invazyon varlığının sağ kalımı olumsuz etkilediği saptanmıştır (p:0,0002).



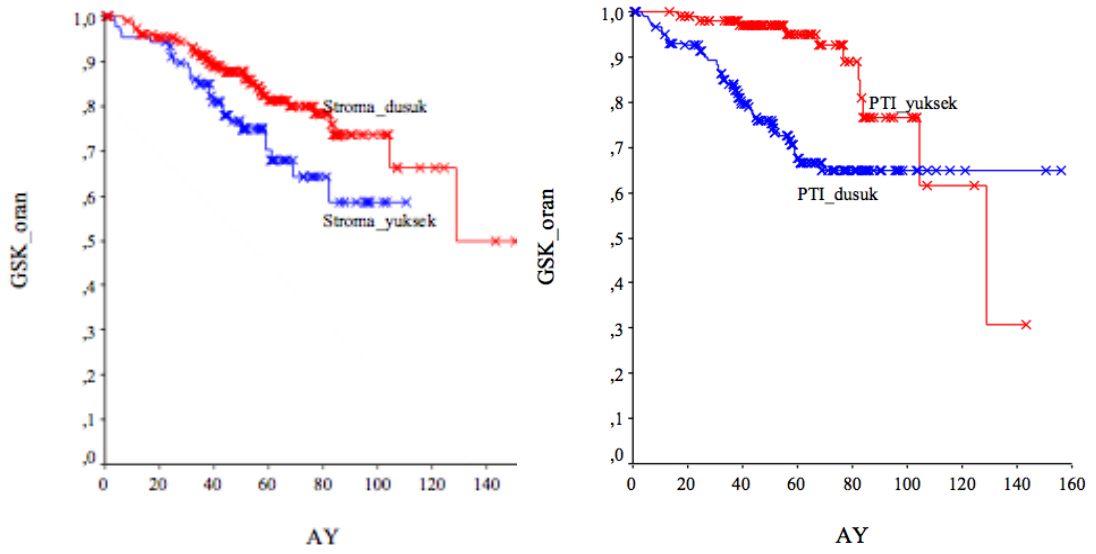
Şekil 10. Tümörün T evresi N evresi ve ekstrakapsüler yayılım durumunun sağ kalım ile ilişkileri

4.4.10. Tümör Stroma Oranı ve Sağ Kalım İlişkisi

Tümör stroma oranının sağ kalım ilişkisi değerlendirildiğinde düşük stroma içeren 199 olguda 5 yıllık sağ kalım %82,41 (n: 164) iken; yüksek stroma içeren 89 olguda %71,91 (n: 64) olarak görülmüştür. Sonuç olarak yüksek stroma içeren tümörlerde sağ kalım istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük bulunmuştur (p:0,0253).

4.4.11. İnflamatuar Hücre Reaksiyonun Sağ Kalım İlişkisi

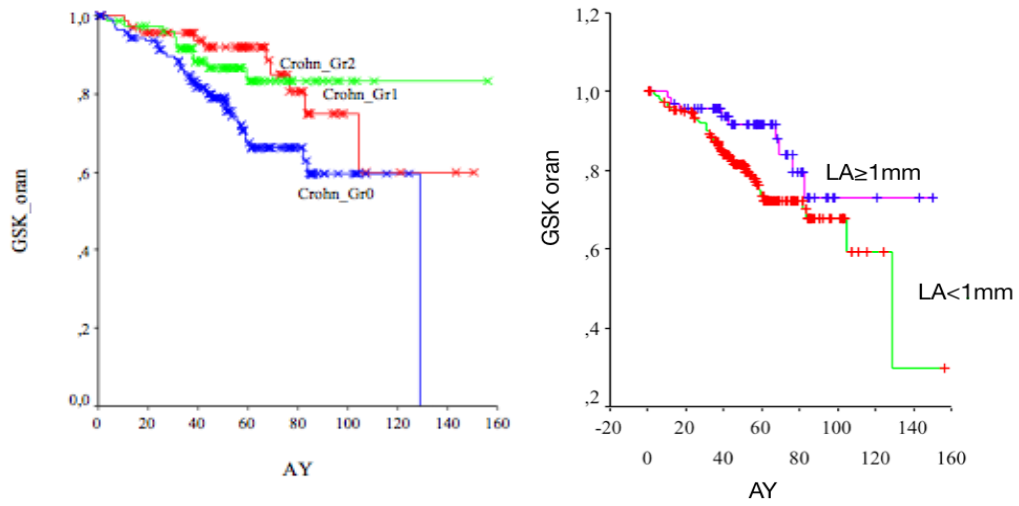
İnflamatuar hücre reaksiyonun 5 yıllık sağ kalım ile ilişkisi değerlendirildiğinde inflamatuvar hücre reaksiyonu belirgin olan 111 olguda sağ kalım %90,09 (n: 100) iken; inflamatuvar hücre reaksiyonu düşük olan 177 olguda %72,32 (n: 128) olarak bulunmuştur. Sonuç olarak inflamatuvar hücre reaksiyonunun belirgin olduğu grupta sağ kalım anlamlı şekilde daha iyi olarak saptanmıştır (p:0,0003).



Şekil 11. Tümör stroma oranı ve inflamatuvar hücre reaksiyonun sağ kalım ile ilişkisi

4.4.12. Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyon ile Sağ Kalım İlişkisi

Crohn benzeri lenfoid reaksiyona derecesine göre olgular değerlendirildiğinde Grade 2 seviyesinde reaksiyon bulunduran 71 olguda 5 yıllık sağ kalım %85,92 (n: 61), Grade 1 seviyesinde reaksiyon bulunduran 75 olguda sağ kalım %86,67 (n: 65), Crohn benzeri lenfoid reaksiyon bulundurmayan 142 olguda ise sağ kalım %71,83 (n: 102) olarak bulunmuştur. Burada Crohn benzeri lenfoid reaksiyon olan ve olmayan olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sağ kalım farkı bulunmaktadır (p:0,0085). Ancak Crohn benzeri lenfoid reaksiyonu Grade 1 veya Grade 2 olması arasında sağ kalımda anlamlı bir fark izlenmemiştir.



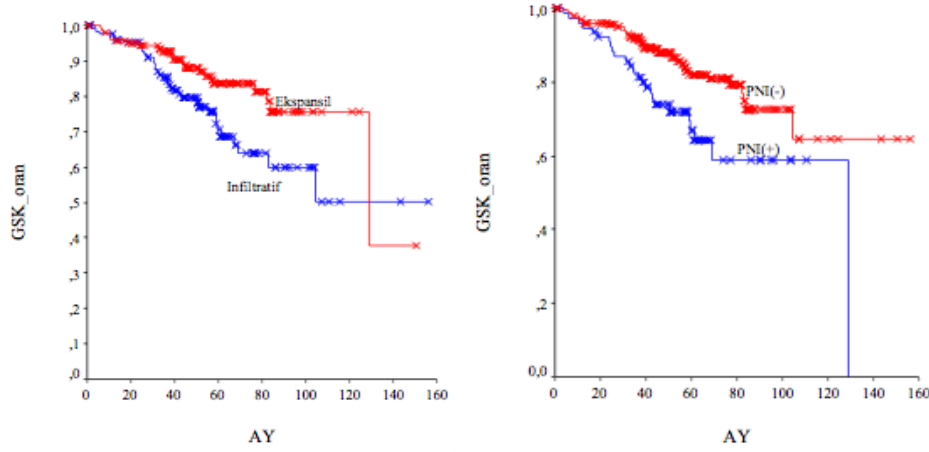
Şekil 12. Crohn benzeri lenfoid reaksiyon ile sağ kalım ilişkisi

Değerlendirme Crohn benzeri lenfoid reaksiyondaki en büyük LA' ın boyutuna göre yapıldığında ise en büyük LA' ın boyutu 1mm'e eşit veya daha büyük olan 70 olguda 5 yıllık sağ kalım %87,14 (n: 61) oranında bulunurken, 1mm' den daha küçük LA içeren veya LA içermeyen 218 olguda sağ kalım %76,61 (n: 167) olarak bulunmuştur. Sonuç olarak Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun Gradenmesine paralel şekilde en büyük LA 1mm ve üstü olan olgularda sağ kalım daha iyi olarak saptanmıştır (p:0,0533).

4.4.13. Nekroz ile Sağ Kalım İlişkisi

Nekroz varlığının sağ kalım ile ilişkisi değerlendirildiğinde nekroz içermeyen 54 olgudan 42'sinde (%77,78), %10 ve altında fokal nekroz içeren 134 olgudan 108'inde (%80,60), %20 nekroz bulunduran 50 olgunun 43'ünde (%86) ve %30 ve üzeri nekroz bulunduran 50 olgunun 35'inde (%70) 5 yıllık sağ kalım saptanmıştır. Sonuç olarak nekroz oranı ile sağ kalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (p:0,723).

4.4.14. Tümör İnvazyon Paterni ve Sağ Kalım İlişkisi



Şekil 13. Tümör büyüme paterni ve perinöral invazyon ile sağ kalım ilişkisi

İnvazyon paterninin sağ kalım ile ilişkisi göre değerlendirildiğinde ekspansil/itici tarzda invazyon gösteren 158 olguda sağ kalım %84, 18 (n: 133) iken; infiltratif paternde invazyon gösteren 130 olguda sağ kalım %73,08 (n: 95) olarak saptanmıştır. Ekspansil şekilde invazyon yapan olgularda sağ kalım istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha iyi saptanmıştır (p:0,0137).

4.4.15. Lenfovasküler İnvazyon ve Sağ Kalım İlişkisi

Lenfovasküler invazyon bulunduran 85 olguda sağ kalım %76,22 (n: 141) iken; lenfovasküler invazyon bulundurmayan 103 olguda sağ kalım %84,47 (n: 87) olarak saptanmıştır. Lenfovasküler invazyon görülen olgularda sağ kalım daha kötü olsa da istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır (p:0,1076).

4.4.16. Perinöral İnvazyon ve Sağ Kalım İlişkisi

Perinöral invazyon içeren 79 olguda sağ kalım %68,35 (n: 53) oranında izlenirken, perinöral invazyon içermeyen 209 olguda sağ kalım %83,25(n:174) olarak

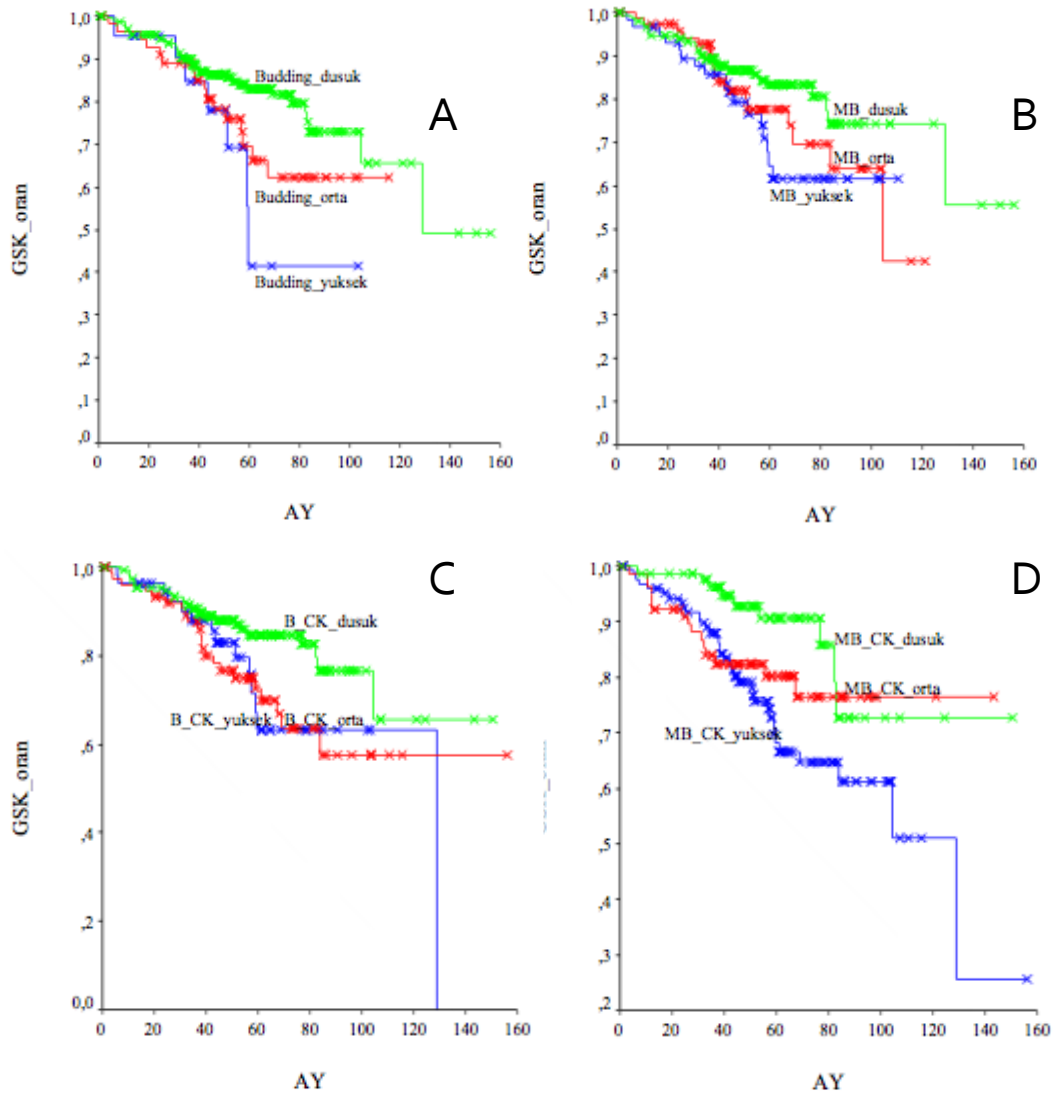
saptanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir şekilde perinöral invazyonun sağ kalımı azalttığı görülmüştür (p:0,0041).

4.5. TUMÖR TOMURCUKLANMASI VE SAĞ KALIM ANALİZLERİ

4.5.1.H&E Boyalı Kesitlerde Tümör Tomurcuklanması ile Sağ Kalım İlişkisi

H&E ile maksimum tümör tomurcuklanması içeren 10BBA’da yapılan değerlendirmede büyütme alanı başına 0-4 tomurcuk içeren düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 209 olguda sağ kalım %82,30 (n:172), 4’den fazla- 10’dan az tomurcuk bulunduran orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 57 olguda sağ kalım %71,93 (n:41), 10 veya daha fazla tomurcuk içeren yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 22 olguda ise sağ kalım %68,18 (n:15) oranında saptanmıştır. H&E boyalı kesitlerde 10 BBA’ da değerlendirilen tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalım belirgin olarak azalmaktadır (p:0426).

H&E ile maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 BBA’da yapılan değerlendirmede tek bir alanda 0-4 tomurcuk içeren düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 156 olguda sağ kalım %83,33 (n:130), 5-9 tomurcuk bulunduran orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 73 olguda sağ kalım %76,71 (n:56), 10 veya daha fazla tomurcuk içeren yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt 3) gösteren 59 olguda ise sağ kalım %71,11 (n:42) oranında saptanmıştır. H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren tek bir alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş; ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır (p:0,1108).



Şekil 14. Tümör tomurcuklanması sağ kalım ile ilişkisi

(Yeşil çizgiler düşük tomurcuklanma, kırmızı çizgiler orta tomurcuklanma, mavi çizgilerde yüksek tomurcuklanmayı temsil etmektedir.)

(A. H&E boyalı kesitlerde 10 BBA, B. H&E boyalı kesitlerde 1 BBA, C. İHK boyalı kesitlerde 10 BBA, D. İHK boyalı kesitlerde 1 BBA)

4.5.2. İmmünohistokimya Boyalı Kesitlerinde Tümör Tomurcuklanması Sağ Kalım İlişkisi

İHK ile maksimum tümör tomurcuklanması içeren 10BBA’da yapılan değerlendirmede büyütme alanı başına 0-4 tomurcuk içeren düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 154 olguda sağ kalım %84,42 (n:130), 4’den fazla- 10’dan az tomurcuk

bulunduran orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 78 olguda sağ kalım %71,79 (n:56), 10 veya daha fazla tomurcuk içeren yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt 3) gösteren 55 olguda ise sağ kalım %74,55 (n:41) oranında saptanmıştır. İHK boyalı kesitlerde 10 BBA' da değerlendirilen tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalım belirgin olarak azalmaktadır (p:0,0410).

İHK ile maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 BBA'da yapılan değerlendirmede tek bir alanda 0-4 tomurcuk içeren düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 84 olguda sağ kalım %89,29 (n:75), 5-9 tomurcuk bulunduran orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 79 olguda sağ kalım %81,01 (n:64), 10 veya daha fazla tomurcuk içeren yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 125 olguda ise sağ kalım %71,20 (n:89) oranında saptanmıştır. İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren tek bir alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0,0141).

4.5.3. Konvansiyonel Adenokarsinom Olgularında Tümör Tomurcuklanmasının Sağ Kalım ile İlişkisinin Değerlendirilmesi

Konvansiyonel adenokarsinom tanılı 232 olguda H&E ile maksimum tümör tomurcuklanması içeren 10BBA'da yapılan değerlendirmede büyütme alanı başına 0-4 tomurcuk içeren düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 161 olguda sağ kalım %84,47 (n:136), 4'den fazla-10'dan az tomurcuk bulunduran orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 51 olguda sağ kalım %72,55 (n:37), 10 veya daha fazla tomurcuk içeren yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 20 olguda ise sağ kalım %75,00 (n:15) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak H&E boyalı kesitlerde 10 BBA' da değerlendirilen tümör tomurcuklanması az olan olgularda sağ kalım diğer olgulara göre belirgin olarak daha yüksek iken, orta ve yüksek dereceli tomurcuklanan olgular karşılaştırıldığında orta derecede tomurcuklanan olgularda sağ kalım anlamlı olarak daha kötü bulunmuştur (p:0,0429).

H&E ile maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 BBA'da yapılan değerlendirmede tek bir alanda 0-4 tomurcuk içeren düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 112 olguda sağ kalım %85,71 (n:96), 5-9 tomurcuk bulunduran orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 66 olguda sağ kalım %80,30 (n:53), 10 veya daha fazla tomurcuk içeren yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 54 olguda ise sağ kalım %72,22 (n:39) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak konvansiyonel adenokarsinom tanılı olgularda H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren tek bir alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş; ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır (p:0,0664).

Konvansiyonel adenokarsinom tanılı 232 olguda İHK ile maksimum tümör tomurcuklanması içeren 10BBA'da yapılan değerlendirmede büyütme alanı başına 0-4 tomurcuk içeren düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 111 olguda sağ kalım %87,39 (n:97), 4'den fazla- 10'dan az tomurcuk bulunduran orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 69 olguda sağ kalım %73,91 (n:51), 10 veya daha fazla tomurcuk içeren yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 51 olguda ise sağ kalım %76,47 (n:39) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak konvansiyonel adenokarsinoma tanılı olgularda İHK boyalı kesitlerde 10 BBA' da değerlendirilen tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalım belirgin olarak azalmaktadır (p:0,0304).

İHK ile maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 BBA'da yapılan değerlendirmede ise tek bir alanda 0-4 tomurcuk içeren düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 57 olguda sağ kalım %89,47 (n:51), 5-9 tomurcuk bulunduran orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 61 olguda sağ kalım %86,89 (n:61), 10 veya daha fazla tomurcuk içeren yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 114 olguda ise sağ kalım %73,68 (n:84) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak konvansiyonel adenokarsinoma tanılı olgularda İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren tek bir alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0,0348).

4.5.4. Tümör Tomurcuklanmasının T Evresine Göre Sağ Kalım ile İlişkisinin Değerlendirilmesi

T1 evresine ait 3 ve T2 evresine ait 15 olguda olduğu için bu iki grupta olgu sayılarının sınırlı olması nedeniyle istatistiksel değerlendirme mümkün olmamıştır.

200 adet T3 olgu H&E boyalı kesitlerde değerlendirildiğinde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 10BBA'da yapılan değerlendirmede düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 148 olguda sağ kalım %86,49 (n:128), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 38 olguda sağ kalım %78,95 (n:30), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 14 olguda ise sağ kalım %78,57 (n:11) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak H&E boyalı kesitlerde 10 BBA'da değerlendirilen tümör tomurcuklanması düşük olan olgularda orta-yüksek derecede tomurcuklanma gösteren olgulara göre daha iyi sağ kalım izlenmiş; ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanamamıştır (p:0,3111). H&E ile maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 BBA'da yapılan değerlendirmede ise düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 113 olguda sağ kalım %86,61 (n:99), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 48 olguda sağ kalım %81,25 (n:39), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 39 olguda ise sağ kalım %79,49 (n:31) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren tek bir alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş, ancak bu durum istatistiksel olarak anlamlı saptanamamıştır (p:0,3897).

T3 evresinde tanı alan 200 olguda İHK ile maksimum tümör tomurcuklanması içeren 10BBA'da yapılan değerlendirmede düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 111 olguda sağ kalım %89,09 (n:98), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 50 olguda sağ kalım %78,0 (n:39), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 39 olguda ise sağ kalım %79,49 (n:31) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak İHK boyalı kesitlerde 10 BBA'da değerlendirilen tümör tomurcuklanması az olan olgularda sağ kalım diğer olgulara göre belirgin olarak daha yüksek iken, orta ve yüksek dereceli tomurcuklanan olgular karşılaştırıldığında orta derecede tomurcuklanan olgularda sağ kalım daha kötü bulunmuştur. Ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanamamıştır (p: 0.066). Yine T3 evresindeki olgulara İHK ile maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 BBA'da yapılan değerlendirmede düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 67

olguda sağ kalım %91,04 (n:61), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 48 olguda sağ kalım %89,58 (n:43), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 85 olguda ise sağ kalım %76,47 (n:65) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren tek bir alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş; istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0,0367).

70 adet T4 evresinde tanı alan olguda İHK ile maksimum tümör tomurcuklanması 1 BBA'da yapılan değerlendirmede düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 11 olguda sağ kalım %72,73 (n:8), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 23 olguda sağ kalım %56,52 (n:13), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 36 olguda ise sağ kalım %58,33 (n:21) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak İHK boyalı kesitlerde 1 BBA' da değerlendirilen tümör tomurcuklanması az olan olgularda sağ kalım diğer olgulara göre belirgin olarak daha yüksek iken, orta ve yüksek dereceli tomurcuklanan olgular karşılaştırıldığında orta derecede tomurcuklanan olgularda sağ kalım minimal daha kötü bulunmuştur. Ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır (p:0,4546).

T3 ve T4 evresindeki olgular beraber değerlendirildiğinde ise 270 olguda H&E boyalı kesitlerde değerlendirildiğinde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 10BBA'da yapılan değerlendirmede büyütme alanı düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 193 olguda sağ kalım %81,34 (n:157), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 56 olguda sağ kalım %71,43 (n:40), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 21 olguda ise sağ kalım %66,67 (n:14) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak H&E boyalı kesitlerde 10 BBA' da değerlendirilen tümör tomurcuklanması düşük olan olgulardan yüksek olan olgulara doğru gittikçe sağ kalımda belirgin bir azalma izlenmektedir; ancak istatistiksel olarak anlamlılık izlenmemiştir (p:0.0513). H&E ile maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 BBA'da yapılan değerlendirmede ise düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 145 olguda sağ kalım %82,06 (n:119), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 68 olguda sağ kalım %76,47 (n:52), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 57 olguda ise sağ kalım %70,18 (n:40) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren tek bir alanda yapılan değerlendirmede tümör

tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş, ancak bu durum istatistiksel olarak anlamlı saptanamamıştır (p:0,1504).

Bu 270 olguda İHK boyalı kesitler ile yapılan değerlendirmede maksimum tümör tomurcuklanması içeren 10BBA'da düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 139 olguda sağ kalım %83,45 (n:116), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 78 olguda sağ kalım %70,51 (n:55), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 53 olguda ise sağ kalım %73,58 (n:39) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak İHK boyalı kesitlerde 10 BBA' da değerlendirilen tümör tomurcuklanması az olan olgularda sağ kalım diğer olgulara göre belirgin olarak daha yüksek iken, orta ve yüksek dereceli tomurcuklanan olgular karşılaştırıldığında orta derecede tomurcuklanan olgularda sağ kalım minimal daha kötü bulunmuştur. Ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanamamıştır (p: 0.0546). T3 ve T4 olgulara İHK ile maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 BBA'da yapılan değerlendirmede düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 78 olguda sağ kalım %88,46 (n:69), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 71 olguda sağ kalım %78,87 (n:56), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 121 olguda ise sağ kalım %71,07 (n:86) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren tek bir alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0247).

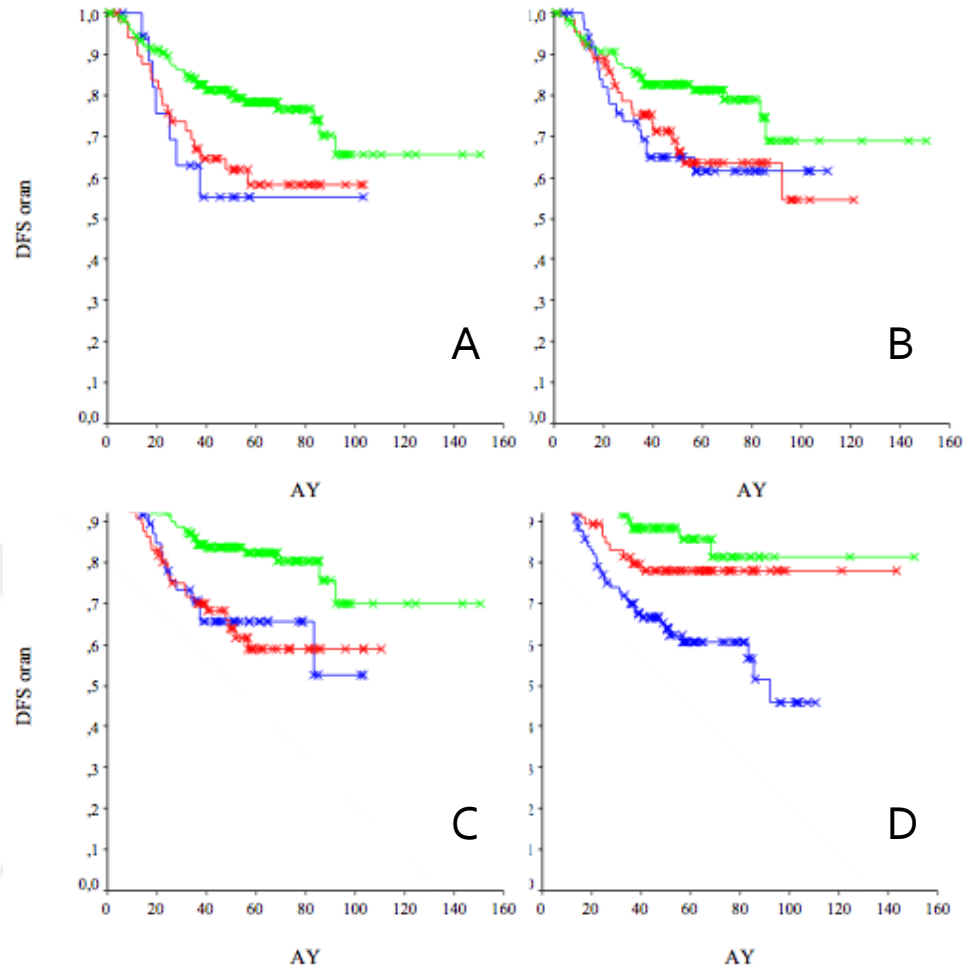
4.6. Tümör Tomurcuklanması ile Hastalıksız Sağ Kalım İlişkisi

4.6.1. Tüm Olgularda Tümör Tomurcuklanması ile Hastalıksız Sağ Kalım İlişkisi

288 olgudan 252 tanesinin hastalıksız sağ kalım verilerine ulaşılabilmektedir. Bu olgulardan tümör tomurcuklanması ile hastalıksız sağ kalım ilişkisi H&E boyalı kesitlerde 10 BBA' da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 182 olguda hastalıksız sağ kalım %78,57 (n:143), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 51 olguda hastalıksız sağ kalım %62,75(n:32), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 19 olguda ise hastalıksız sağ kalım %63,16 (n:12)

oranında saptanmıştır. Sonuç olarak H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 10 alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0,0155). Bu 252 olguda tümör tomurcuklanması ile hastalıksız sağ kalım ilişkisi H&E boyalı kesitlerde maksimum tomurcuklanma bulunduran 1 BBA' da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 134 olguda hastalıksız sağ kalım %80,60 (n:108), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 65 olguda hastalıksız sağ kalım %67,69 (n:44), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 53 olguda ise hastalıksız sağ kalım %66,04 (n:35) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0,0477).

Hastalıksız sağ kalım verisine ulaşılabilen 252 olguda tümör tomurcuklanması ile hastalıksız sağ kalım ilişkisi İHK boyalı kesitlerde 10 BBA' da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 136 olguda hastalıksız sağ kalım %81,48 (n:110), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 67 olguda hastalıksız sağ kalım %64,18 (n:43), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 49 olguda ise hastalıksız sağ kalım %67,35 (n:33) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 10 alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p: 0,0052). Bu olgularda tümör tomurcuklanması ile hastalıksız sağ kalım ilişkisi İHK boyalı kesitlerde 1 BBA' da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 74 olguda hastalıksız sağ kalım %86,49 (n:64), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 67 olguda hastalıksız sağ kalım %79,10 (n:53), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 111 olguda ise hastalıksız sağ kalım %63,06 (n:70) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren sadece 1 büyük büyütme alanında yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda %20'yi aşan azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0,0009).



Şekil 15. Tümör tomurcuklanması sağ kalım ile ilişkisi

(Yeşil çizgiler düşük tomurcuklanma, kırmızı çizgiler orta tomurcuklanma, mavi çizgilerde yüksek tomurcuklanmayı temsil etmektedir.)

(A. H&E boyalı kesitlerde 10 BBA, B. H&E boyalı kesitlerde 1 BBA, C. İHK boyalı kesitlerde 10 BBA, D. İHK boyalı kesitlerde 1 BBA)

4.6.2. Konvansiyonel Adenokarsinom Olgularında Tümör Tomurcuklanması Hastalıksız Sağ Kalım ilişkisi

Konvansiyonel adenokarsinom tanılı 232 olgumuzdan 201'inin hastalıksız sağ kalım bilgilerine ulaşılmıştır. Tümör tomurcuklanması ile hastalıksız sağ kalım ilişkisi H&E boyalı kesitlerde 10 BBA'da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 138 olguda hastalıksız sağ kalım %79,71 (n:110), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 46 olguda hastalıksız sağ kalım %60, 87 (n:28), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 17 olguda ise hastalıksız sağ kalım %64,71

(n:11) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 10 alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0,0131). Bu olgularda tümör tomurcuklanması ile hastalıksız sağ kalım ilişkisi H&E boyalı kesitlerde maksimum tomurcuklanma gösteren 1 BBA' da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 93 olguda hastalıksız sağ kalım %82,80 (n:77), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 60 olguda hastalıksız sağ kalım %68,33 (n:41), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 48 olguda ise hastalıksız sağ kalım %64,58 (n:31) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0,0317).

Konvansiyonel adenokarsinom tanılı 232 olgudan hastalıksız sağ kalım bilgisine ulaşılabilen 201 olguda tümör tomurcuklanması ve hastalıksız sağ kalım ilişkisi İHK boyalı kesitlerde 10 BBA' da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 97 olguda hastalıksız sağ kalım %82,47 (n:80), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 58 olguda hastalıksız sağ kalım %65,52 (n:38), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 45 olguda ise hastalıksız sağ kalım %66,67 (n:30) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 10 alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0,0146). Bu olgularda tümör tomurcuklanması ile hastalıksız sağ kalım ilişkisi İHK boyalı kesitlerde 1 BBA' da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 49 olguda hastalıksız sağ kalım %87,76 (n:43), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 53 olguda hastalıksız sağ kalım %81,13 (n:53), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 99 olguda ise hastalıksız sağ kalım %63,64 (n:63) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren sadece 1 büyük büyütme alanında yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0,0041).

T1 ve T2 evrelerine ait toplam 18 olgu bulunduğu için tümör tomurcuklanması ve hastalıksız sağ kalım ilişkisi istatistiksel olarak değerlendirilememiştir. T3 ve T4 evresindeki konvansiyonel adenokarsinom tanılı olgularda hastalıksız sağ kalım verilerine ulaşılabilen 185 olguda hastalıksız sağ kalım ile tümör tomurcuklanması ilişkisi H&E boyalı kesitlerde 10 BBA' da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 124 olguda hastalıksız sağ kalım %78,23 (n: 97), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 45 olguda hastalıksız sağ kalım %60,0 (n:27), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 16 olguda ise hastalıksız sağ kalım %62,50 (n:10) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak konvansiyonel adenokarsinom tanılı T3 ve T4 olgularda H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 10 alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0,0187). Bu olgularda tümör tomurcuklanması ile hastalıksız sağ kalım ilişkisi H&E boyalı kesitlerde maksimum tomurcuklanma gösteren 1 BBA' da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 83 olguda hastalıksız sağ kalım %80,72 (n:67), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 56 olguda hastalıksız sağ kalım %67,86 (n:38), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 46 olguda ise hastalıksız sağ kalım %63,04 (n:29) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş; ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır (p:0,0626). Bu olgularda hastalıksız sağ kalım ile tümör tomurcuklanması ilişkisi İHK boyalı kesitlerde 10 BBA' da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 85 olguda hastalıksız sağ kalım %81,18 (n: 69), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 56 olguda hastalıksız sağ kalım %64,29 (n:36), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 43 olguda ise hastalıksız sağ kalım %65,12 (n:28) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak konvansiyonel adenokarsinom tanılı T3 ve T4 olgularda İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 10 alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0,0193). Bu olgularda tümör tomurcuklanması ile hastalıksız sağ kalım ilişkisi İHK boyalı kesitlerde maksimum tomurcuklanma gösteren 1 BBA' da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1)

gösteren 43 olguda hastaliksız sağ kalım %86,05 (n:37), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 48 olguda hastaliksız sağ kalım %79,17 (n:38), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 94 olguda ise hastaliksız sağ kalım %62,77 (n:59) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastaliksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüştür (p:0.0113).

4.6.3. İntratümöral Tümör Tomurcuklanmasının Sağ Kalım ve Hastaliksız Yaşam ile İlişkisi

Tüm olgularda intratümöral tümör tomurcuklanması ile sağ kalım ilişkisi H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren tümör santralinde lokalize bir BBA' da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 203 olguda sağ kalım %81,77 (n:166), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 44 olguda sağ kalım %79,55 (n:35), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 41 olguda ise sağ kalım %65,85 (n:27) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren intratümöral bir alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0.0394). İntratümöral tümör tomurcuklanması ile sağ kalım ilişkisi İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren tümör santralinde lokalize bir BBA' da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 135 olguda hastaliksız sağ kalım %83,70 (n:113), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 66 olguda hastaliksız sağ kalım %78,79 (n:52), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 87 olguda ise sağ kalım %72,41 (n:63) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren intratümöral bir alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş; ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır (p:0.0596).

252 hastaliksız sağ kalım verilerine ulaşılabilen olguda intratümöral tümör tomurcuklanması ile hastaliksız yaşam ilişkisi H&E boyalı kesitlerde intratümöral bir BBA'da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 179 olguda hastaliksız

sağ kalım %75,98 (n:136), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 39 olguda hastalıksız sağ kalım %71,79 (n:28), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 34 olguda ise hastalıksız sağ kalım %67,65 (n:23) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren intratümöral bir alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş; ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır (p:0.2881). Bu olgularda intratümöral tümör tomurcuklanması ile hastalıksız sağ kalım ilişkisi İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren tümör santralinde lokalize bir BBA' da incelendiğinde düşük tomurcuklanma (Tt1) gösteren 117 olguda hastalıksız sağ kalım %82,05 (n:96), orta dereceli tomurcuklanma (Tt2) gösteren 59 olguda hastalıksız sağ kalım %72,88 (n:43), yüksek dereceli tomurcuklanma (Tt3) gösteren 73 olguda ise hastalıksız sağ kalım %63,16 (n:48) oranında saptanmıştır. Sonuç olarak İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren intratümöral bir alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır (p:0.0020).

5. TARTIŞMA

Kolorektal karsinomlar gastrointestinal kanalın en sık rastlanan kanseridir ve kanser ilişkili ölümlerin en önemli nedenlerinden biridir. KRK sık görülmesine ek olarak çeşitli morfolojik, klinik ve genetik profillere sahip olması nedeniyle gastrointestinal sistem kanserleri içinde oldukça önemli bir yere sahiptir. Türkiye'de de 2014 yılı Sağlık Bakanlığı kanser istatistiklerine göre kadın ve erkeklerde en sık görülen 3. Kanser kolon kanseridir ve insidansı her geçen yıl artmaktadır [1]. KRK riski yaşla birlikte artar; kolon kanseri tanısında median yaş erkeklerde 68, kadınlarda 72 iken; rektum kanseri için kadınlarda ve erkeklerde 63'tür. Bizim çalışmamızda ise kolon tümörlerinde median yaş erkeklerde ve kadınlarda 63; rektum tümörlerinde ise kadınlarda 60 erkeklerde 61 olarak saptanmıştır. Amerikan Kanser Topluluğu verilerine göre KRK insidansı erkeklerde kadınlardan yaklaşık %30 daha yüksek iken, mortalite oranları erkeklerde yaklaşık %40 daha yüksektir [191]. Bizim olgularımızda 288 olgunun 169'u (%58,7) erkek, 119'u (%41,3) kadındır; erkeklerde yaklaşık %40 oranında sık saptanmıştır. 5 yıllık sağ kalım değerlendirildiğinde erkeklerde sağ kalım oranı %78,70 (n: 133), kadınlarda ise %79,83 (n:95) olarak saptanmıştır. Sağ kalımda literatürlerde görülen ile uyumlu bir fark saptanmamıştır (p:0.7227).

İngiltere kanser istatistiklerine göre KRK %31 oranında sağ kolon, %32 oranında sol kolon, %29 oranında rektum ve anüs bölgesinde görülmektedir [192]. Bizim olgularımızda 103 (%35,7) olgu sağ kolon, 110 (%38,1) olgu sol kolon- sigmoid kolon ve 75 (%26) olgu rektumda lokalizedir. Kornprat P. ve ark. 381 olguluk serilerinde medyan tümör boyutunu 4.5 cm (ortalama, 4.7; (0.6-15 cm)) olarak bulmuşlar [193]. Bizim olgularımızda ise tümör uzun çapı 1 cm ile 17 cm arasında değişmekte olup, median çap 5 cm; ortalama çap 5,2 cm'dir.

Ülkemizde tanı anında kolorektal kanserlerin %35.3'ü lokal iken; %41.7' si bölgesel metastaz, %23' ü uzak metastaza sahiptir [2]. Bizim çalışmamıza dahil ettiğimiz olguların tümü tanı anında uzak organ metastazı bulundurmeyen olgulardan oluşmaktadır. Bu nedenle verilerimizi tüm KRK olguları ile karşılaştırmamız mümkün

olmamakla birlikte olgularımızın 124 (%43) tanesinde bölgesel lenf nodülü metastazı izlenirken; 21 (%7,2) tanesinde komşu organ metastazı izlenmiştir.

Adenokarsinomlar kolorektal kanserlerin büyük çoğunluğunu oluşturur ve ayrıca histolojik özelliklerine göre sınıflandırılır. Müsin üretimi, kolorektal adenokarsinomlarda ortak bir histolojik özelliktir; ancak, müsinöz adenokarsinom ve taşlı yüzük hücreli adenokarsinomda bol miktarda müsin üretimi görülür. Müsinöz adenokarsinom, tümör hücrelerinin %50' den fazla ekstrasellüler müsin üretim ile karakterize olup tüm kolorektal kanserlerin yaklaşık %5 ila %15'ini oluşturur [194]. Çalışmamızdaki olgularda müsinöz adenokarsinom %18,4 (n:53) oranında izlenmiştir. Çoğu çalışmada müsinöz adenokarsinomların sağ kolon lokalizasyonunda daha sık görüldüğü, daha büyük bir tümör boyutuna sahip olduğu ve daha ileri evrelerde saptanma eğilimine sahip olduğunu bildirilmiştir [195, 196]. Bizim 53 olgumuzun 28 (%52) tanesi sağ kolon, 9 (%17) tanesi sol kolon, 17 (%31) tanesi rektumda lokalizedir. Konvansiyonel adenokarsinom tanılı 232 olguda ortalama boyut 5,02 cm iken; müsinöz adenokarsinom tanılı olgularımızda ortalama tümör boyutu 6,19 cm' dir. Müsinöz adenokarsinom tanılı olguların 43 tanesi T3, 12 tanesi T4 olacak şekilde büyük kısmı ileri evrede tanı almıştır. Ancak konvansiyonel adenokarsinom vakaları ile karşılaştırıldığında evre açısından anlamlı fark saptanmamıştır.

Liebig C. ark. 269 olguluk serilerinde kolorektal adenokarsinomlarda yaklaşık 22% oranında perinöral invazyon bulunduğunu göstermişler ve diğer malignansilerde olduğu gibi perinöral invazyon pozitif olgularda; perinöral invazyon olmayanlara kıyasla sağ kalımın daha kötü olduğunu göstermişlerdir [197]. Bizim vakalarımızda da perinöral invazyon 79 (%27,4) olguda tespit edilmiştir. Perinöral invazyon pozitif olan olgularda sağ kalım istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde diğer olgulara göre daha düşük olarak saptanmıştır.

Tümörlerde lenfovasküler invazyonun (LVİ) histolojik olarak belirlenmesi, uzun zamandan beri bir prognostik gösterge ve hasta sağ kalımının önemli belirleyicilerinden biri olarak kabul edilmiştir. Krasna MJ. ve ark 77 olguluk çalışmalarında lenfovasküler invazyonun %37,6 oranında saptamışlar ve sağ kalımın bu grupta daha kötü olduğunu belirtmişlerdir. Bizim olgularımızda ise %64 olguda LVİ saptanmıştır ve LVİ pozitif olgularda sağ kalım anlamlı olarak daha düşük tespit

edilmiştir. Serimizde LVİ'nin literatürlere göre daha yüksek oranda bulunmasının bir nedeni çalışmamızda az sayıda T1 ve T2 evresinde olgu olması, olguların büyük çoğunun ileri evre hastaları içermesi olduğu düşünülmüştür.

Tümörlü dokularda sadece tümör hücreleri bulunmaz, farklı birçok hücre ve doku, tümör hücreleri ile bir aradadır. Bu yapılar tümör mikroçevresi olarak adlandırılır. Mikroçevrenin yapısında, normal genetik yapıya sahip stromal hücreler (stromal hücreler/ mezenşimal hücreler, endotel hücreleri, fibroblastlar ve immun hücreler), ekstrasellüler matriks ve sekresyon ürünleri (büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler) bulunmaktadır. Tümör hücreleri ile mikroçevre arasındaki sıkı bir ilişki mevcuttur. Mikroçevre tümörün oluşumunda, ilerlemesinde, tedaviye cevap oluşturmada ve metastaz gelişiminde önemli rol oynamaktadır [198]. Son yıllarda KRK başta olmak üzere bir çok tümörde mikroçevrenin H&E boyalı doku kesitlerinde morfolojik olarak değerlendirilmesinin prognostik açısından değerli olduğu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Tümör mikroçevresinin komponentlerinden biri olan stromayı yüksek oranda bulunduran tümörlerin bir çok organ tümöründe kötü prognozla ilişkili olduğunu gösterilmesi ile tümör stroma oranı prognostik bir parametre olabileceği bildirilmektedir [199]. Huijbers A. ve ark. VICTOR çalışma grubu [200, 201] olgularından RT almış olguları (preoperatif tedavinin stroma uyarıcı etkisi göz önüne alınarak rektum lokalizasyonlu olguları dışlayarak) yaptıkları çalışmada 710 kolon tümörlü olguda stroma oranını değerlendirmiş ve %29 olguda yüksek stroma oranı saptamışlar. Stroma oranına göre yaptıkları gruplamada sağ kalımı karşılaştırdıklarında ise sonuç olarak stromadan zengin grupta sağ kalım ve hastalıksız sağ kalım, stroma oranı düşük gruba göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Neoadjuvan tedavi alan olguların dahil edilmediği çalışmamızda tümör stroma oranı bu çalışma ile benzerlik göstermekte, olguların %30'unu oluşturan stromadan zengin grupta 5 yıllık hastalıksız sağ kalım daha belirgin olmakla birlikte sağ kalım ve hastalıksız sağ kalımının istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmamızda elde edilen sonuçlarda tümör stroma oranının hastalıksız sağ kalımı belirlemedeki etkinliğinin daha belirgin olması bu parametrenin aynı zamanda nüksü öngörmeye de etkili olacağı sonucunu ortaya çıkarmaktadır. Bu sonuçlar göz önüne alındığında özellikle tümör stroma oranı yüksek grupta düşük gruba göre nüks ve sağ kalım beklentisi farklı olduğu için KRK raporlamasında stroma

oranının patoloji raporunda belirtilmesinin önemli bir parametre olduğu sonucuna varılmıştır.

Literatürlerde mikroçevrenin komponentlerinden biri olan inflamatuvar hücre reaksiyonunun KRK' da biyolojik davranışı öngörmede etkisi bir çok çalışma ile ortaya konmuş ve inflamatuvar hücre reaksiyonu Jass sınıflandırmasının bir parçası olarak belirtilmiştir [202]. Klintrup K. ve ark. 374 KRK olgusunda yaptıkları bir çalışmada yüksek dereceli inflamatuvar hücre reaksiyonunu olguların yaklaşık yarısında saptamış, inflamatuvar hücre reaksiyonu ile sağ-sol kolon ya da kolon-rektum lokalizasyonları arasında anlamlı bir fark saptamamıştır. Bu çalışmada ayrıca invaziv sınırdaki yüksek dereceli inflamatuvar hücre reaksiyonu varlığı hem 5 yıllık sağ kalım; hem de 5 yıllık hastalıksız sağ kalımda bağımsız olumlu bir prognostik faktör olarak saptanmıştır. Çalışmamızda Klintrup K. ve ark.'nın önerdiği metod ile inflamatuvar hücre reaksiyonunu değerlendirdiğimizde olguların %38'inde yüksek derecede inflamatuvar hücre reaksiyonu tespit ettik ve olgularımızda tümör lokalizasyonu ile inflamatuvar hücre reaksiyonu ilişkisini değerlendirdiğimizde tümör lokalizasyonu ile inflamatuvar hücre reaksiyonu arasında anlamlı bir ilişki saptamadık. İnflamatuvar hücre reaksiyonunun 5 yıllık sağ kalım ve hastalık sağ kalım ile ilişkisi değerlendirildiğinde inflamatuvar hücre reaksiyonunun belirgin olduğu grupta sağ kalım ve hastalıksız sağ kalım literatürde de bildirilen bir çok çalışma [188, 203, 204] ile benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha iyi olduğu tespit edilmiştir.

İmmün yanıt ile ilgili prognostik kriterler arasında inflamatuvar hücre reaksiyonu yanı sıra Crohn benzeri lenfoid reaksiyonların derecelendirilmesi de bulunmaktadır. Organize lenfoid yapılar adaptif immünitede oldukça önemlidir. Kronik inflamasyonun hedeflediği dokularda B hücre foliküllerinin ve T hücre alanlarının (fonksiyonel olarak sekonder lenfoid organlara benzeyen) de novo oluşumu, üçüncü derecede lenfoid organlar olarak adlandırılır. Bunların inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalıkların patogeneze ek olarak, immün sistemin kanserin gelişimine ve ilerlemesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir [205, 206]. Crohn benzeri lenfoid reaksiyon, germinal merkezleri olan veya olmayan nodüler LA' lardan oluşur ve genellikle, KRK'nın invaziv sınırının derin kısmında (muskularis propria ve perikolik adipöz doku) yerleşir. İlk olarak Graham ve Appelman, [189] Crohn

hastalığının inflamatuvar bileşenine benzerliklerinden dolayı peritümöral LA'ları Crohn benzeri reaksiyon olarak adlandırmış ve tümörlere karşı bir çeşit konakçı immün cevabı olduğunu belirtmiştir. Bu nedenle, Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun mukozaya ilişkili lenfoid doku (MALT) ve perikolik subserozal lenf düğümleri gibi normal fizyolojik lenfoid yapılardan ayırt edilmesi gerekmektedir [189]. KKK'da artmış Crohn benzeri lenfoid reaksiyon bir çok çalışmada daha iyi sağ kalım ve hastalık evresi ile ilişkilendirilmiştir [189, 207, 208]. Crohn benzeri lenfoid reaksiyonu değerlendirmek için Graham ve Appelman tarafından LA'ların sayısı, boyutu ve germinal merkez durumunu baz alan 3'lü Gradeleme sistemi yaygın olarak kullanılmaktadır [209-211]. Graham'ın yöntemine göre, Crohn benzeri lenfoid reaksiyon değerlendirmesinin daha subjektif bir şekilde yapıldığı ve bu değerlendirmelerin tekrarlanabilirliğinin daha zor olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır [209]. Harrison ve arkadaşları [212], bu sınıflamadaki dikkat çekmeyen grup olarak adlandırdıkları Crohn benzeri reaksiyon içermeyen ya da düşük düzeyde bulunduran olguları birleştirerek Crohn benzeri lenfoid reaksiyonu belirsiz ve belirgin grubu birleştirip olarak sınıflandırmıştır. Ancak bu sınıflandırma da objektif kriterlerden oluşmamaktadır. Son dönemlerde Ueno H. ve ark [213] rutin uygulamada kullanılabilecek objektif değerlendirmeyi sağlayacak kantitatif Crohn benzeri reaksiyon kriterlerini belirlemeye çalışılmıştır. 1032 KKK' olgusunda LA sayısının prognostik etkisini incelemek için tümörün tamamını kapsayan tüm slaytlarda gözlenen toplam LA sayısı, slayt başına gözlenen ortalama LA sayısı ve CLR'nin en yoğun olduğu $\times 2$ mikroskopik objektif alanındaki LA'ların sayısını ve ek olarak, her hastadaki en büyük LA maksimum çapını değerlendirmiştir. Bu çalışmada 5 yıllık genel sağ kalımda sadece en büyük LA'nın maksimum çapı ile ilişki tespit edilmiştir. Büyük boyutlu agregatlar içeren vakalarda sağ kalım anlamlı şekilde daha iyi olarak saptanmıştır.

Crohn benzeri lenfoid reaksiyon derecelendirmesinde Graham ve Appelman'ın üçlü sınıflandırması ve Ueno ve ark.'nın en büyük LA boyutunu temel alan yöntemlerini ayrı ayrı kullandığımız çalışmamızda Graham ve Appelman'a göre olguların yaklaşık yarısında Crohn benzeri lenfoid reaksiyon izlenmezken; kalan grupta da birbirine benzer oranlarda Grade 1 ve 2 reaksiyon belirledik. En büyük LA'ın boyutuna baktığımızda ise olguların yaklaşık %25'inde büyük boyutlu aktif lenfoid

agregat varlığını saptadık. Sonuç olarak çalışmamızda Graham ve Appelman'ın üçlü sınıflandırması ve Ueno ve ark.'nın en büyük LA boyutunu temel alan yöntemleri kıyaslandığında Graham ve Appelman'a göre yapılan sınıflandırmada 5 yıllık genel sağ kalım ve hastalıksız sağ kalım değerlendirilmesinde Grade 1 ve 2 olgular arasında belirgin bir fark izlenmezken; reaksiyon bulunan (Grade1 ve Grade 2) ve bulunmayan (Grade 0) olgular arasında anlamlı bir fark tespit edildi (p: 0085). Grade 1 ve 2 olgular arasında sağ kalım açısından fark bulunmamasında kullanılan yöntemin kriterlerinin yeterince açık olmamasının etkili olabileceği düşünülmüştür. En büyük LA çapı göz önüne alınarak yapılan değerlendirmede en büyük LA boyutu 1 mm ve üzeri olan olgularda 5 yıllık sağ kalım anlamlı olarak daha iyi olarak saptanmış; bu grupta hastalıksız sağ kalım oranı da her ne kadar daha yüksek olsa da istatistiksel anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu iki yöntemi birbiriyle karşılaştırdığımızda ise Graham ve Appelman'a göre Grade 0 olan olgunların hepsinde, Grade 1 olan olguların da büyük kısmında en büyük LA boyutu 1 mm' nin altında saptanmıştır. Grade 2 olan olgularında %85' inde en büyük LA boyutu 1mm ve üstünde saptanmıştır. Sonuç olarak çalışmamızda Crohn benzeri lenfoid reaksiyon ile en büyük LA boyutu büyük oranda örtüşmektedir ve bizim çalışmamıza göre bu iki yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. 1 mm sınır değeri Crohn benzeri reaksiyonun değerlendirilmesinde tekrarlanabilirlik açısından uyumlu olmakla birlikte pratik uygulamada zorluk yaratabileceği de göz önüne alındığında elde edilen sonuçlarımız Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun bulunup bulunmadığının raporda belirtilmesinin daha önemli olduğunu göstermektedir.

Genel olarak, solid tümörlerin ortak bir özelliği olan tümör nekrozunun, hızlı tümör büyümesine bağlı olarak oluşan kronik iskemik hasarın bir sonucu olduğu kabul edilmekte ve nekroz miktarının da intratümöral hipoksinin seviyesini yansıttığı düşünülmektedir [214, 215-217]. KRK'da tümör nekrozunun prognoza etkisini değerlendiren çalışmalar mevcuttur. Ayrıca son dönemlerdeki çalışmalar sonucunda tümör nekroz oranı özellikle adjuvan tedavi kararında umut verici yeni bir prognostik parametre olarak değerlendirilmektedir. Marion J. ve ark. 381 KRK olgusunda örneklerinin %90' ından fazlasında en azından küçük tümör nekrozu odaklarının bulunduğunu belirtmiş ve nekroz varlığının ileri tümör T ve N evresi, yüksek Grade, venöz invazyon ve büyük tümör boyutu, kötü sağ kalım ile anlamlı olarak ilişkili

olduğunu saptamışlardır [190]. Olgularımızda nekroz oranı tümör boyutu, T ve N evresi ve H&E ve İHK kesitlerde 10 BBA' daki tümör tomurcuklanması ile ilişkili bulunmuştur. Ek olarak çalışmamızda skor 0-2 düzeyine nekroz içeren olgularda sağ kalım ve hastalıksız sağ kalım arasında belirgin fark izlenmezken; %30'dan fazla nekroz içeren skor 3 vakalarda sağ kalım ve hastalıksız sağ kalım belirgin olarak daha düşük bulunmuştur. H&E boyalı kesitlerde kolaylıkla değerlendirilebilir bir parametre olan tümör nekroz oranının yüksek olması durumunda rutin patoloji raporlarında bildirilmesinin hastaların takip ve tedavisinde etkili bir parametre olabileceği sonucuna varılmıştır.

Tümörün invazyon paterni ilk olarak gastrik karsinomlarda Ming ve ark. tarafından ekspansil ve infiltratif olarak iki gruba ayrılmıştır [218]. Daha sonra bir çok çalışmada da ekspansil ya da infiltratif büyüme paterninin KRK'da da prognozda etkili olduğu gösterilmiştir [202, 219]. Jass JR. 447 olgu ile yaptığı bir çalışmada olgularının 125 (%28)' inde infiltratif patern de invazyon gösterdiği bildirilmektedir. 5 yıllık sağ kalım ile ilişkisini değerlendirildiğinde sağ kalım infiltratif paternli olgularda %26, ekspansil patern gösteren olgularda ise %73 olarak saptanmıştır. Sonuç olarak infiltratif paternde invazyon bulunduran KRK olgularında sağ kalımın daha kötü olduğu tespit edilmiştir [219]. Bizim çalışmamızda ise 288 olgu invazyon paternine göre değerlendirildiğinde %45,1 olgu infiltratif paternde invazyon saptanmış, bu grupta sağ kalım ve hastalıksız sağ kalım anlamlı olarak daha düşük olarak bulunmuştur. Sonuç olarak tümörün invazyon paterni de H&E boyalı kesitlerde kolaylıkla değerlendirilebilen ve sağ kalımı etkileyen ve bir parametre olarak değerlendirilir rutin patoloji raporunda bildirmesinin faydalı olacağı sonucuna varılmıştır.

Perinöral invazyon (PNI), bir çok malignite gibi KRK' da da azalmış sağ kalım ile ilişkilendirilmektedir. Liebig C. ve ark. 269 olguda perinöral invazyonun prognoza etkisini araştırdıklarında serilerinde perinöral invazyonu olgularının %22'sinde saptamışlar ve 5 yıllık genel sağ kalım oranını; perinöral invazyon negatif tümörler için %72; perinöral invazyon pozitif tümörler için %25 olarak tespit etmişlerdir [197]. Çalışmamızda bu sonuçlarla benzer oranlarda saptadığımız perinöral invazyon

varlığının 5 yıllık genel sağ kalım ve hastalıksız sağ kalımı literatürlerle paralel şekilde azalttığı sonucuna varılmıştır.

Tümörlerde lenfovasküler invazyon (LVİ) varlığının histolojik olarak belirlenmesi, uzun zamandan beri potansiyel bir prognostik gösterge ve hasta sonucunun belirleyicisi olarak kullanılmaktadır. Birçok çalışmada kolorektal kanserde lenfovasküler invazyonun varlığının evreden bağımsız güçlü bir prognostik belirteç olduğunu gösterilmiştir [220-222]. Çalışmamızda lenfovasküler invazyon 185 (%64,2) olguda görülmüştür. Bu olgularda sağ kalım her ne kadar daha düşük olsa da istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır. Ancak olgularımızda lenfovasküler invazyon varlığının hastalıksız sağ kalım oranını anlamlı bir şekilde azalttığı tespit edilmiştir.

Imai ilk olarak 1954 yılında tümör tomurcuklanmasını “tümör filizlenmesi” olarak belirtilen, tümörün daha aktif, hızlı büyümesini yansıtan invaziv sınırdaki görülen bir morfolojik özellik olarak tanımlamıştır [148]. Her ne kadar tümör tomurcuklanması esas olarak kolorektal kanserde prognostik bir belirteç olarak tanımlanmış olsa da, son zamanlarda yapılan çalışmalarda bunun pankreas karsinoması, ampullar adenokarsinom, gastro-özofageal bölge karsinomu, akciğer ve anal skuamöz hücreli karsinomlar gibi farklı lokalizasyonlara ait tümörlerde de prognostik önemi göstermiştir [152-155]

2002 yılında, Ueno ve ark. tümör tomurcuklanmasını tümörün infiltratif sınırında izole edilmiş tek kanser hücreleri veya beşten daha az kanser hücresinden oluşan kümeler halinde tanımlamışlardır. Daha önceden tümör tomurcuklanmasını belirlemede farklı tanımlamalar kullanılırken Ueno ve arkadaşlarının yaptıkları bu tanımlama bir çok organ tümöründe çoğu patoloğ tarafından dünya çapında kullanılmaktadır [154, 223, 224] Tümör tomurcuklanması KRK’da iyi bilinen bağımsız bir prognostik faktördür [151]. Günümüzde tümör tomurcuklanması yalnızca invaziv tümör sınırında (peritümöral) değil tümör içi (intratümöral) stromada da değerlendirilmektedir [159, 225, 226]. Peritümöral tomurcuklanma değerlendirilmesi için rezeksiyon materyalleri gerekli iken, intratümöral tomurcuklanma biyopsi materyallerinde de değerlendirilebilir [151, 156].

Tümörler tomurcuklanmaya başladığında, tek tümör hücreleri veya küçük hücre yuvaları şeklinde ana tümörden ayrılır. Bu tomurcuklanan hücreler, metastaza yönelik ilk adımları temsil eder, çünkü tomurcuklanan hücreler, hücre dışı matris boyunca göç etme, lenfatik ve vasküler yapılara yayılma ve bölgesel lenf düğümleri ve uzak organlara metastaz yapma kapasitesine sahiptir. Tomurcuklanma epitelyal-mezenkimal geçişin (EMT) histolojik yansıması olarak kabul edilir. EMT embriyolojik gelişim (EMT tip I), fizyolojik olarak gerçekleşen doku tamiri (EMT tip II) ve tümör invazyonu (EMT tip III) ile ilişkilendirilmektedir. EMT’deki hücreler epitel fenotiplerini kaybederek mezenkimal fenotip kazanıp, daha fuziform bir morfoloji içereye başlarlar Fibronektin ve vimentin markerlarını, katepsin D ve B gibi lizozomal proteazları eksprese etmeye başlarlar [227-231]. Bir endopeptidaz olan katepsin D, birçok hücre içi proteinin endositozu yanı sıra hücre dışı matris (ECM) ve bazal epitel proteinlerini de yıkar. Matriks metaloproteinaz-9 (MMP-9) ve metaloproteinaz-2 (MMP-2) benzer bir rol oynar ve ilk aşamada infiltrasyon alanındaki ECM ve bazal membranın yıkımında rol alırlar [232, 233]. EMT aktivasyonu, hücre iskeletinde bazı değişiklikleri indükler, bu esnada tümör hücreleri, hücre polaritesi ve hücre-hücre adezyonu gibi epitel özelliklerini kaybeder ve mezenkimal özellikleri ve göç kapasitesi kazanırlar.

Hücreler arası adezyon proteini olan β -katenin proteini de tomurcuklanma gelişiminde rol almaktadır. KRK’da özellikle farklılaşmamış veya mezenkimal hücrelerde olmak üzere invaziv sınırındaki hücrelerinin çekirdeğinde birikir [234, 235]. Bu birikim, Wnt sinyal yolağının ve diğer onkogenik yolakları uyarır [236]. CD44 ve laminin 5 γ 2 [237] ile pozitif reaksiyona yol açar.

P16 proteini, doğrudan siklin D1 inhibitörü etkisi ile hücre siklus arresti uyardığı gibi eş zamanlı olarak siklin bağımlı kinaz 4’e (CDK4) bağlanarak siklin D1’in aktivasyonu için gerekli olduğu ve nükleusa taşınımını bloke ettiği ileri sürülmüştür. TGF- β , Snai1, Zeb1 gibi EMT’de rol alan diğer faktörler, Siklin D1’i inhibe ederek hücre siklus arrestine katkıda bulunurlar. Bu nedenle tümör tomurcuklanması hücrelerinde düşük Ki-67 proliferasyon indeksi ve kaspazlar ile düşük boyanma görülür. Rubio ve ark. [238], siklin D1 ve p16 uyarılması ve onların da hücre siklus arresti ne neden olması sebebiyle tümör tomurcuklanması alanlarında

Ki-67 indeksinin düşük olduğunu bildirmektedir. Buna ek olarak, Dawson ve ark. [239] Ki-67 ve kaspaz 3 ile tümör tomurcuklanması alanlarında yüksek ekspresyon görülmesinin prognozu olumsuz olarak etkilediğini ve artmış ölüm riski ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

Tümör tomurcuklanması, KRK'da, farklı çalışmalarda belirlenmiş çeşitli skorlama sistemlerinden bağımsız olarak prognostik değerini korumasına ve iyi bilinen bir prognostik faktör olmasına rağmen rutin patoloji uygulamasında basit ve tekrarlanabilir standart bir değerlendirme ve skorlama sistemi yoktur. Tümör alanının seçimi, uygulanan boyama yöntem (H&E veya İHK yöntemler) ve puanlama sistemi (sınır değerler) açıklığa kavuşturulması ve birden fazla çalışmada doğrulanması gereken önemli noktalardır.

Tümör tomurcuklanmasının varlığını değerlendirmek ve oranını belirlemek için puanlama ve sayma temelli iki yaklaşım kullanılmıştır. Puanlama temelli yöntemde (nitel), tümör penetrasyonunun en derin bölümünü içeren bir H&E slaytı değerlendirilerek, bu alanda tümör tomurcuklanması “yok, minimal, orta ve şiddetli” şeklinde dört sınıfa ayrılır: ve daha sonra bu sınıflar 2 kategoride birleşir: yok veya minimal (BD-1) ve orta veya şiddetli (BD-2) [165]. Puanlama temelli bu yöntemleri kullanan çalışmaların çoğu göreceli olarak tarihseldir (2005'ten önce) ve günlük uygulamada tekrarlanabilirliği daha düşüktür [240]. Sayma yönteminde (nicel) ise tomurcuklanma yoğunluğunun maksimum olduğu kabul edilen alanlar “hot spot” seçilerek değerlendirilen tümör tomurcuk sayılarına bağlı olarak düşük veya yüksek dereceli tomurcuklanmaya şeklinde gruplandırılmaktadır. [151]. Bazı çalışmalarda H&E boyalı kesitlerde bu iki farklı tümör tomurcuklanma değerlendirme yöntemi karşılaştırmış ve sayma yönteminin tomurcuklanmayı belirlemede daha etkin olduğu gösterilmiştir [167, 168]. Bu sonuçları göz önüne alarak çalışmamızda tümör tomurcuklanmasını sayma yöntemi ile değerlendirdik.

Rutin H&E boyaması kullanarak tümör tomurcuklarının değerlendirilmesinde zorluklar bulunmaktadır. Özellikle tümör çevresinde belirgin inflamasyon bulunduran olgularda histiyositler de dahil olmak üzere peritümöral inflamatuvar hücrelerin arasına gizlenen tek tek yada bir kaç hücreden oluşan tümör tomurcuklarının ayrımı çoğu zaman değerlendirmede güçlük yaratmaktadır. Ayrıca tümör hücrelerinin

desmoplastik stroma içinde aktive fibroblastlardan ve vasküler endotelden ayırımı H&E kesitlerde her zaman mümkün olmayabilir. Küçük bir tümör hücre kümesinin gerçek bir tomurcuğu mu veya daha büyük bir glandın mekanik parçalanmasını mı temsil ettiği ayırımı da ayrıca değerlendirmede dikkat edilmesi gereken bir noktadır. Bu zorlayıcı durumların çözümünde, anti-sitokeratin antikorlarıyla (AE1/AE3, CK22, CAM 5.2) [168, 241] immünohistokimyasal boyama tomurcukları vurgulamada ve onları çevreleyen stromal hücrelerden ayırt etmek için yaygın bir şekilde önerilmektedir. 2005 yılında ilk olarak Prall ve ark. tümör tomurcuklarını daha kolay tespit edebilmek amacıyla İHK boyamasını kullanmışlardır [170]. Anti-insan Pan Sitokeratin (AE1/AE3) antikoruna İHK boyamasında tüm epitelyal hücrelerde boyanma oluşturur ve lezyonların ya da hücrelerin epitelyal kökenini ortaya koyar. Epitelyal tümörlerde de Pan Sitokeratin (PanCK) ile yaygın boyanma beklenir. Tümör tomurcukları da tümörden kopan epitelyal hücreler olduğu için bu antikor tümörde tomurcuklanma varlığını değerlendirmede kullanılabilir. Tümör tomurcuklanmasının değerlendirilmesinde H&E ile boyanmış kesitlerle karşılaştırıldığında tüm epitelyal hücrelerde pozitif reaksiyon veren PanCK immünohistokimya boyalı kesitlerde yapılan tümör tomurcuklanması değerlendirmesinin için daha güvenilir sonuç verdiğine yönelik çok sayıda yayın bulunmakla birlikte meta analiz çalışmalarında prognozu belirlemedeki güç açısından H&E ve İHK boyalı kesitlerde yapılan değerlendirmeler arasında fark olmadığı bildirilmektedir [159, 225, 240, 242]. Tümör tomurcuklanmasının değerlendirmesinde önemli otörlerden biri olan Alessandro Lugli ve ark. anti-sitokeratin immünohistokimyasal boyamasının tümör tomurcuğu sayısını yaklaşık 3 kat arttığını göstermiştir [243]. Sonuç olarak pek çok çalışmada immünohistokimya kullanılmasının tümör tomurcuklanmasının tespit edilmesini arttırdığı görülmüştür, ancak prognostik değer olarak ve gözlemciler arası uyum bakımından H&E ile değerlendirme ile belirgin bir fark bulunmamaktadır [167]. Ohtsuki ve ark. tümör tomurcuklanmasının değerlendirilmesi rutin H&E boyama ve İHK boyanmasını karşılaştırdıkları 149 olgu üzerinde yaptıkları çalışmada 1 BBA' da H&E boyalı kesitlerde 6 olguda yüksek; 18 olguda orta derecede tomurcuklanma izlenirken; İHK boyalı kesitlerde 34 olguda yüksek; 31 olguda orta derecede tomurcuklanma tespit etmişler ve tomurcuklanma değerlendirmesinde yöntemin önemli bir faktör olduğunu saptamışlar [244]. Biz çalışmamızda 288 olguda 1 BBA'

da H&E boyalı kesitler ile yaptığımız değerlendirmede 59 olguda yüksek; 73 olguda orta derecede tomurcuklanma izlenirken; İHK boyalı kesitler ile yaptığımız değerlendirmede 125 olguda yüksek; 79 olguda orta derecede tomurcuklanma saptadık. Bu sonuçlar İHK boyası eşliğinde yapılan değerlendirmenin tümör tomurcuk sayısını tespitindeki farkı belirgin olarak ortaya koymaktadır.

H&E ve immünohistokimyasal yaklaşımları karşılaştırılan çalışmalarda tümör tomurcuklanmasının belirlenmesindeki İHK boyalı kesitlerdeki üstünlüğün H&E kesitlerin sorunlu olduğu tümörlerde (inflamasyondan zengin vs.) daha belirgin olduğu ve İHK'nın bu vakalarda tümör tomurcuklarının belirlenmesinde yardımcı olduğunu kanıtlanmıştır [172]. Bizim çalışmamızda da İHK boyalı kesitler ile H&E boyalı kesitler karşılaştırıldığında İHK boyalı kesitlerde 10 BBA'da yüksek derecede tomurcuklanma tespit edilen 55 olgudan sadece 22 tanesinde H&E boyalı kesitlerde de yüksek derecede tomurcuklanma tespit edilmiştir. Yüksek tomurcuklanma H&E boyalı kesitlerde de saptanan 22 olgunun sadece 2 tanesinde belirgin inflamatuvar hücre reaksiyonu izlenirken; H&E boyalı kesitlerde düşük, İHK boyalı kesitlerde yüksek düzeyde tomurcuklanma içeren 9 olgudan ise 8 tanesinde ise belirgin inflamatuvar hücre reaksiyonu izlenmiştir. Sonuç olarak çalışmamızda da H&E ve İHK kesitlerde budding arasında belirgin düzeyde fark bulunmasının nedenlerinin başında tümör çevresindeki inflamatuvar hücre reaksiyonunun geldiği gösterilmiştir.

Her ne kadar İHK boyalı kesitler tomurcuklanma değerlendirilmesinde daha güvenilir olsa da PanCK boyalı slaytlar üzerinde yapılan değerlendirmede de bazı zorluklar mevcuttur. Özellikle sahte tomurcuklar ("Pseudo-buds"), değerlendirmede dikkat edilmesi gereken önemli bir tuzaktır ve sıklıkla, H&E slaytlarında tümörün invaziv kenarında şiddetli iltihap bulunduran alanlarda gözlenir. Sadece düşük dereceli tomurcuklanan olgularda değil, iltihaplı yüksek dereceli tomurcuklanan olgularda da görülürler. Sahte tomurcukların gerçek tomurcuklanmadan ayrımı küçük büyütmeyle zordur, ancak bunlar, büyük büyütmenin kullanılmasıyla şüpheli hücrede gerçek nükleusun varlığı veya yokluğu ile ayırt edilebilir. Koelzer ve arkadaşları [175], tümör tomurcuğu diyebilmek için değerlendirilen hücre veya hücre benzeri yapılarda sitoplazmik PanCK reaktivitesinin ve boyanmayan nükleus varlığının bulunması gerektiğini vurgulamaktadır. "Pseudo-buds" ların tuzaklarından kaçınmak için,

PanCK boyanmış olan slaytlardaki tümör tomurcuklarının değerlendirilmesinde ağır iltihaplı veya nekrozlu bölgelerin dışlanması tavsiye edilmektedir. Bizde çalışmamızda sahte tomurcuk alanlarını özellikle belirgin inflamasyon içeren bölgelerde belirgin olarak izledik ve değerlendirme yaparken tomurcuklanma demek için hücrelerde boyanmamış nükleus varlığını dikkate aldık.

2016'da International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC), uluslararası KRK rehberi ve rutin uygulamada kullanılmak üzere tümör tomurcuğu değerlendirmesinde kanıta dayalı, standartlaştırılmış puanlama sistemi oluşturma amacıyla toplanmıştır [4]. Bu toplantılar sonucunda özellikle pT1 KRK'lar başta olmak üzere KRK' da tümör tomurcuklanması değerlendirmesinde veriler çoğunlukla H&E boyalı kesitlere dayandığı için tümör tomurcuklanmasının H&E kesitler üzerinde değerlendirilmesi önerilmektedir. Ek olarak, H&E' nin maliyet etkinliği, tümör tomurcuklanmasının dünya çapında değerlendirilmesine olanak sağlaması da bu görüşü desteklemektedir. Ancak bu durumun, İHK ile yapılan çalışmaların artması ile daha fazla veri elde edilmesi durumunda yeniden gözden geçirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır. Çalışmamıza H&E kesitlerde değerlendirmeyi sınırlayan, tomurcuklanmanın tanımlanmasını zorlaştıran durumlarda PanCK tümör tomurcuklarının daha iyi görüntülenmesinde yardımcı olduğunu gözlemledik. Ancak İHK boyamada da apoptotik cisimler ve tomurcuklar olarak sayılmaması gereken hücre kalıntılarının, "pseudo-buds", non-spesifik boyanmasının da değerlendirmede dikkat gerektirdiğini deneyimledik. Hem H&E, hem de İHK boyalı kesitlerde değerlendirmede yaşanan sorunlar nedeniyle ITBCC sağlıklı tümör tomurcuklanması değerlendirmesinin, sayımının yapılamadığı durumlarda, patoloji raporuna açıklayıcı bir notla tomurcuklanma için "değerlendirilemez" şeklinde yazılmasını önermektedir.

Son zamanlarda tümör tomurcuklanmasının değerlendirilmesinde 10 BBA yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemde en yüksek peritümöral tomurcuklanma yoğunluğuna sahip alanda tümör tomurcuklarının sayısı 10 BBA'da sayılarak ortalama tomurcuk sayısı belirlenmektedir [168, 169]. Bu yöntemi kullanarak, en az ortalama 5 tomurcuk sayısını alt sınır değer olarak kabul eden literatürdeki bir çok çalışmada tümör tomurcuklanması KRK olgularında %38 (%13-69) oranında saptanmıştır [170, 171], çalışmaların çoğunda tümör tomurcuklanması kötü sağ kalım

ile ilişkili bulunmuştur. ITBCC konsensus [4] değerlerini kullandığımız çalışmamızda 0-4; 5-9; ≥ 10 tomurcuk olarak gruplandığımız olgularımızda 10 BBA’da yapılan incelemelerde H&E boyalı kesitlerle %8, İHK boyalı kesitlerde %20 oranında yüksek dereceli tomurcuklanma (≥ 10 tomurcuk) tespit edilmiş ve bu grupta sağ kalım ve hastalıksız sağ kalım anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır.

Tümör tomurcuklanması değerlendirilmesinde 10 BBA’da ya da 5 BBA’ da değerlendirme yapan çalışmalar birden fazla alanda sayım yapılması tümörün tüm invaziv sınırını daha iyi temsil ettiğinden avantajlı olarak bulunmuştur [4]. Ancak fokal tümör tomurcuklanması içeren tümörlerde fazla sayıda alanda sayım yapılmasının tümördeki ortalama tomurcuklanma sayısını azaltabileceği için bazı çalışmalarda en fazla tümör tomurcuk yoğunluğuna sahip tek bir alanda (“hot spot” yöntemi) gerçekleştirmiştir. “Hot spot” yönteminde, invaziv alanlardaki tümör tomurcuklanmasını maksimum derecede yansıtan alanın seçilmesini gerektiğinden seçilecek tek “hot spot” alanını belirlemek için invaziv sınır boyunca 10 farklı alanın (x20 objektif) taranması ve en fazla tomurcuk bulunduran alanın seçilmesi önerilmektedir. Bu değerlendirme yöntemlerini karşılaştıran çalışmalardan birinde dijital platformda H&E ve PanCK ile boyanmış slaytlarda tomurcuklanmayı puanlamak için 1 ve 10 BBA yönteminlerini kullanarak yaptıkları değerlendirmede gözlemciler arası anlaşmanın, H&E’ ye göre PanCK boyalı slaytlarda daha üstün olduğu gösterilmiştir. Ayrıca PanCK boyalı kesitlede bir ya da 10 BBA’nın değerlendirmesinde tomurcuk sayımında gözlemciler arasındaki uyumun en üst seviyeye ulaştığı bildirilmektedir. Sonuç olarak farklı patoloğların “hot spot” olarak aynı bölgeyi seçmesi daha az olası olduğundan genel olarak materyaller için PanCK boyaması üzerinde 10 BBA yönteminin değerlendirilmesi ve sadece sınırlı miktarda numune mevcut olduğunda 1 BBA yönteminin kullanılması önermektedir [245]. Biz çalışmamızda yaptığımız değerlendirmelerde bir BBA’ da 10 BBA’ da saptanandan daha fazla oranda yüksek derecede tomurcuklanma tespit ettik; ancak sonuçlarımızı sağ kalım açısından karşılaştırdığımızda 10 BBA’ da yaptığımız değerlendirmelerde hem H&E, hem de İHK boyalı kesitlerde, 1 BBA’da yaptığımız değerlendirmede ise sadece İHK boyalı kesitlerde yüksek derecede tomurcuklanma gösteren olgularda anlamlı şekilde daha kötü 5 yıllık genel sağ kalım saptadık. H&E boyalı kesitlerde ise 1 BBA’ da yapılan değerlendirmede tomurcuklanma ve sağ kalım arasında anlamlı bir

ilişki saptamadık. Hastaliksız sağ kalım karşılaştırıldığında ise hem H&E, hem de İHK kesitlerde 1 ve 10 BBA'da yapılan değerlendirmelerde olgularda tomurcuklanma seviyesi arttıkça hastaliksız sağ kalım oranında anlamlı şekilde azalma saptadık. Çalışmamızda dijital ortamda yapılan değerlendirme rutin mikroskop uygulamalarına göre değerlendirme kalitesini ve standartını yükselten bir faktördür. Elde ettiğimiz sonuçlar tomurcuklanma değerlendirmesinin H&E boyalı kesitlerde 10BBA'da yapılmasını, H&E kesitte tümör mikroçevresi ile ilgili değerlendirme güçlüğü yaratan ek bulgular olması durumunda İHK ile epitelyal belirteçlerle boyama yapılarak değerlendirmenin yapılmasını ve kesitlerde en fazla tomurcuklanmanın olduğu bir BBA'da sayımın yapılmasının uygun olacağını göstermektedir. Sonuç olarak sonuçlarımız ITBCC'nin öneri ve kriterleri ile örtüşmektedir. Bu sonuçlarla tomurcuklanma değerlendirmesinin H&E boyalı kesitlerde 10BBA'da yapılmasının, H&E kesiti değerlendirilen tümör ilişkili ek bulgular nedeniyle sorun olması durumunda İHK ile epitelyal belirteçlerle boyalı kesitlerde en fazla tomurcuklanmanın olduğu bir BBA'da sayımın yapılmasının uygun olduğu sonucu ITBCC'nin belirlediği kriterleri ve yöntemi tam olarak desteklemektedir.

Tümör tomurcuklanması genellikle tümörün invazyon yaparak çevre dokuya yayılan sınır kısımlarında değerlendirilse de bazı çalışmalarda tümörün invaziv kenarın dışında, içinde bulunan tomurcuklanmanın da (intratümöral tomurcuklanma) peritümöral tomurcuklanma ile benzer prognostik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. ITBCC grubu da intratümöral tomurcuklanma varlığının lenf nodülü metastazını öngörmede önemli prognostik etkisi olduğunu ortaya koymuşlardır [4]. Bir kaç çalışmada da pre-operatif biyopsilerde intratümöral tomurcuklanmanın aynı olguya ait KRK rezeksiyon materyallerindeki yüksek dereceli peritümöral tomurcuklanma ve lenf nodülü metastazları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [246-248]. Ek olarak intratümöral budding varlığı; yüksek T ve N evresi, vasküler invazyon, infiltratif marjın, kötü sağ kalım ve peritümöral budding ile ilişkili olarak saptanmıştır [156]. Bizim çalışmamızda ise H&E ve İHK boyalı kesitlerde yüksek derecede intratümöral tümör tomurcuklanma bulunduran olguların yaklaşık yarısında lenf nodülünde metastaz saptanmış ve bu olguların düşük derecede intratümöral tümör tomurcuklanma bulunduran vakalara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha sık lenf nodülü metastazı gösterdikleri görülmüştür. Ancak, her ne karar intratümöral tomurcuklanmanın biyopsi

materyallerinde lenf nodülü metastazı, uzak metastaz, kötü sağ kalım ile ilişkili olduğu bilinse de [225, 249] rezeksiyon materyallerindeki önemi biyopsilerdeki kadar açık değildir. Bununla birlikte, rezeksiyon materyallerinde intratümöral tomurcuklanmaya karar vermek ve peritümöral tomurcuklanmadan ayırımını yapmak her zaman kolay olmamaktadır. Rieger G. ve ark 1 ve 10 BBA’da peritümöral ve intratümöral tomurcuklanmanın klinikopatolojik etkisini belirlemek 215 olgu ile yaptıkları çalışmalarında peritümöral, intratümöral ve toplam (peritümöral veya intratümöral tomurcuklanmadan daha yüksek değerde olanı seçilmiştir) tomurcuklanmanın birbirine paralel olduğunu, tümör tomurcuklanmasının en yoğun bölgesi tanımlandığı sürece, tümör içi lokalizasyonun peritümöral veya intratümöral olmasının bir fark yaratmadığını bildirmektedir. Bu çalışmada, intratümöral veya peritümöral tek bir “hot spot” da yapılan değerlendirmenin 10 farklı BBA’da yapılan değerlendirme ile sağ kalım açısından benzer şekilde performans gösterdiğini saptamış; tümörün herhangi bir yerinde lokalize olan tek bir “hot spot” da tomurcuklanmanın sayılmasının yeterli olduğu sonucuna ulaşmışlardır [250]. Çalışmamızda tek “hot spot” üzerinden değerlendirilen intratümöral tomurcuklanma değerlendirilmesinde H&E boyalı kesitlerde istatistiksel olarak anlamlı şekilde tomurcuklanma sayısı arttıkça anlamlı bir şekilde sağ kalımda azalma görülmüş; ancak hastalıksız sağ kalım ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Aynı değerlendirme İHK boyalı kesitlerde yapıldığında tümör tomurcuklanması arttıkça sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş; ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır. Sonuç olarak her ne kadar intratümöral tomurcuklanma KRK hastalarının ameliyat öncesi biyopsi materyallerinde lenf nodülü metastazını öngörmede ümit verici bir biyobelirteç olsa da, şu anda rutin raporlamasını destekleyecek yeterli kanıt olmaması nedeniyle ITBCC grubu, intratümöral tomurcuklanma raporlamasının rutin uygulamada uygulanmasından önce bu alanda daha fazla araştırma yapılmasını önermektedir [4]. Çalışmamızda peritümöral tomurcuklanmanın lenf nodülü metastazı ile ilişkisini göstermiş olsak da değerlendirmeyi rezeksiyon materyallerinde yaptığımız için bu olguların biyopsi örneklerindeki intratümöral tomurcuklanma sonuçları ile karşılaştırma imkanımız olmamıştır. Bundan sonraki adımlarda bu olgularda biyopsi ve rezeksiyon materyaline ait intratümöral tomurcuklanma verilerinin karşılaştırması ve diğer prognostik verilerle olan ilişkisinin araştırılması bu konuda daha ileri bir yorumda bulunmamıza katkı sağlayabilir.

Tümör tomurcuklarını dijital olarak değerlendirmek için ilk girişim, 2014 yılında PanCK ve D2-40 ile multipleks immünofloresan yöntemleri kullanarak yapılmış ve bu çalışmada değerlendirmede gözlemciler arası değişkenliği büyük ölçüde azaltmıştır [174]. Bizim çalışmamızda da değerlendirme dijital ortamlarda taranan slaytlar üzerinden yapılmıştır. Çalışmamızda dijital görüntüleme eşliğinde değerlendirmenin pek çok faydasını tespit ettik. Örneğin dijital programlarda tüm slayt kesiti aynı anda görülebilir ve bu sayede peritümöral ve intratümöral sınırlar bir bütün halinde değerlendirilebilir. Dijital görüntüleme değerlendirmeyi daha geniş ve yüksek çözünürlükte bir görüntü üzerinde yapmamızı sağlar. Değerlendirme alanları sistem yardımı ile istediğimiz bölgeleri içerecek şekilde kolaylıkla işaretlenebilir ve bu alanlarda daha sonra büyük büyütme ile hücreler ayrıntılı olarak değerlendirilebilir. Ayrıca sistem tarafından işaretlenen tomurcuklanma hücrelerinin sayısını daha sonra programın hesaplama fonksiyonu yardımıyla hatasız şekilde değerlendirebiliriz.

Koelzer ve ark. 236 KRK olgusu ile yaptıkları çalışmada tümör tomurcuklanması ile yaş veya cinsiyet, tümör boyutu, tümörün lokalizasyonu veya tümörün histolojik alt tipi ile tümör derecesi durumu arasında ilişki bildirilmemektedir [175]. Olgularımızda ise tümör tomurcuklanması ile hasta yaşı ile ilişki saptanmazken; erkek hastalarda kadınlara göre belirgin şekilde daha düşük tomurcuklanma izlenmiştir. Tümörün Grade'i ile tomurcuklanma arasında anlamlı ilişki saptanmazken; tümör boyutu arttıkça buddingin azaldığı görülmüştür ve bu istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Tümör boyutu ve budding arasındaki bu ilişkinin tümör tomurcuklanmasını daha düşük oranda izlediğimiz müsinöz adenokarsinom olgularımızda tümör boyutunun tomurcuklanmanın belirgin olarak izlendiği konvansiyonel adenokarsinom vakalarına göre anlamlı şekilde daha fazla olması nedeniyle olduğu düşünülmüştür.

Mehta A. ve ark. 60 olgu ile yaptıkları çalışmada İHK boyalı kesitlerde 10 BBA' da tümör tomurcuklanmasının tümör lokalizasyonu, tümör boyutu, tümörün histolojik Grade'i, histolojik alt tipi, invazyon derinliği, AJCC evresi ile ilişkisiz olduğunu; sadece nodal tutulum ile tümör tomurcuklanması arasında anlamlı ilişki bulunduğunu saptamışlardır. Aynı değerlendirmeyi maksimum tomurcuklanma içeren bir alanda yaptıklarında ise tümör tomurcuklanmasının tümör lokalizasyonu, tümör

boyutu, tümörün histolojik Grade'i, histolojik alt tipi, invazyon derinliği ile ilişkisiz olduğu görülmüş; nodal tutulumu ek olarak AJCC evresi ile de tümör tomurcuklanması arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır [251]. Bizim çalışmamızda ise İHK kesitlerde 10 BBA'da yapılan değerlendirmede tümör tomucuklanması ile Crohn benzeri reaksiyonun derecesi, tümör stroma oranı, tümör boyutu, tümör nekrozu, tümörün invazyon paterni ve perinöral invazyon durumu, T evresi, tümörün makroskopik görünümü, lenf nodülü durumu ile ilişki saptanmış; Crohn benzeri reaksiyondaki en büyük lenfoid agregat boyutu, inflamatuvar hücre reaksiyonu derecesi ve lenfovasküler invazyon, tümör Grade'i, tümör lokalizasyonu ve tümör depoziti varlığı arasında anlamlı ilişki gözlenmemiştir. Aynı değerlendirmeyi maksimum tomurcuklanma içeren bir alanda yaptığımızda ise Crohn benzeri reaksiyonun derecesi, tümör stroma oranı, tümör boyutu, tümörün invazyon paterni ve perinöral invazyon durumu, T evresi, tümörün makroskopik görünümü, lenfovasküler invazyon, lenf nodülü durumu ile ilişki saptanmış; Crohn benzeri reaksiyondaki en büyük lenfoid agregat boyutu, inflamatuvar hücre reaksiyonu derecesi ve tümör Grade'i, tümör nekroz oranı, tümör lokalizasyonu ve tümör depoziti varlığı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Ohtsuki K. ve ark. ise 149 KRK olgusunda yaptıkları çalışmada 10 BBA'da H&E ve İHK boyalı kesitlerde tomurcuklanmanın sağ kalım ve diğer bazı histolojik parametrelerde ilişkisini incelemiş, HE boyama ile değerlendirildiğinde tomurcuklanma, T evresi, lenf nodülü metastazı ve nüks ile, İHK boyalı kesitlerde ise T evresi, venöz invazyon ve nüks ile anlamlı olarak ilişkili saptanmıştır [173]. Bizim olgularımızda da literatüre benzer şekilde H&E ile 10 BBA'da değerlendirilen tomurcuklanma ile T evresi, lenf nodülü metastazı ve kanser nüksü insidansı ile İHK boyalı kesitlerde 10 BBA'da değerlendirilen tomurcuklanma ile T evresi ve nüks ile anlamlı olarak ilişkili saptanmıştır. Ancak farklı olarak İHK boyalı kesitlerde tomurcuklanma ve lenfovasküler invazyon arasında ilişki saptanmadı.

Ueno ve ark. KRK olgularda tümör tomurcuklanmasının, sadece tümörün lokal yayılımını yansıtmakla kalmayıp, aynı zamanda sadece primer kolorektal kanserli hastalarda değil, aynı zamanda karaciğer metastazı olan hastalarda da sağ kalım üzerindeki etkisini kanıtlamış, tomurcuklanmanın tümör agresifliğinin bir belirleyicisi olabileceğini bildirmiştir [160]. KRK'da prognostik etkisi bilenen tümör

tomurcuklanmasının ITBCC tarafından artık özellikle bazı hasta gruplarında da prognostik olarak daha önemli olması nedeniyle hasta yönetimini kolaylaştırmak için patoloji raporlarında histolojik derece, lenfovasküler invazyon varlığı bir prognostik gösterge olarak bildirilmesi gerektiğini ortaya konmuştur [4].

Tümör tomurcuklanmasının sağ kalım ile ilişkisi değerlendirildiğinde ilk olarak pT1 evresindeki KRK olgularında tümör tomurcuklanması varlığı ile lenf nodülü metastazı arasında bir çok çalışmada anlamlı bir ilişki saptanmıştır [161, 163, 252]. Bu olgularda endoskopik rezeksiyon sonrası yüksek Grade, lenfovasküler invazyon ve submukozal invazyonun derinliği gibi parametrelere benzer şekilde lenf nodülü metastazı varlığını öngörmeye, radikal cerrahiye aday olguların seçiminde yardımcı olabileceğinden tümör tomurcuklanmasının raporlarda bulunması gerektiği vurgulanmaktadır. Bizim çalışmamızda ise olgularımızdan sadece 3 tanesi T1 evresinde olduğundan ve bu vakaların tümü düşük derecede budding bulundurduğundan bu vakalarda tümör tomurcuklanmasının diğer parametreler ile ilişkisi değerlendirmek ve bu konuda yorumda bulunmak mümkün olmamıştır.

AJCC/ TNM evreleme sistemi [187], KRK takip ve tedavisi için altın standart olmaya devam etmektedir. Lenf nodülü metastazı bulunduran Evre III kolorektal kanserli olgulara genel olarak adjuvan kemoterapi uygulamakta, buna karşın Evre II olan hastalara diğer prognostik açıdan diğer yüksek riskli özellikler (tümör perforasyonu, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, serozal tutulum (pT4a), yakın/belirsiz/pozitif cerrahi sınırlar, yetersiz lenf nodülü diseksiyonu) bulunduğu durumlarda adjuvan tedavi uygulanmamaktadır. Bazı Evre II kolorektal kanser hastalarının, adjuvan kemoterapi alan Evre III kolorektal kanser hastalarından daha kötü sağ kalım gösterdiği bildirilmektedir [253, 254]. Çok sayıda çalışmada ve meta-analiz yayınında tümör tomurcuklanmasının, Evre II ve Evre III KRK'da bağımsız nüks ve sağ kalım belirleyicisi olduğu gösterilmiştir [166, 255-258]. Evre II kolorektal kanserde yüksek derecede tomurcuklanan olgularda, düşük dereceli tomurcuklanan veya tomurcuklanma olmayan olgulara kıyasla hastalıksız sağ kalımın daha kısa olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle, yüksek dereceli tümör tomurcuğu olan evre II kolorektal kanserli hastalara adjuvan tedavi önerilmektedir [164, 225, 259]. Bu verilere dayanarak, Evre II KRK'da ITBCC grubu tümör

tomurcuklanmasının yüksek risk faktörleri arasında yer almasını şiddetle tavsiye etmektedir. Çalışmamızda da tanı anında Evre II olan 141 olguda H&E ile 10 BBA’ da yaptığımız değerlendirmede tomurcuklanma sayısı ile sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. H&E kesitlerde 1 BBA’da yada İHK kesitlerde 1 ve 10 BBA’ da yapılan değerlendirmede de tomurcuklanma sayısı arttıkça sağ kalımda azalma görülmüş; ancak istatistiksel anlamlılık görülmemiştir. Hastalıksız sağ kalım ile ilişki değerlendirildiğinde yüksek düzeyde tomurcuklanma gösteren olgularla düşük düzeyde tomurcuklanma içerenler arasında H&E kesitlerde yaklaşık %36 oranında, İHK kesitlerde ise %20 oranında hastalıksız sağ kalımda fark saptanmıştır. Ayrıca H&E ve İHK kesitlerde 1 ve 10 BBA’da yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması arttıkça hastalıksız sağ kalım anlamlı olarak azalmaktadır. Bu da Evre 2 olgularımızda tümör tomurcuklanmasının sağ kalımı ön görmedeki gücünden daha belirgin olarak hastalıksız sağ kalımı ön görmede (nüks olasılığını belirlemede) daha etkili olduğu sonucunu ortaya koymakta ve literatür bilgilerini desteklemektedir.

6. SONUÇLAR

- Çalışmamızda sporadik KRK'lı olgularda morfolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle tümör buddinginin (tomurcuklanmasının) değerlendirilmesi, diğer morfolojik bulgularla ve prognozla ilişkisini değerlendirmeyi amaçladık.
- Çalışmamızda prognozu bilenen KRK olgu grubunda 232 konvansiyonel adenokarsinom, 53 müsinöz adenokarsinom, 3 taşlı yüzük hücreli karsinom olgusu saptanmıştır.
- Olguların 169'u(%58,7) erkek, 119'u (%41,3) kadındır. Yaş aralığı 28-90 yaş arasında değişmektedir ve ortalama yaş 62'dir.
- Tümörler lokalizasyonuna göre gruplandırıldığında 103 olgu sağ kolon, 110 olgu sol kolon, 75 olgu rektumda lokalizedir.
- KRK tanılı olguların tümör boyutları 1 cm-17 cm arasında değişmektedir ve ortalama 5,2 cm'dir. Makroskopik olarak 178 (%61,8) tanesi ülserovejetan, 49 (%17) tanesi polipoid, 61(%21,2) tanesi ülser görünümündedir.
- Olguların T evresi 3 olguda (%1) T1, 15 olguda (%5,2) T2, 200 olguda (%69,4) T3, 70 olguda (%24,2) T4 (49'u T4a, 21'i T4b) olarak saptanmıştır.
- Olguların N evresi 150 olguda (%52,1) N0, 46 olguda (%16) N1a, 37 olguda (%12,8) N1b, 14 olguda (%4,9) N1c, 23 olguda (%8) N2a, 18 olguda (%6,3) N2b olarak saptanmıştır.
- Olguların 2'si (%0,8) Grade 1, 203'ü (%86,5) Grade 2, 31'i (%12,7) Grade 3 özelliğindedir.
- Tümör stroma oranı 199 (%69,1) olguda düşük düzeyde iken; 89 (%30,9) olguda tümör stroma oranı yüksek düzeyde belirlenmiştir.

- İnflamatuar hücre reaksiyonu 70 (%24,3) olguda izlenmezken, 107 (%37,2) olguda minimal, 53 (%18,4) olguda orta şiddette ve 58 (%20,1) olguda şiddetli düzeyde saptanmıştır. Sonuçta olgular gruplandırıldığında 177 (%61,5) olgu düşük düzeyde, 111 (%38,5) olgu ise yüksek düzeyde inflammatuar hücre reaksiyonu içermektedir.
- Crohn benzeri lenfoid reaksiyon 142 (%49,3) olguda izlenmezken, 75 (%26,0) olguda Grade 1, 71 (%24,7) olguda Grade 2 düzeyinde saptanmıştır.
- En büyük LA' ların boyutu değerlendirildiğinde ise 218 olguda (%76) en büyük agregat 1 mm den daha kısa bir uzun çapa sahip (inaktif) iken, 70 olguda (%24) en büyük LA 1mm ve üstü uzun çapa sahiptir (aktif).
- Metastaz izlenen 124 lenf nodülünden 46 tanesinde (%37,0) en az bir lenf nodülünde ekstrakapsüler yayılım izlenmiştir.
- 158 (%54,9) olgu ekspansil/ itici tarzda invazyon gösterirken; 130 (%45,1) olgu ise infiltratif paternde invazyon göstermektedir.
- Lenfovasküler invazyon 103 (%35,8) olguda izlenmezken, 185 (%64,2) olguda görülmüştür. Perinöral invazyon 79 (%27,4) olguda izlenirken; 209 (%72,6) olguda görülmemiştir.
- Buna göre sağ kolon lokalizasyonlu tümörlerde Crohn benzeri lenfoid reaksiyonun Grade'i (p:0,126) ve en büyük LA'nın uzun çapının 1mm ve üstü olması (p:0,239) diğer lokalizasyonlara göre yüksek oranda saptanmıştır.
- Müsinöz adenokarsinomlarda konvansiyonel adenokarsinomlara kıyasla daha fazla Crohn benzeri lenfoid reaksiyon, daha az inflammatuar hücre reaksiyonu olduğu tespit edilmiştir; ancak konvansiyonel adenokarsinomlar ile müsinöz adenokarsinomlar arasında ekstrakapsüler invazyon, tümör

depoziti , N evresi, Crohn benzeri lenfoid reaksiyondaki en büyük LA' nın boyutu arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır.

- Tümör tomurcuklanması 10 BBA'da H&E boyalı kesitlerde 22 olguda (%7,6), İHK boyalı kesitlerde 55 olguda (%19,2); 1 BBA'da H&E boyalı kesitlerde 59 olguda (%20,5), İHK boyalı kesitlerde 125 olguda (43,4) yüksek derecede saptanmıştır.
- Tümör tomurcuklanması yaş ile ilişkisiz iken erkek cinsiyette belirgin olarak daha düşük düzeyde saptanmıştır.
- Tümör tomurcuklanması histolojik parametrelerden Crohn benzeri reaksiyonun Grade'i, Stroma oranı, inflammatuar hücre reaksiyonu, histolojik alt tip, tümörün invazyon paterni, tümörün makroskopik görünümü, nekroz oranı, ekstrakapsüler yayılım, perinöral invazyon varlığı, tümör boyutu, T evresi, lenf nodülü metastazı ile ilişkilidir.
- Parametrelerde genel sağ kalım değerlendirildiğinde; histolojik alt tip, tümörün makroskopik görünümü, tümörün invazyon paterni, PNI varlığı, LVI varlığı, T evresi, N evresi, EKY varlığı, inflammatuar hücre reaksiyonunun derecesi, Crohn benzeri reaksiyonun Grade'i, en büyük lenfoid agregat boyutu, tümör stroma oranı sağ kalım ile anlamlı bir şekilde ilişkili olarak saptanmıştır, ancak cinsiyet, tümör boyutu, tümör lokalizasyonu, tümörde nekroz oranı ile sağ kalım arasında bir ilişki tespit edilmemiştir.
- H&E ve İHK boyalı kesitlerde 10 BBA' da değerlendirilen tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalım belirgin olarak azalmaktadır.
- H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren tek bir alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş; ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır. İHK boyalı kesitlerde ise tümör tomurcuklanması sayısı

arttıkça sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır.

- T1 evresine ait 3 ve T2 evresine ait 15 olgu olduğu için bu iki grupta vaka sayılarının sınırlı olması nedeniyle tomurcuklanma ile sağ kalım ve hastalıksız sağ kalım arasında istatistiksel değerlendirme mümkün olmamıştır.
- 200 adet T3 olgu H&E boyalı kesitlerde 1 ve 10 BBA' da , İHK boyalı kesitte 10 BB' da değerlendirildiğinde tümör tomurcuklanması düşük olan olgularda orta-yüksek derecede tomurcuklanma gösteren olgulara göre daha iyi sağ kalım izlenmiş; ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanamamıştır. İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren tek bir alanda yapılan değerlendirmede ise tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağ kalımda azalma anlamlı şekilde saptanmıştır.
- Olgularımızın 252 tanesinde hastalıksız sağ kalım verilerine ulaşılabiliştir.
- H&E ve İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 ve 10BBA'da yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır.
- Konvansiyonel adenokarsinom tanılı 232 olguda H&E ve İHK boyalı kesitlerde 10 BBA' da değerlendirilen tümör tomurcuklanması az olan olgularda sağ kalım diğer olgulara göre belirgin olarak daha yüksek saptanmıştır. 1 BBA'da yapılan değerlendirmede de benzer sonuçlar saptanırken; İHK boyalı kesitlerde yapılan değerlendirmede istatistiksel anlamlılık saptanmış, H&E boyalı kesitlerde saptanamamıştır.
- Konvansiyonel adenokarsinom olgularında hastalıksız sağ kalım değerlendirildiğinde H&E ve İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren 1 ve 10 alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır.
- H&E boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren intratümöral bir alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması

sayısı arttıkça sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır. İHK boyalı kesitlerde de aynı eğilim görülmüş; ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır.

- İHK boyalı kesitlerde maksimum tümör tomurcuklanması içeren intratümöral bir alanda yapılan değerlendirmede tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça hastalıksız sağ kalımda azalma eğilimi görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır. H&E boyalı kesitlerde de aynı eğilim görülmüş; ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır.
- İntratümöral tomurcuklanma derecesi arttıkça lenf nodülü metastazı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla oranda tespit edilmiştir.
- Hastalıksız sağ kalım patolojik parametrelerden tümörün makroskopik görünümü, tümör stroma oranı, inflamatuvar hücre reaksiyonu, Crohn benzeri reaksiyonun Grade'i, LVI, PNI varlığı, T evresi ile ilişkili iken; nekroz oranı, tümörün lokalizasyonu, en büyük LA boyutu ile ilişkisizdir.
- Evre 2 tümörlerimizde tümör tomurcuklanması H&E kesitlerde 10 BBA' da değerlendirdirildiğinde tomurcuklanma oranı arttıkça anlamlı bir şekilde sağ kalım ve hastalıksız sağ kalım azalmaktadır.

ÖZET

Amaç: Kolorektal karsinomlar (KRK) kanser ilişkili ölümlerin en önemli nedenlerinden biridir. Kolorektal kanser tüm dünyada akciğer, meme ve prostat kanserinden sonra sıklık olarak 4. sırada görülmekte olup, kolorektal adenokarsinom gastrointestinal kanalın en sık rastlanan kanseridir. Kolorektal kanser olgularının çoğunluğu sporadiktir. Kolon tümörlerinin çok büyük bir bölümünü adenokarsinomlar oluşturmaktadır. Tümör tomurcuğu (budding) oluşumu kolorektal kanseri olguların seyrinde bağımsız bir prognostik faktördür. Ayrıca yüksek TNM evresi, yüksek tümör derecesi, lenfovasküler invazyon ve dolayısıyla lenf nodülü metastazı ve uzak metastaz gelişimi ile ilişkilidir. Kolorektal kanserli olgularda tümör tomurcuklanması potansiyel olarak hasta yönetimini kolaylaştırmak için prognostik faktör olarak kullanıldığı durumlar bildirilmektedir. Endoskopik olarak rezeke edilen pT1 kolorektal kanserli olgularda, tümör tomurcuklanması varlığında lenfovasküler invazyon yapma olasılığında belirgin bir artış söz konusudur. Bu sonuçlar nedeniyle tümör tomurcuklanması bulunan hastalara rezeksiyon uygulanması gündeme gelmektedir. Evre II kolorektal kanserlerde tümör tomurcuklanması olan olguların hastalıksız sağkalımın daha kısa olduğu bildirilmektedir. Ayrıca ameliyat öncesi biyopsilerde değerlendirilen tümör tomurcuklanmasının neo-adjuvan tedavi uygulanacak hastaların seçilmesinde önemli olabilir.

Materyal ve Metot: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bilim Dalında takip ve tedavisi yapılan, 2000 - 2010 tarihleri arasında KRK tanısı alan tüm hastalar yaş ve cinsiyet ayrımı yapılmadan bilgisayar kayıt arşiv sisteminden tarandı. Çalışmaya hastane kayıtlarından klinik takibi olan 306 hasta alındı. Polipozis sendromlu olgular (7 FAP, 2 Atenué FAP, 1 serrated polipozis), neoadjuvan tedavi alan hastalar (6 olgu); diğer organlarında metakron invaziv tümörü olan hastalar çalışma dışı bırakıldı (2 olgu). Toplamda, 306 hastanın 288'i incelemeye alındı. H&E boyalı preparatların hepsi Crohn benzeri lenfoid reaksiyon, inflamatuvar hücre reaksiyonu, tümör stroma oranı, tümör nekroz oranı, tümörün invazyon paterni (ekspansil/infiltratif), lenfovasküler ve perinöral invazyon durumu, satellite tümör nodülü, metastatik lenf nodüllerinde ekstrakapsüler yayılım varlığı açısından değerlendirilmiştir. Tümör tomurcuklanmasını en iyi temsil eden bloktan alınan yeni

kesitlere H&E ve immünohistokimyasal PanCK boyanması uygulanmıştır. Tümör tomurcuklanması dijital ortamda değerlendirilmiştir.

Sonuçlar: Çalışmamızda prognozu bilenen KRK olgu grubunda 232 konvansiyonel adenokarsinom, 53 müsinöz adenokarsinom, 3 taşlı yüzük hücreli karsinom olgusu saptanmıştır. Olguların 169'u (%58,7) erkek, 119'u (%41,3) kadındır. Yaş aralığı 28-90 yaş arasında değişmektedir ve ortalama yaş 62'dir. Tümör tomurcuklanması 10 BBA'da H&E boyalı kesitlerde 22 olguda (%7,6), İHK boyalı kesitlerde 55 olguda (%19,2); 1 BBA'da H&E boyalı kesitlerde 59 olguda (%20,5), İHK boyalı kesitlerde 125 olguda (43,4) yüksek derecede saptanmıştır. Tümör tomurcuklanması histolojik parametrelerden Crohn benzeri reaksiyonun Grade'i, stroma oranı, inflamatuvar hücre reaksiyonu, histolojik alt tip, tümörün invazyon paterni, tümörün makroskopik görünümü, nekroz oranı, ekstrakapsüler yayılım, perinöral invazyon varlığı, tümör boyutu, T evresi, lenf nodülü metastazı ile ilişkilidir. Histolojik alt tip, tümörün makroskopik görünümü, tümörün invazyon paterni, PNI varlığı, LVI varlığı, T evresi, N evresi, EKY varlığı, inflamatuvar hücre reaksiyonunun derecesi, Crohn benzeri reaksiyonun Grade'i, en büyük lenfoid agregat boyutu, tümör stroma oranı sağkalım ile anlamlı bir şekilde ilişkili olarak saptanmıştır. Metotların büyük kısmında tümör tomurcuklanması sayısı arttıkça sağkalım belirgin olarak azalmaktadır.

Tartışma: KRK' da bilenen LVI, PNI, lenf nodülü tutulumu yanı sıra tümör tomurcuklanmasının varlığının, tümörde yüksek stroma oranı olmasının, tümör mikroçevre yanıtının az olmasının, metastatik lenf nodüllerinde ekstrakapsüler invazyon olmasının sağkalım ve hastalıksız yaşam ile olumsuz olarak ilişkili olduğunu tespit ettik. Sonuçlarımız KRK patoloji raporlarında hastanın sağkalımını öngörmede yardımcı olacağı için varlığı durumunda raporda bildirilmesinin önemini vurgulamaktadır.

Anahtar sözcükler: Kolorektal karsinom, Tümör tomurcuklanması, Tümör mikroçevresi, Prognoz

SUMMARY

Aim: Colorectal carcinoma (CRC) is one of the leading causes of cancer-related mortality. CRC is the 4th most common cancer after lung, breast and prostate cancer and it is the most common cancer of gastrointestinal tract. Most of the CRC cases are sporadic and 90% of all CRC cases are adenocarcinoma. Tumor budding is one of the prognostic factors in CRC. It is also associated with high TNM grade, high tumor grade, lymphovascular invasion, and development of lymph node and distant organ metastasis. Presence of tumor budding can change patient management in certain conditions. Tumor budding in endoscopically resected pT1 CRC cases is correlated with lymphovascular invasion and surgical resection is favored in these cases by some authors. Grade II CRC cases with tumor budding have shorter survival than cases without. Neoadjuvant chemotherapy can be utilized in endoscopically biopsied CRC cases with tumor budding before resection.

Material and Method: All patients who were followed-up and treated in Ankara University Department of Oncology between 2000 –2010 were screened from the computer registry archive system without age and gender discrimination. 306 patients with clinical follow-up and having pathological resection material were identified. Patients with polyposis syndromes, neoadjuvant treatment, and invasive metacron tumors were excluded. 288 patients were included for further analysis. Crohn-like reaction, inflammatory cell reaction, tumor stroma ratio, tumor necrosis ratio, invasion pattern of the tumor (expansile/infiltrative), lymphovascular and perineural invasion, satellite tumor nodule, extra-capsular invasion of metastatic lymph nodes were evaluated in H&E specimens. Tumor budding was evaluated in H&E and immunohistochemically (IHC) PanCK stained specimens.

Results: There were 232 conventional colorectal adenocarcinomas, 53 mucinous adenocarcinomas, 3 signet ring cell carcinomas. The mean age was 62 (range, 28-90) and 169 (58.7%) of the patients were male. Tumor budding was observed in 22 (7.6%) cases in H&E and 55 (19.2%) cases in IHC staining in 10 HPF and 59 (20.5%) cases in H&E and 125 (43.4%) in 1 HPF. Tumor budding was correlated with grade of Crohn-like reaction, stroma ratio, inflammatory cell reaction,

histological subtype, invasion pattern of tumor, macroscopic appearance of the tumor, necrosis ratio, extracapsular invasion, perineural invasion, tumor size, T grade, and lymph node metastasis. The histological subtype, macroscopic appearance of the tumor, invasion pattern of tumor, perineural invasion, lymphovascular invasion, T grade, N grade, extra-capsular invasion, the grade of the inflammatory reaction, the grade of Crohn-like reaction, size of biggest lymphoid aggregate, tumor-stroma ratio was associated with survival. Increase in tumor budding was a predictor of shorter survival.

Conclusions: Our results show the presence of tumor budding, high tumor-stroma ratio, lower tumor microenvironment reaction, extra-capsular invasion of the metastatic lymph nodes are associated with shorter disease free and overall survival in CRC. Our results suggests inclusion of these criteria in the routine histopathological report of colorectal carcinoma.

Key Words: Colorectal carcinoma, Tumor budding, Tumor microenvironment, Prognosis

KAYNAKÇA

1. Gültekin, M. and G.J.S.B. Boztaş, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, *Türkiye kanser istatistikleri*. 2014. **43**.
2. Ries, L.A., et al., SEER cancer statistics review, 1975-2003. 2006.
3. Fund, W.C.R. and A.I.f.C. Research, Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Vol. 1. 2007: Amer Inst for Cancer Research.
4. Lugli, A., et al., Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. 2017. **30**(9): p. 1299.
5. Pınar, İ., Konvansiyonel kolonoskopi ile geçilemeyen obstrüktif kolon kitleli ya da dolikokolon olan olguların 64 kesitli bilgisayarlı tomografi sanal kolonoskopi ile değerlendirilmesi. 2014.
6. Snell, R.J.Ç.-İ.N.T.K., Clinical Anatomy for Medical Students (Çeviri editör: Yıldırım M) 6th. 2004: p. 212-319.
7. Arıncı, K. and A.J.G.K. Elhan, Ankara, *Anatomi 1. cilt*. 1995. **388**.
8. Netter, F.H. and S. Colacino, *Atlas of human anatomy*. 1989: Ciba-Geigy Corporation.
9. Odar, İ.V., *Anatomi ders kitabı*. 1986: Hacettepe Taş Kıpçılık.
10. Horvat, N., I. Petkovska, and M.J.J.R.C. Gollub, *MR Imaging of Rectal Cancer*. 2018. **56**(5): p. 751-774.
11. Junqueira, L.C., et al., *Temel histoloji*. 1993: Barış Kitabevi.
12. Guyton, A.C., et al., *Tıbbi fizyoloji*. 2007: Nobel Tıp Kitabevleri.
13. De Leon, M.P., C.J.D. Di Gregorio, and L. Disease, *Pathology of colorectal cancer*. 2001. **33**(4): p. 372-388.

14. Bray, F., et al., Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018. **68**(6): p. 394-424.
15. Howlader, N., A. Noone, and M. Krapcho, Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2012 (updated August 20, 2015). National Cancer Institute, Bethesda, MD, based on November 2014 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2015. 2016.
16. Howlader, N., et al., SEER cancer statistics review, 1975–2013. 2016. **19**.
17. O'keefe, S.J.J.N.r.G. and hepatology, Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer. 2016. **13**(12): p. 691.
18. O'Keefe, S.J., et al., Fat, fibre and cancer risk in African Americans and rural Africans. 2015. **6**: p. 6342.
19. Steins Bisschop, C.N., et al., Weight change later in life and colon and rectal cancer risk in participants in the EPIC-PANACEA study. 2013. **99**(1): p. 139-147.
20. Brennan, C.A. and W.S.J.A.r.o.m. Garrett, Gut microbiota, inflammation, and colorectal cancer. 2016. **70**: p. 395-411.
21. Aune, D., et al., Dairy products and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. 2012. **23**(1): p. 37-45.
22. Song, M., W.S. Garrett, and A.T.J.G. Chan, Nutrients, foods, and colorectal cancer prevention. 2015. **148**(6): p. 1244-1260. e16.
23. Kushi, L.H., et al., American Cancer Society Guidelines on Nutrition and Physical Activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. 2006. **56**(5): p. 254-281.
24. Walter, V., et al., Smoking and survival of colorectal cancer patients: systematic review and meta-analysis. 2014. **25**(8): p. 1517-1525.
25. Yang, B., et al., Active smoking and mortality among colorectal cancer survivors: the Cancer Prevention Study II nutrition cohort. 2015. **33**(8): p. 885-893.

26. Bagnardi, V., et al., Light alcohol drinking and cancer: a meta-analysis. 2012. **24**(2): p. 301-308.
27. Bagnardi, V., et al., Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose–response meta-analysis. 2015. **112**(3): p. 580.
28. Chan, A.T., et al., Long-term use of aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of colorectal cancer. 2005. **294**(8): p. 914-923.
29. Bains, S.J., et al., Aspirin as secondary prevention in patients with colorectal cancer: an unselected population-based study. 2016. **34**(21): p. 2501-2508.
30. Chubak, J., et al., Aspirin Use for the Prevention of Colorectal Cancer. 2015.
31. Terry, P., et al., Prospective study of major dietary patterns and colorectal cancer risk in women. 2001. **154**(12): p. 1143-1149.
32. Patel, S.G. and D.J.J.C.g.r. Ahnen, Familial colon cancer syndromes: an update of a rapidly evolving field. 2012. **14**(5): p. 428-438.
33. Johns, L.E. and R.S.J.T.A.j.o.g. Houlston, A systematic review and meta-analysis of familial colorectal cancer risk. 2001. **96**(10): p. 2992-3003.
34. Butterworth, A.S., J.P. Higgins, and P.J.E.j.o.c. Pharoah, Relative and absolute risk of colorectal cancer for individuals with a family history: a meta-analysis. 2006. **42**(2): p. 216-227.
35. Samadder, N.J., et al., Increased risk of colorectal neoplasia among family members of patients with colorectal cancer: a population-based study in Utah. 2014. **147**(4): p. 814-821. e5.
36. Peters, U., et al., Meta-analysis of new genome-wide association studies of colorectal cancer risk. 2012. **131**(2): p. 217-234.
37. Jass, J. and S.J.G. Stewart, Evolution of hereditary non-polyposis colorectal cancer. 1992. **33**(6): p. 783-786.
38. de la Chapelle, A.J.F.c., The incidence of Lynch syndrome. 2005. **4**(3): p. 233-237.

39. Win, A.K., et al., Determining the frequency of de novo germline mutations in DNA mismatch repair genes. 2011. **48**(8): p. 530-534.
40. Lin, C.-C., et al., Clinicopathologic features and prognostic analysis of MSI-high colon cancer. 2012. **27**(3): p. 277-286.
41. Lynch, H.T., T. Smyrk, and J.F.J.O. Lynch, Molecular genetics and clinical-pathology features of hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma (Lynch syndrome). 1998. **55**(2): p. 103-108.
42. Lynch, H.T., et al., Milestones of Lynch syndrome: 1895–2015. 2015. **15**(3): p. 181.
43. Vasen, H., et al., The international collaborative group on hereditary non-polyposis colorectal cancer (ICG-HNPCC). 1991. **34**(5): p. 424-425.
44. Lynch, H.T. and A.J.N.E.J.o.M. De la Chapelle, *Hereditary colorectal cancer*. 2003. **348**(10): p. 919-932.
45. Lindor, N.M., et al., Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing in phenotyping colorectal tumors. 2002. **20**(4): p. 1043-1048.
46. Vasen, H.F., et al., New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. 1999. **116**(6): p. 1453-1456.
47. Umar, A., et al., Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. 2004. **96**(4): p. 261-268.
48. Bosman, F.T., et al., WHO classification of tumours of the digestive system. 2010: World Health Organization.
49. Delnatte, C., et al., Contiguous gene deletion within chromosome arm 10q is associated with juvenile polyposis of infancy, reflecting cooperation between the BMPR1A and PTEN tumor-suppressor genes. 2006. **78**(6): p. 1066-1074.
50. Friedl, W., et al., Juvenile polyposis: massive gastric polyposis is more common in MADH4 mutation carriers than in BMPR1A mutation carriers. 2002. **111**(1): p. 108-111.

51. Handra-Luca, A., et al., Vessels' morphology in SMAD4 and BMPR1A-related juvenile polyposis. 2005. **138**(2): p. 113-117.
52. Aretz, S., et al., High proportion of large genomic deletions and a genotype–phenotype update in 80 unrelated families with juvenile polyposis syndrome. 2007. **44**(11): p. 702-709.
53. Gallione, C.J., et al., A combined syndrome of juvenile polyposis and hereditary haemorrhagic telangiectasia associated with mutations in MADH4 (SMAD4). 2004. **363**(9412): p. 852-859.
54. Howe, J.R., F.A. Mitros, and R.W.J.A.o.s.o. Summers, The risk of gastrointestinal carcinoma in familial juvenile polyposis. 1998. **5**(8): p. 751-756.
55. Lindor, N.M., M.H. Greene, and M.F.C.P.J.J.J.o.t.N.C. Institute, *The concise handbook of family cancer syndromes*. 1998. **90**(14): p. 1039-1071.
56. Jenne, D.E., et al., Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine threoninekinase. 1998. **18**(1): p. 38.
57. Tan, M.-H., et al., Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations. 2012. **18**(2): p. 400-407.
58. Stanich, P.P., et al., Colonic manifestations of PTEN hamartoma tumor syndrome: case series and systematic review. 2014. **20**(7): p. 1833.
59. Cendan, J.C. and K.E.J.S.C.o.N.A. Behrns, Associated neoplastic disease in inflammatory bowel disease. 2007. **87**(3): p. 659-672.
60. Lashner, B.A., et al., The effect of folic acid supplementation on the risk for cancer or dysplasia in ulcerative colitis. 1997. **112**(1): p. 29-32.
61. Tung, B.Y., et al., Ursodiol use is associated with lower prevalence of colonic neoplasia in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. 2001. **134**(2): p. 89-95.
62. Pardi, D.S., et al., Ursodeoxycholic acid as a chemopreventive agent in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. 2003. **124**(4): p. 889-893.

63. Xie, J. and S.H.J.W.j.o.g.W. Itzkowitz, *Cancer in inflammatory bowel disease*. 2008. **14**(3): p. 378.
64. Tsilidis, K.K., et al., Type 2 diabetes and cancer: umbrella review of meta-analyses of observational studies. 2015. **350**: p. g7607.
65. Ogino, S. and A.J.T.J.o.M.D. Goel, Molecular classification and correlates in colorectal cancer. 2008. **10**(1): p. 13-27.
66. Vogelstein, B., et al., Genetic alterations during colorectal-tumor development. 1988. **319**(9): p. 525-532.
67. Rowan, A., et al., APC mutations in sporadic colorectal tumors: a mutational “hotspot” and interdependence of the “two hits”. 2000. **97**(7): p. 3352-3357.
68. Kumar, V., et al., Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book. 2014: Elsevier health sciences.
69. Wang, Z., et al., Three classes of genes mutated in colorectal cancers with chromosomal instability. 2004. **64**(9): p. 2998-3001.
70. Zhao, Y., et al., Aberrations of BUBR1 and TP53 gene mutually associated with chromosomal instability in human colorectal cancer. 2014. **34**(10): p. 5421-5427.
71. Pino, M.S. and D.C.J.G. Chung, The chromosomal instability pathway in colon cancer. 2010. **138**(6): p. 2059-2072.
72. Lin, B., et al., Overexpression of Aurora-C interferes with the spindle checkpoint by promoting the degradation of Aurora-B. 2014. **5**(3): p. e1106.
73. Fearon, E.R. and B.J.C. Vogelstein, A genetic model for colorectal tumorigenesis. 1990. **61**(5): p. 759-767.
74. Smith, G., et al., Mutations in APC, Kirsten-ras, and p53—alternative genetic pathways to colorectal cancer. 2002. **99**(14): p. 9433-9438.
75. Weisenberger, D.J., et al., CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. 2006. **38**(7): p. 787.

76. Sameer, A.S., S. Nissar, and K.J.E.J.o.C.P. Fatima, Mismatch repair pathway: molecules, functions, and role in colorectal carcinogenesis. 2014. **23**(4): p. 246-257.
77. Fevr, T., et al., Wnt/ β -catenin is essential for intestinal homeostasis and maintenance of intestinal stem cells. 2007. **27**(21): p. 7551-7559.
78. Behrens, J., The role of the Wnt signalling pathway in colorectal tumorigenesis. 2005, Portland Press Limited.
79. Segditsas, S. and I.J.O. Tomlinson, Colorectal cancer and genetic alterations in the Wnt pathway. 2006. **25**(57): p. 7531.
80. Kohonen-Corish, M., et al., Promoter methylation of the mutated in colorectal cancer gene is a frequent early event in colorectal cancer. 2007. **26**(30): p. 4435.
81. Fukuyama, R., et al., Mutated in colorectal cancer, a putative tumor suppressor for serrated colorectal cancer, selectively represses β -catenin-dependent transcription. 2008. **27**(46): p. 6044.
82. Starr, T.K., et al., A transposon-based genetic screen in mice identifies genes altered in colorectal cancer. 2009. **323**(5922): p. 1747-1750.
83. Pangon, L., et al., The “mutated in colorectal cancer” protein is a novel target of the UV-induced DNA damage checkpoint. 2010. **1**(9): p. 917-926.
84. Koch, S.J.D., Extrinsic control of Wnt signaling in the intestine. 2017. **97**: p. 1-8.
85. Takayama, T., et al., Colorectal cancer: genetics of development and metastasis. 2006. **41**(3): p. 185-192.
86. Omar, N.M. and A.A.J.E.J.o.H. El-Hawwary, The possible ameliorating effect of *Nigella sativa* oil on tramadol-induced apoptosis in the motor area of rat cerebral cortex: a histological and immunohistochemical study. 2014. **37**(1): p. 124-131.
87. Wang, J.-Y., et al., Molecular mechanisms underlying the tumorigenesis of colorectal adenomas: correlation to activated K-ras oncogene. 2006. **16**(6): p. 1245-1252.

88. Vakiani, E. and D.B.J.T.J.o.p. Solit, KRAS and BRAF: drug targets and predictive biomarkers. 2011. **223**(2): p. 220-230.
89. Al-Sohaily, S., et al., Molecular pathways in colorectal cancer. 2012. **27**(9): p. 1423-1431.
90. Pretlow, T.P. and T.G.J.B.e.B.A.-R.o.C. Pretlow, Mutant KRAS in aberrant crypt foci (ACF): initiation of colorectal cancer? 2005. **1756**(2): p. 83-96.
91. Wang, W., et al., Prognostic values of chromosome 18q microsatellite alterations in stage II colonic carcinoma. 2010. **16**(47): p. 6026.
92. Boland, C.R., et al., A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. 1998, AACR.
93. Bonasio, R., S. Tu, and D.J.s. Reinberg, *Molecular signals of epigenetic states*. 2010. **330**(6004): p. 612-616.
94. Kim, M.S., et al., DNA methylation markers in colorectal cancer. 2010. **29**(1): p. 181-206.
95. Curtin, K., M.L. Slattery, and W.S.J.P.r.i. Samowitz, CpG island methylation in colorectal cancer: past, present and future. 2011. **2011**.
96. Esteller, M.J.N.E.J.o.M., *Epigenetics in cancer*. 2008. **358**(11): p. 1148-1159.
97. Portela, A. and M.J.N.b. Esteller, Epigenetic modifications and human disease. 2010. **28**(10): p. 1057.
98. Esteller, M.J.H.m.g., Epigenetic gene silencing in cancer: the DNA hypermethylation. 2007. **16**(R1): p. R50-R59.
99. Frigola, J., et al., Epigenetic remodeling in colorectal cancer results in coordinate gene suppression across an entire chromosome band. 2006. **38**(5): p. 540.
100. Wong, J.J., et al., Methylation of the 3p22 region encompassing MLH1 is representative of the CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. 2011. **24**(3): p. 396.

101. Irizarry, R.A., et al., The human colon cancer methylome shows similar hypo- and hypermethylation at conserved tissue-specific CpG island shores. 2009. **41**(2): p. 178.
102. Malik, P., N. Zuleger, and E.C. Schirmer, Nuclear envelope influences on genome organization. 2010, Portland Press Limited.
103. Mohammad, H.P., et al., Polycomb CBX7 promotes initiation of heritable repression of genes frequently silenced with cancer-specific DNA hypermethylation. 2009. **69**(15): p. 6322-6330.
104. Matsubara, N.J.D.o.t.C. and Rectum, Epigenetic regulation and colorectal cancer. 2012. **55**(1): p. 96-104.
105. Gruber, S.B.J.G., New developments in Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) and mismatch repair gene testing. 2006. **130**(2): p. 577-587.
106. Tian, Y., et al., Protein profiling and sizing of extracellular vesicles from colorectal cancer patients via flow cytometry. 2018. **12**(1): p. 671-680.
107. Mesteri, I., et al., Improved molecular classification of serrated lesions of the colon by immunohistochemical detection of BRAF V600E. 2014. **27**(1): p. 135.
108. O'Brien, M.J.J.G.c.o.N.A., Hyperplastic and serrated polyps of the colorectum. 2007. **36**(4): p. 947-968.
109. Rex, D.K., et al., Serrated lesions of the colorectum: review and recommendations from an expert panel. 2012. **107**(9): p. 1315.
110. Cui, M., et al., Loss of Hes1 differentiates sessile serrated adenoma/polyp from hyperplastic polyp. 2016. **40**(1): p. 113.
111. Wiland IV, H.O., et al., Morphologic and molecular characterization of traditional serrated adenomas of the distal colon and rectum. 2014. **38**(9): p. 1290-1297.
112. Kim, K.-M., et al., KRAS mutations in traditional serrated adenomas from Korea herald an aggressive phenotype. 2010. **34**(5): p. 667-675.

113. Sekine, S., et al., Comprehensive characterization of RSPO fusions in colorectal traditional serrated adenomas. 2017. **71**(4): p. 601-609.
114. Bettington, M., et al., The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges. 2013. **62**(3): p. 367-386.
115. Toyota, M., et al., CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. 1999. **96**(15): p. 8681-8686.
116. Smyrk, T.C., et al., Tumor-infiltrating lymphocytes are a marker for microsatellite instability in colorectal carcinoma. 2001. **91**(12): p. 2417-2422.
117. Rajagopalan, H., et al., Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. 2002. **418**(6901): p. 934.
118. Kuebler, J.P., et al., Oxaliplatin combined with weekly bolus fluorouracil and leucovorin as surgical adjuvant chemotherapy for stage II and III colon cancer: results from NSABP C-07. 2007. **25**(16): p. 2198-2204.
119. Güller, U., et al., Molecular investigation of lymph nodes in colon cancer patients using one-step nucleic acid amplification (OSNA) A new road to better staging? 2012. **118**(24): p. 6039-6045.
120. Kerr, S.E., et al., APC germline mutations in individuals being evaluated for familial adenomatous polyposis: a review of the Mayo Clinic experience with 1591 consecutive tests. 2013. **15**(1): p. 31-43.
121. Liu, C., et al., Sessile serrated adenomas with dysplasia: morphological patterns and correlations with MLH1 immunohistochemistry. 2017. **30**(12): p. 1728.
122. Pai, R.K., et al., Immunohistochemistry for annexin A10 can distinguish sporadic from Lynch syndrome-associated microsatellite-unstable colorectal carcinoma. 2014. **38**(4): p. 518-525.
123. Adackapara, C.A., et al., Immunohistochemistry using the BRAF V600E mutation-specific monoclonal antibody VE1 is not a useful surrogate for genotyping in colorectal adenocarcinoma. 2013. **63**(2): p. 187-193.
124. Funkhouser Jr, W.K., et al., Relevance, pathogenesis, and testing algorithm for mismatch repair-defective colorectal carcinomas: a report of the association for molecular pathology. 2012. **14**(2): p. 91-103.

125. Laghi, L., et al., Re: Revised Bethesda guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. 2004. **96**(18): p. 1402-1403.
126. Lancet, Q.C.G.J.T., Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomised study. 2007. **370**(9604): p. 2020-2029.
127. Febbo, P.G., et al., NCCN Task Force report: Evaluating the clinical utility of tumor markers in oncology. 2011. **9**(Suppl 5): p. S-1-S-32.
128. Lasota, J., et al., Detection of the BRAF v600e mutation in colon carcinoma—critical evaluation of the imunohistochemical approach. 2014. **38**(9): p. 1235.
129. Odze, R.D. and J.R. Goldblum, Surgical pathology of the GI tract, liver, biliary tract, and pancreas. 2009: Elsevier Health Sciences.
130. Thibodeau, S.N., G. Bren, and D.J.S. Schaid, Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. 1993. **260**(5109): p. 816-819.
131. Goel, A., C.N. Arnold, and C.R.J.G. Boland, Multistep progression of colorectal cancer in the setting of microsatellite instability: new details and novel insights. 2001. **121**(6): p. 1497-1501.
132. Jass, J.R., Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. Histopathology, 2007. **50**(1): p. 113-30.
133. Pérez-Cabornero, L., et al., Evaluating the effect of unclassified variants identified in MMR genes using phenotypic features, bioinformatics prediction, and RNA assays. 2013. **15**(3): p. 380-390.
134. Gonzalez, R.S., et al., Adenoma-like adenocarcinoma: a subtype of colorectal carcinoma with good prognosis, deceptive appearance on biopsy and frequent KRAS mutation. 2016. **68**(2): p. 183-190.
135. Lee, H.J., et al., Colorectal micropapillary carcinomas are associated with poor prognosis and enriched in markers of stem cells. 2013. **26**(8): p. 1123.
136. Gonzalez, R.S., et al., Micropapillary colorectal carcinoma: clinical, pathological and molecular properties, including evidence of epithelial–mesenchymal transition. 2017. **70**(2): p. 223-231.

137. Liddell, C., et al., Mapping clinicopathological entities within colorectal mucinous adenocarcinomas: a hierarchical clustering approach. 2017. **30**(8): p. 1177.
138. Agaimy, A., et al., SWI/SNF Complex–deficient Undifferentiated/Rhabdoid Carcinomas of the Gastrointestinal Tract. 2016. **40**(4): p. 544-553.
139. Zauber, P., et al., Similarities of molecular genetic changes in synchronous and metachronous colorectal cancers are limited and related to the cancers' proximities to each other. 2013. **15**(5): p. 652-660.
140. Whitehall, V., B.J.J.o.g. Leggett, and hepatology, Microsatellite instability: detection and management in sporadic colorectal cancer. 2011. **26**(12): p. 1697-1699.
141. Yoon, Y.S., et al., Mismatch repair status in sporadic colorectal cancer: immunohistochemistry and microsatellite instability analyses. 2011. **26**(12): p. 1733-1739.
142. Panarelli, N.C., et al., Histologic features and cytologic techniques that aid pathologic stage assessment of colonic adenocarcinoma. 2013. **37**(8): p. 1252-1258.
143. Boyle, P. and B. Levin, *World cancer report 2008*. 2008: IARC Press, International Agency for Research on Cancer.
144. McGregor, D.K., et al., Reduced expression of cytokeratin 20 in colorectal carcinomas with high levels of microsatellite instability. 2004. **28**(6): p. 712-718.
145. Okoń, K., et al., CDX-2 expression is reduced in colorectal carcinomas with solid growth pattern and proximal location, but is largely independent of MSI status. 2004. **55**(3): p. 9-14.
146. Vasievich, E.A. and L.J.M.p. Huang, The suppressive tumor microenvironment: a challenge in cancer immunotherapy. 2011. **8**(3): p. 635-641.
147. Jass, J. and M.J.P. Smith, Sialic acid and epithelial differentiation in colorectal polyps and cancer—a morphological, mucin and lectin histochemical study. 1992. **24**(4): p. 233-242.

148. IMAI, T.J.O. and Gynecology, Growth patterns in human carcinoma: their classification and relation to prognosis. 1960. **16**(3): p. 296-308.
149. Gabbert, H.J.C. and M. Reviews, Mechanisms of tumor invasion: evidence from in vivo observations. 1985. **4**(4): p. 293-309.
150. Morodomi, T., et al., An index for estimating the probability of lymph node metastasis in rectal cancers. Lymph node metastasis and the histopathology of actively invasive regions of cancer. 1989. **63**(3): p. 539-543.
151. Ueno, H., et al., Tumour budding as an index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer. 2002. **40**(2): p. 127-132.
152. Brown, M., et al., Tumour budding and a low host inflammatory response are associated with a poor prognosis in oesophageal and gastro-oesophageal junction cancers. 2010. **56**(7): p. 893-899.
153. Ohike, N., et al., Tumor budding as a strong prognostic indicator in invasive ampullary adenocarcinomas. 2010. **34**(10): p. 1417.
154. Yamaguchi, Y., et al., Histopathologic features of the tumor budding in adenocarcinoma of the lung: tumor budding as an index to predict the potential aggressiveness. 2010. **5**(9): p. 1361-1368.
155. Karamitopoulou, E., et al., Tumour budding is a strong and independent prognostic factor in pancreatic cancer. 2013. **49**(5): p. 1032-1039.
156. Lugli, A., et al., Intratumoral budding as a potential parameter of tumor progression in mismatch repair-proficient and mismatch repair-deficient colorectal cancer patients. Human Pathology, 2011. **42**(12): p. 1833-1840.
157. Shinto, E., et al., A novel classification of tumour budding in colorectal cancer based on the presence of cytoplasmic pseudo-fragments around budding foci. 2005. **47**(1): p. 25-31.
158. <Budding (Sprouting) as a Useful Prognostic Marker in Colorectal Mucinous Carcinoma.pdf>.
159. van Wyk, H.C., et al., The role of tumour budding in predicting survival in patients with primary operable colorectal cancer: a systematic review. Cancer Treat Rev, 2015. **41**(2): p. 151-9.

160. Ueno, H., et al., Predictors of extrahepatic recurrence after resection of colorectal liver metastases. 2004. **91**(3): p. 327-333.
161. Bosch, S.L., et al., Predicting lymph node metastasis in pT1 colorectal cancer: a systematic review of risk factors providing rationale for therapy decisions. 2013. **45**(10): p. 827-841.
162. Kawachi, H., et al., A three-tier classification system based on the depth of submucosal invasion and budding/sprouting can improve the treatment strategy for T1 colorectal cancer: a retrospective multicenter study. 2015. **28**(6): p. 872.
163. Rogers, A., et al., Systematic review and meta-analysis of the impact of tumour budding in colorectal cancer. 2016. **115**(7): p. 831.
164. Kajiwar, Y., et al., Risk factors of nodal involvement in T2 colorectal cancer. 2010. **53**(10): p. 1393-1399.
165. Hase, K., et al., Prognostic value of tumor “budding” in patients with colorectal cancer. 1993. **36**(7): p. 627-635.
166. Nakamura, T., et al., Tumor budding as an index to identify high-risk patients with stage II colon cancer. 2008. **51**(5): p. 568-572.
167. Puppa, G., et al., Diagnostic reproducibility of tumour budding in colorectal cancer: a multicentre, multinational study using virtual microscopy. 2012. **61**(4): p. 562-575.
168. Horcic, M., et al., Tumor budding score based on 10 high-power fields is a promising basis for a standardized prognostic scoring system in stage II colorectal cancer. *Hum Pathol*, 2013. **44**(5): p. 697-705.
169. Karamitopoulou, E., et al., Proposal for a 10-high-power-fields scoring method for the assessment of tumor budding in colorectal cancer. 2013. **26**(2): p. 295.
170. Prall, F., H. Nizze, and M.J.H. Barten, Tumour budding as prognostic factor in stage I/II colorectal carcinoma. 2005. **47**(1): p. 17-24.
171. Zlobec, I., et al., Characterization of the immunological microenvironment of tumour buds and its impact on prognosis in mismatch repair-proficient and-deficient colorectal cancers. 2011. **59**(3): p. 482-495.

172. Losi, L., et al., Prognostic significance of histological features and biological parameters in stage I (pT1 and pT2) colorectal adenocarcinoma. 2006. **202**(9): p. 663-670.
173. Ohtsuki, K., et al., Prognostic value of immunohistochemical analysis of tumor budding in colorectal carcinoma. 2008. **28**(3B): p. 1831-1836.
174. Quantification of tumour budding, lymphatic vessel density and invasion through image analysis in colorectal cancer. 2014. **12**.
175. Koelzer, V.H., et al., Tumor budding in colorectal cancer revisited: results of a multicenter interobserver study. *Virchows Arch*, 2015. **466**(5): p. 485-93.
176. Kinoshita, H., et al., Pathological changes of advanced lower-rectal cancer by preoperative radiotherapy. 2004. **51**(59): p. 1362-1366.
177. Du, C., et al., Morphology and prognostic value of tumor budding in rectal cancer after neoadjuvant radiotherapy. 2012. **43**(7): p. 1061-1067.
178. Huebner, M., et al., Partial pathologic response and nodal status as most significant prognostic factors for advanced rectal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy. 2012. **36**(3): p. 675-683.
179. Zlobec, I., et al., Role of APAF-1, E-cadherin and peritumoural lymphocytic infiltration in tumour budding in colorectal cancer. 2007. **212**(3): p. 260-268.
180. Kevans, D., et al., Epithelial-mesenchymal transition (EMT) protein expression in a cohort of stage II colorectal cancer patients with characterized tumor budding and mismatch repair protein status. 2011. **19**(6): p. 751-760.
181. De Smedt, L., et al., Microsatellite instable vs stable colon carcinomas: analysis of tumour heterogeneity, inflammation and angiogenesis. 2015. **113**(3): p. 500.
182. Graham, R.P., et al., Tumor Budding in Colorectal Carcinoma: Confirmation of Prognostic Significance and Histologic Cutoff in a Population-based Cohort. *Am J Surg Pathol*, 2015. **39**(10): p. 1340-6.
183. Prall, F. and C.J.H.p. Ostwald, High-degree tumor budding and podia-formation in sporadic colorectal carcinomas with K-ras gene mutations. 2007. **38**(11): p. 1696-1702.

184. Dawson, H., et al., The apoptotic and proliferation rate of tumour budding cells in colorectal cancer outlines a heterogeneous population of cells with various impacts on clinical outcome. 2014. **64**(4): p. 577-584.
185. Lugli, A., et al., CD8+ lymphocytes/tumour-budding index: an independent prognostic factor representing a 'pro-/anti-tumour' approach to tumour host interaction in colorectal cancer. 2009. **101**(8): p. 1382.
186. Steinestel, K., et al., Invasion pattern and histologic features of tumor aggressiveness correlate with MMR protein expression, but are independent of activating KRAS and BRAF mutations in CRC. 2014. **465**(2): p. 155-163.
187. Amin, M.B., et al., The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. 2017. **67**(2): p. 93-99.
188. Klintrup, K., et al., Inflammation and prognosis in colorectal cancer. *Eur J Cancer*, 2005. **41**(17): p. 2645-54.
189. Graham, D.M. and H.D. Appelman, Crohn's-like lymphoid reaction and colorectal carcinoma: a potential histologic prognosticator. *Mod Pathol*, 1990. **3**(3): p. 332-5.
190. Pollheimer, M.J., et al., Tumor necrosis is a new promising prognostic factor in colorectal cancer. *Hum Pathol*, 2010. **41**(12): p. 1749-57.
191. Society, A.C., *Colorectal cancer facts & figures 2017–2019*. 2017, American Cancer Society Atlanta, GA.
192. Thrumurthy, S.G., et al., Colorectal adenocarcinoma: risks, prevention and diagnosis. 2016. **354**: p. i3590.
193. Kornprat, P., et al., Value of tumor size as a prognostic variable in colorectal cancer: a critical reappraisal. 2011. **34**(1): p. 43-49.
194. J Verhulst, L.F., 2 P Demetter, 3 W Ceelen, Mucinous subtype as prognostic factor in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Pathol*, 2012. **65**.

195. Hyngstrom, J.R., et al., Clinicopathology and outcomes for mucinous and signet ring colorectal adenocarcinoma: analysis from the National Cancer Data Base. *Ann Surg Oncol*, 2012. **19**(9): p. 2814-21.
196. Debunne, H. and W. Ceelen, Mucinous differentiation in colorectal cancer: molecular, histological and clinical aspects. *Acta Chir Belg*, 2013. **113**(6): p. 385-90.
197. Liebig, C., et al., Perineural invasion is an independent predictor of outcome in colorectal cancer. 2009. **27**(31): p. 5131.
198. Hung, K., et al., The central role of CD4+ T cells in the antitumor immune response. 1998. **188**(12): p. 2357-2368.
199. Huijbers, A., et al., The proportion of tumor-stroma as a strong prognosticator for stage II and III colon cancer patients: validation in the VICTOR trial. *Ann Oncol*, 2013. **24**(1): p. 179-85.
200. Pendlebury, S., et al., A trial of adjuvant therapy in colorectal cancer: the VICTOR trial. *Clin Colorectal Cancer*, 2003. **3**(1): p. 58-60.
201. Midgley, R.S., et al., Phase III randomized trial assessing rofecoxib in the adjuvant setting of colorectal cancer: final results of the VICTOR trial. *J Clin Oncol*, 2010. **28**(30): p. 4575-80.
202. < A NEW PROGNOSTIC CLASSIFICATION OF RECTAL CANCER.pdf>.
203. Roxburgh, C.S., et al., Tumour inflammatory infiltrate predicts survival following curative resection for node-negative colorectal cancer. *Eur J Cancer*, 2009. **45**(12): p. 2138-45.
204. Van Wyk, H.C., et al., The relationship between tumor budding, tumor microenvironment, and survival in patients with primary operable colorectal cancer. 2019, American Society of Clinical Oncology.
205. Hanahan, D. and R.A.J.c. Weinberg, Hallmarks of cancer: the next generation. 2011. **144**(5): p. 646-674.
206. Schreiber, R.D., L.J. Old, and M.J.J.S. Smyth, Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. 2011. **331**(6024): p. 1565-1570.

207. Ueno, H., et al., A study on the clinical significance of lymphatic tissue responses against rectal cancer. 1994. **47**(5): p. 430-441.
208. Ogino, S., et al., Lymphocytic reaction to colorectal cancer is associated with longer survival, independent of lymph node count, microsatellite instability, and CpG island methylator phenotype. 2009. **15**(20): p. 6412-6420.
209. Harrison, J.C., et al., Impact of the Crohn's-like lymphoid reaction on staging of right-sided colon cancer: results of multivariate analysis. *Hum Pathol*, 1995. **26**(1): p. 31-8.
210. Gafa, R., et al., Sporadic colorectal adenocarcinomas with high-frequency microsatellite instability: Pathobiologic features, hMLH1 and hMSH2 expression, and clinical outcome. 2000. **89**(10): p. 2025-2037.
211. Messerini, L., et al., Incidence and prognostic significance of occult tumor cells in lymph nodes from patients with stage IIA colorectal carcinoma. 2006. **37**(10): p. 1259-1267.
212. Harrison, J.C., et al., From Dukes through Jass: pathological prognostic indicators in rectal cancer. 1994. **25**(5): p. 498-505.
213. Ueno, H., et al., Objective criteria for crohn-like lymphoid reaction in colorectal cancer. *Am J Clin Pathol*, 2013. **139**(4): p. 434-41.
214. <Inflammatory infiltration, fibrosis, necrosis and mucinous content in relation to clinicopathological and molecular factors in rectal cancers with or without preoperative radiotherapy.pdf>.
215. Mulcahy, H.E., et al., Identifying stage B colorectal cancer patients at high risk of tumor recurrence and death. 1997. **40**(3): p. 326-331.
216. Swinson, D.E., et al., Tumour necrosis is an independent prognostic marker in non-small cell lung cancer: correlation with biological variables. 2002. **37**(3): p. 235-240.
217. Richards, C.H., et al., Prognostic value of tumour necrosis and host inflammatory responses in colorectal cancer. *Br J Surg*, 2012. **99**(2): p. 287-94.
218. Ming, S.C.J.C., Gastric carcinoma: a pathobiological classification. 1977. **39**(6): p. 2475-2485.

219. Jass, J., et al., The grading of rectal cancer: historical perspectives and a multivariate analysis of 447 cases. 1986. **10**(5): p. 437-459.
220. Chapuis, P., et al., A multivariate analysis of clinical and pathological variables in prognosis after resection of large bowel cancer. 1985. **72**(9): p. 698-702.
221. Nikberg, M., et al., Lymphovascular and perineural invasion in stage II rectal cancer: a report from the Swedish colorectal cancer registry. 2016. **55**(12): p. 1418-1424.
222. Benson, A.B., et al., Colon cancer, version 1.2017, NCCN clinical practice guidelines in oncology. 2017. **15**(3): p. 370-398.
223. Liang, F., et al., The prognostic value of tumor budding in invasive breast cancer. 2013. **209**(5): p. 269-275.
224. Almangush, A., et al., Tumour budding in head and neck squamous cell carcinoma—a systematic review. 2014. **65**(5): p. 587-594.
225. Mitrovic, B., et al., Tumor budding in colorectal carcinoma: time to take notice. *Mod Pathol*, 2012. **25**(10): p. 1315-25.
226. De Smedt, L., S. Palmans, and X.J.V.A. Sagaert, Tumour budding in colorectal cancer: what do we know and what can we do? 2016. **468**(4): p. 397-408.
227. GUZINŃSKA-USTYMOWICZ, K., et al., Activity of cathepsin B and D in colorectal cancer: relationships with tumour budding. 2004. **24**(5A): p. 2847-2852.
228. Kalluri, R. and R.A.J.T.J.o.c.i. Weinberg, *The basics of epithelial-mesenchymal transition*. 2009. **119**(6): p. 1420-1428.
229. Cui, G., et al., Immune microenvironmental shift along human colorectal adenoma–carcinoma sequence: is it relevant to tumor development, biomarkers and biotherapeutic targets? 2012. **47**(4): p. 367-377.
230. Scheel, C. and R.A. Weinberg. Cancer stem cells and epithelial–mesenchymal transition: concepts and molecular links. in *Seminars in cancer biology*. 2012. Elsevier.

231. De Smedt, L., et al., Expression profiling of budding cells in colorectal cancer reveals an EMT-like phenotype and molecular subtype switching. 2017. **116**(1): p. 58.
232. Khan, A., et al., Cathepsin B and tumor-associated laminin expression in the progression of colorectal adenoma to carcinoma. 1998. **11**(8): p. 704-708.
233. Semba, S. and H.J.I.j.o.o. Yokozaki, Biological significance of tumor budding at the invasive front of human colorectal carcinoma cells. 2012. **41**(1): p. 201-210.
234. Jass, J., et al., APC mutation and tumour budding in colorectal cancer. 2003. **56**(1): p. 69-73.
235. Kevans, D., et al., Epithelial-mesenchymal transition (EMT) protein expression in a cohort of stage II colorectal cancer patients with characterized tumor budding and mismatch repair protein status. *Int J Surg Pathol*, 2011. **19**(6): p. 751-60.
236. Masaki, T., et al., Possible contribution of CD44 variant 6 and nuclear beta-catenin expression to the formation of budding tumor cells in patients with T1 colorectal carcinoma. *Cancer*, 2001. **92**(10): p. 2539-46.
237. Sordat, I., et al., Tumor cell budding and laminin-5 expression in colorectal carcinoma can be modulated by the tissue micro-environment. *Int J Cancer*, 2000. **88**(5): p. 708-17.
238. Rubio, C.A., Arrest of cell proliferation in budding tumor cells ahead of the invading edge of colonic carcinomas. A preliminary report. *Anticancer Res*, 2008. **28**(4C): p. 2417-20.
239. Dawson, H., et al., The apoptotic and proliferation rate of tumour budding cells in colorectal cancer outlines a heterogeneous population of cells with various impacts on clinical outcome. *Histopathology*, 2014. **64**(4): p. 577-84.
240. De Smedt, L., S. Palmans, and X. Sagaert, Tumour budding in colorectal cancer: what do we know and what can we do? *Virchows Arch*, 2016. **468**(4): p. 397-408.

241. Suzuki, A., et al., Evaluation of venous invasion by Elastica van Gieson stain and tumor budding predicts local and distant metastases in patients with T1 stage colorectal cancer. 2009. **33**(11): p. 1601-1607.
242. Rogers, A.C., et al., Systematic review and meta-analysis of the impact of tumour budding in colorectal cancer. *Br J Cancer*, 2016. **115**(7): p. 831-40.
243. Zlobec, I. and A. Lugli, Epithelial mesenchymal transition and tumor budding in aggressive colorectal cancer: tumor budding as oncotarget. *Oncotarget*, 2010. **1**(7): p. 651-61.
244. Ohtsuki, K., et al., Prognostic value of immunohistochemical analysis of tumor budding in colorectal carcinoma. *Anticancer Res*, 2008. **28**(3B): p. 1831-6.
245. Lugli, A., E. Karamitopoulou, and I. Zlobec, Tumour budding: a promising parameter in colorectal cancer. *Br J Cancer*, 2012. **106**(11): p. 1713-7.
246. Giger, O.T., et al., Intra-tumoral budding in preoperative biopsy specimens predicts lymph node and distant metastasis in patients with colorectal cancer. 2012. **25**(7): p. 1048.
247. Rogers, A.C., et al., Prognostic significance of tumor budding in rectal cancer biopsies before neoadjuvant therapy. 2014. **27**(1): p. 156.
248. Zlobec, I., et al., Intratumoural budding (ITB) in preoperative biopsies predicts the presence of lymph node and distant metastases in colon and rectal cancer patients. 2014. **110**(4): p. 1008.
249. Koelzer, V.H., I. Zlobec, and A. Lugli, Tumor budding in colorectal cancer--ready for diagnostic practice? *Hum Pathol*, 2016. **47**(1): p. 4-19.
250. Rieger, G., et al., Comprehensive assessment of tumour budding by cytokeratin staining in colorectal cancer. *Histopathology*, 2017. **70**(7): p. 1044-1051.
251. Mehta, A., et al., Histopathological Significance and Prognostic Impact of Tumor Budding in Colorectal Cancer. 2018. **19**(9): p. 2447.
252. Ueno, H., et al., Risk factors for an adverse outcome in early invasive colorectal carcinoma. 2004. **127**(2): p. 385-394.

253. Quirke, P., N. West, and I.J.V.A. Nagtegaal, EURECCA consensus conference highlights about colorectal cancer clinical management: the pathologists expert review. 2014. **464**(2): p. 129-134.
254. van de Velde, C.J., et al., EURECCA colorectal: multidisciplinary management: European consensus conference colon & rectum. 2014. **50**(1): p. 1. e1-1. e34.
255. Okuyama, T., M. Oya, and H.J.J.o.s.o. Ishikawa, Budding as a useful prognostic marker in pT3 well-or moderately-differentiated rectal adenocarcinoma. 2003. **83**(1): p. 42-47.
256. Betge, J., et al., Tumor budding is an independent predictor of outcome in AJCC/UICC stage II colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*, 2012. **19**(12): p. 3706-12.
257. Lai, Y.H., et al., Tumour budding is a reproducible index for risk stratification of patients with S tage II colon cancer. 2014. **16**(4): p. 259-264.
258. Petrelli, F., et al., Tumour budding and survival in stage II colorectal cancer: a systematic review and pooled analysis. 2015. **46**(3): p. 212-218.
259. Lugli, A., E. Karamitopoulou, and I.J.B.j.o.c. Zlobec, *Tumour budding: a promising parameter in colorectal cancer*. 2012. **106**(11): p. 1713.
260. Vogel, J.D., et al., The American Society of Colon and Rectal Surgeons clinical practice guidelines for the treatment of colon cancer. 2017. **60**(10): p. 999-1017.